



UEPB

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS V – JOSÉ LINS DO RÊGO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SOCIAIS APLICADAS
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

VITORIA MARIA OLIVEIRA ALVES

**MICROPARTÍCULAS DE XILANA PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE
MESALAZINA: PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA**

**JOÃO PESSOA - PB
2021**

VITORIA MARIA OLIVEIRA ALVES

**MICROPARTÍCULAS DE XILANA PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE
MESALAZINA: PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA**

Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo) apresentado a Coordenação do curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Elquio Eleamen Oliveira
Coorientadora: Dra. Silvana Cartaxo da Costa Urtiga

**JOÃO PESSOA
2021**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

A474m Alves, Vitoria Maria Oliveira.

Micropartículas de xilana para liberação controlada de mesalazina [manuscrito] : produção e caracterização físico-química / Vitoria Maria Oliveira Alves. - 2021.

17 p.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e Sociais Aplicadas, 2021.

"Orientação : Prof. Dr. Elquio Eleamen Oliveira ,
Coordenação do Curso de Ciências Biológicas - CCBSA."

1. Bipolímero. 2. Colite ulcerativa. 3. Liberação de drogas.
4. Cólon-específico. 5. Nanotecnologia. I. Título

21. ed. CDD 581.76

VITORIA MARIA OLIVEIRA ALVES

**MICROPARTÍCULAS DE XILANA PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE
MESALAMINA: PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA**

Trabalho de Conclusão de Curso
(Artigo) apresentado a Coordenação
do curso de Ciências Biológicas da
Universidade Estadual da Paraíba,
como requisito parcial à obtenção do
título de bacharel em Ciências
Biológicas.

Aprovada em: 08/06/2021.

BANCA EXAMINADORA

Elquio Eleamen Oliveira

Prof. Dr. Elquio Eleamen Oliveira (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Daniela Santos Pontes

Prof^ª. Dra. Daniela Santos Pontes
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Enelise M. Amado

Prof^ª. Dra. Enelise Marcelle Amado
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

À minha mãe, Maria do Socorro pelo seu amor, cuidado e companheirismo, DEDICO.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Microscopia eletrônica de varredura da MPX e MPX5ASA.....	14
Figura 2 – Espectro de FTIR-ATR da 5-ASA, xilana, STMP, XMP e XM5-ASA.....	16
Figura 3 – Espectros de DRX da 5-ASA, xilana, STMP, XMP, XMP5-ASA.....	17
Figura 4 – Análise térmica da 5-ASA, xilana, XMP e XMP5-ASA.....	19
Figura 5 – Perfil de liberação <i>in vitro</i> do fármaco e modelagem matemática do perfil de liberação do fármaco.....	20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Modelos matemáticos para avaliação do perfil de liberação <i>in vitro</i> da 5-ASA e as constantes de liberação.....	21
---	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. METODOLOGIA	10
2.1. Preparação das micropartículas de xilana	10
2.2. Caracterização físico-química das micropartículas.....	11
2.2.2. <i>Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com refletância total atenuada (FTIR-ATR)</i>	11
2.2.3. <i>Difratometria de Raio X (DRX)</i>	11
2.2.4. <i>Análise térmica</i>	11
2.2.5. <i>Eficiência de encapsulação da 5-ASA nas micropartículas</i>	12
2.2.6. <i>Cinética de liberação in vitro das micropartículas contendo 5-ASA</i>	12
2.2.7. <i>Modelagem matemática da liberação in vitro da 5-ASA</i>	13
3. RESULTADOS E DICUSSÕES	13
3.1. Caracterização físico-química das micropartículas	13
3.1.1. <i>Tamanho e morfologia das micropartículas</i>	13
3.1.2. <i>Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com refletância total atenuada (FTIR-ATR)</i>	14
3.1.3. <i>Difração de raio x (DRX)</i>	16
3.1.4. <i>Termogravimetria (TG) e Calorimetria exploratória diferencial (DSC)</i> ...	17
3.1.5. <i>Cinética de liberação in vitro das micropartículas contendo 5-ASA</i>	19
4. CONCLUSÃO	21
5. REFERÊNCIAS	21
ANEXO	25

MICROPARTÍCULAS DE XILANA PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE MESALAZINA: PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

XYLAN MICROPARTICLES FOR CONTROLLED RELEASE OF MESALAZINE: PRODUCTION AND PHYSICAL-CHEMICAL CHARACTERIZATION

Vitoria Maria Oliveira Alves*

RESUMO

As doenças inflamatórias intestinais (DIIs) são condições de caráter inflamatório, crônico, que afetam o cólon e o reto e causam grande debilitação ao paciente. A mesalazina (ácido-5-aminosalicílico ou 5-ASA) é um anti-inflamatório de ação local amplamente utilizado em pacientes com DIIs. Todavia, administrada por via oral, a mesalazina possui baixa eficácia terapêutica, pois o medicamento é rapidamente absorvido pelo trato gastrointestinal superior e desencadeia efeitos adversos sistêmicos. Visando suprir esta limitação, o presente trabalho propõe a produção de micropartículas de xilana contendo mesalazina visando a liberação cólon específica) pelo método de reticulação polimérica, utilizando o trimetafosfato de sódio como um reticulante de baixa toxicidade. A xilana é um biopolímero promissor no ramo da tecnologia farmacêutica por ser abundante, barato, de fácil aquisição e extração. Nas análises dos parâmetros físico-químicos, as micropartículas de xilana contendo mesalazina em cápsulas gastrorresistentes (MPXCAP5-ASA) se mostrou uma formulação promissora para a liberação da mesalazina no cólon, retendo aproximadamente 48% de seu conteúdo de droga após 6 h no ensaio de liberação *in vitro* do fármaco. Os resultados da espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com refletância total atenuada não demonstraram nenhuma interação química entre os componentes da formulação que pudesse interferir nas características do fármaco. Além disso, os estudos de difratometria de raio-x e a análise térmica revelaram que a mesalazina foi capaz de se dispersar molecularmente na matriz polimérica, induzindo a um aumento em sua estabilidade térmica. Desta forma, podemos concluir que o fármaco se dispersou dentro das micropartículas e quando inseridas em cápsulas gastrorresistentes (MPXCAP5-ASA) foram capazes de carregar uma quantidade de fármaco significativa para região do cólon, sendo assim

uma formulação promissora para futuros estudos em modelos *in vivo* para inflamação na região do colón.

Palavras-chave: biopolímero, colite ulcerativa, liberação de drogas, cólon-específico, nanotecnologia.

ABSTRACT

Inflammatory bowel diseases (IBDs) are chronic, inflammatory conditions that affect the colon and rectum and cause great debilitation to the patient. A mesalazine (5-aminosalicylic acid or 5-ASA) is a locally acting anti-inflammatory widely used in patients with IBD. However, administered orally, mesalazine has low effectiveness, as the drug is rapidly absorbed by the upper gastrointestinal tract and triggers systemic adverse effects. Aiming to overcome this limitation, the present work proposes the production of xylan microparticles containing mesalazine to specific colon release) by the polymeric crosslinking method, using sodium trimetaphosphate as a low toxicity crosslinker. Xylana is a promising biopolymer in the field of pharmaceutical technology because it is abundant, cheap, easy to acquire and extract. In the analysis of physicochemical parameters, xylan microparticles containing mesalazine in gastroresistant capsules (MPXCAP5-ASA) show promise for the release of mesalazine in the colon, retaining approximately 48% of its drug content after 6 h in the release assay *in vitro* drug. Fourier transform infrared spectroscopy results with attenuated total reflectance did not demonstrate any chemical interaction between the feed components that could interfere with the drug characteristics. Furthermore, X-ray diffraction studies and a thermal analysis revealed that mesalazine was able to molecularly disperse in the polymer matrix, inducing an increase in its thermal stability. Thus, we can conclude that the drug dispersed within the microparticles and when inserted into gastroresistant capsules (MPXCAP5-ASA) they were able to carry a reduced amount of drug to the colon region, requiring a promising promise for future as well as studies *in vivo* for inflammation in the colon region.

Keywords: biopolymer, ulcerative colitis, drug release, colon-specific, nanotechnology.

1. INTRODUÇÃO

As Doenças Inflamatórias Intestinais (DIIs) compreendem principalmente a colite ulcerativa e a Doença de Crohn e são condições de caráter inflamatório, crônico e de origem idiopática, que afetam o cólon e o reto e oferecem grande debilitação ao paciente (XU et al., 2018; OLIVEIRA, F., et al., 2010). Estas condições caracterizam-se pela inflamação da mucosa intestinal e do cólon e envolvem sintomas como dor abdominal, diarreia, fezes com sangue, além de serem associadas à distúrbios nutricionais como a perda de peso (GUAN, 2019; OLIVEIRA et al., 2010). Apesar da origem dessa doença ser desconhecida, o seu desenvolvimento pode ocorrer por uma soma de fatores ambientais, genéticos e imunológicos. O desequilíbrio da microbiota do cólon assim como influxo de neutrófilos e macrófagos que produzem citocinas, enzimas proteolíticas e radicais livres causam a inflamação e ulceração características das DIIs (XU et al., 2018; GUAN, 2019).

A maior incidência das DIIs ocorre em países desenvolvidos. Nos últimos anos houve um aumento significativo em países em desenvolvimento, como Índia e China (BERNSTEIN, 2017). Como tratamento, a mesalazina (5-ASA) é um anti-inflamatório amplamente utilizado em pacientes com colite ulcerativa e também na Doença de Chron (VAN DE MEEBERG et al., 2019; MLADENOVSKA et al., 2007; PALMA et al., 2019). Contudo, quando administrada por via oral, a mesalazina é rapidamente absorvida pelo trato gastrointestinal superior. Em consequência, sua absorção sistêmica leva a um aumento dos riscos de efeitos adversos, como síndrome nefrótica, hepatite e pancreatite, além de reduzir o efeito farmacológico (PALMA et al., 2019).

Neste contexto, devido a sua biodegradação e biocompatibilidade, sistemas de liberação cólon específica à base de polímeros biodegradáveis vem sendo desenvolvidos para melhorar a entrega de medicamentos de ação local para condições com as DIIs (SARDO et al., 2019; SILVA et al., 2013;). O biopolímeros que utilizamos é a xilana, que é o segundo biopolímero mais abundante no reino *Plantae*, e também um polissacarídeo de parede celular não-celulósica principal das angiospermas, gramíneas e cereais. Neste trabalho, utilizamos a xilana extraída de sabugos de milho que possui em sua cadeia principal a β -(1 \rightarrow 4)-D-xilopiranosose (OLIVEIRA E., et al, 2010; SAURAJ et al., 2017). Segundo Oliveira E., et al. (2010), esse polímero pode ser degradado apenas por enzimas produzidas por bactérias

específicas do cólon, o que a torna um polímero promissor para o desenvolvimento de sistemas cólon-específico.

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de um novo sistema de liberação capaz de melhorar a farmacocinética e farmacodinâmica da mesalazina na região do cólon. Para isso, foi utilizada a técnica de reticulação polimérica utilizando o trimetafosfato de sódio como um reticulante de baixa toxicidade para o desenvolvimento das micropartículas. Além disso, foi realizado um estudo comparativo de liberação *in vitro* das diferentes formulações. Modelos matemáticos foram utilizados visando melhor entender o perfil de liberação do fármaco em cada sistema.

2. METODOLOGIA

2.1. Preparação das micropartículas de xilana

O método utilizado para a produção das micropartículas de xilana foi a reticulação polimérica com um reticulante de baixa toxicidade, o trimetafosfato de sódio (STMP), segundo a metodologia descrita por Urtiga et al., (2017) com modificações. O processo de produção das micropartículas foi realizado em três etapas: preparação da fase aquosa, preparação da fase oleosa e mistura de ambas as fases para a obtenção da emulsão com posterior lavagem das micropartículas. Para obter a fase aquosa 500 mg de xilana foram solubilizadas em 5 mL de NaOH 0,6 N sob agitação magnética a 50 °C. Em seguida, foi adicionado 200 mg de trimetafosfato de sódio (STMP) a essa solução, deixando sob agitação por 2 min. Para a obtenção da fase oleosa foram misturados 750 mg de Span[®] 80 e Tween[®] 80 (90,65: 9,35) e 15mL de parafina líquida. Essa mistura foi mantida a uma agitação mecânica de 800 rpm a 50°C ± 1. Posteriormente, 1,5mL da fase aquosa foram adicionadas gota a gota na fase oleosa, formando assim a emulsão. Após 6 h de agitação, a emulsão foi centrifugada (Centrífuga Centribio, modelo 80-2B, Brasil) durante 10 minutos a uma velocidade de 3600 rpm para separar as micropartículas da fase oleosa. Em seguida, o sobrenadante foi desprezado. As micropartículas foram lavadas com 10 ml de acetona, éter de petróleo, solução de Tween[®] 80 1% em álcool e álcool absoluto por meio de centrifugação. As micropartículas obtidas foram secas em temperatura ambiente e armazenadas em tubos Eppendorf.

As micropartículas contendo 5-ASA foram desenvolvidas da mesma forma que as micropartículas sem fármaco, diferenciando apenas na fase aquosa, a qual 10 mg do fármaco foi adicionado.

2.2. Caracterização físico-química das micropartículas

2.2.1. Determinação do tamanho de partícula e análise morfológica

A distribuição do tamanho das micropartículas foi determinada pelo método de difração a laser (CILAS, Modelo 1090, Orléans, França) utilizando 500 mg do pó de micropartículas. A análise foi feita na faixa de 0,10 - 500 μm . A morfologia das micropartículas foi determinada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) a 15 kV (Modelo ZEISS LEO 1430, Jena, Alemanha). As micropartículas foram adicionadas em porta amostra com fita de carbono, seguidos de metalização com Au/Pd para análise.

2.2.2. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com refletância total atenuada (FTIR-ATR)

As possíveis interações químicas entre a xilana, 5-ASA e STMP, durante o processo de produção das micropartículas foram avaliadas por espectroscopia (Espectrofotômetro modelo IRPrestige - 21, SHIMADZU -Japão) pela técnica de refletância total atenuada (ATR). As amostras, aproximadamente 20 mg, foram colocadas em cristal de seleneto de zinco (ZnSe) e os espectros foram obtidos na faixa espectral de 4000 cm^{-1} a 700 cm^{-1} .

2.2.3. Difratometria de Raio X (DRX)

A análise de DRX foi realizada para as matérias primas puras, xilana, trimetafosfato de sódio e 5-ASA (1 g) e para as formulações de micropartículas brancas (MPX) e micropartículas com o fármaco (MPX5-ASA) (0,5 g) em difratômetro de raios-X (D8 advanced, Bruker, Alemanha) usando radiação de CuK α ($\lambda = 0,15418$ nm, com tubos de voltagem 40 Kv e corrente de tubo 20 mA). As amostras foram analisadas com ângulo de varredura ao longo de 2θ variando de 5 ° a 70 °, com velocidade de 2 °.min $^{-1}$.

2.2.4. Análise térmica

As propriedades térmicas do polímero, fármaco e das formulações (MPX e MPX5-ASA) foram analisadas em Analisador térmico simultâneo NETZSCH STA (modelo 449 F3- JUPTER, Alemanha). As amostras (10 mg) foram pesadas e adicionadas em cadinho de alumina e submetida a um aquecimento de 40 a 500 °C em atmosfera de gás nitrogênio com fluxo de 100 mL.min⁻¹.

2.2.5. Eficiência de encapsulação da 5-ASA nas micropartículas

As formulações secas das micropartículas (50 mg) foram suspensas em tampão fosfato pH 7.4 a 25 °C ± 1 e submetidas à agitação por 24 horas. Após esse tempo, a suspensão foi sonicada (Ultronique, modelo QR200, Brasil) a uma potência de 55% equivalente a 3000 W durante 1 minuto para que ocorra rompimento da microestrutura. Em seguida foi distribuída em tubo de ensaio e centrifugada durante 3 minutos. O sobrenadante presente no tubo, após centrifugação, foi retirado e analisado através de método espectrofotométrico utilizando $\lambda = 330\text{nm}$ para identificação da 5-ASA. A fim de evitar interferências durante a análise, as amostras foram filtradas com filtros de Nylon (porosidade de 0,45 μm de diâmetro). Após a quantificação ser realizada a equação abaixo foi utilizada:

$$EE\% = \frac{\text{Quantidade de fármaco experimental}}{\text{Quantidade de fármaco inicial}} \times 100$$

2.2.6. Cinética de liberação *in vitro* das micropartículas contendo 5-ASA

A cinética de liberação *in vitro* da 5-ASA presente nas micropartículas foi realizada em membrana de diálise de acetato de celulose (peso molecular de 12000 KDa) sob condições “*sink*” em meios com diferentes pH. Foi realizado um estudo comparativo da liberação do fármaco *in vitro* com diferentes formulações: micropartículas de xilana contendo a mesalazina (XMP5-ASA), cápsulas gastro-resistentes contendo XMP5-ASA (XMPCAP5-ASA) e cápsulas gastro-resistentes preenchidas com 5-ASA (CAP5-ASA). As formulações foram imersas sequencialmente nos diferentes meios receptores que simulam as condições fisiológicas do suco gástrico (pH 1,2), intestino (pH 6.0) e cólon (pH 7,4). O sistema foi mantido sob agitação de 100 rpm à 37 ± 1 ° C. Em intervalos de tempo predeterminados (0, 0,25, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 e 24 horas), foram coletadas alíquotas do meio para análise, sendo o volume retirado adicionado em

seguida. Todas as análises foram realizadas em triplicata e a leitura realizada em espectrofotômetro (SP2000UV, Spectrum, Brasil) em comprimento de onda 302 nm e 330 nm para o meio de HCl e tampão fosfato, respectivamente. A partir dos resultados calculados, foi plotada a curva de percentagem de liberação cumulativa de 5-ASA versus tempo.

2.2.7. Modelagem matemática da liberação *in vitro* da 5-ASA

A modelagem matemática dos dados do ensaio de liberação do fármaco foram realizadas utilizando o *Add-in* DDSolver para o Microsoft® Excel (ZHANG et al., 2010). Esta modelagem permitiu verificar o mecanismo pelo qual 5-ASA foi liberada das micropartículas. A escolha do modelo que melhor se ajustou aos dados experimentais foi baseada no coeficiente de determinação ajustado (R^2 -ajustado), e na raiz do erro quadrático médio (RMSE). O modelo que melhor descreve os dados experimentais foi considerado aquele que apresentou o maior R^2 ajustado e o menor RMSE (ZHANG et al., 2010).

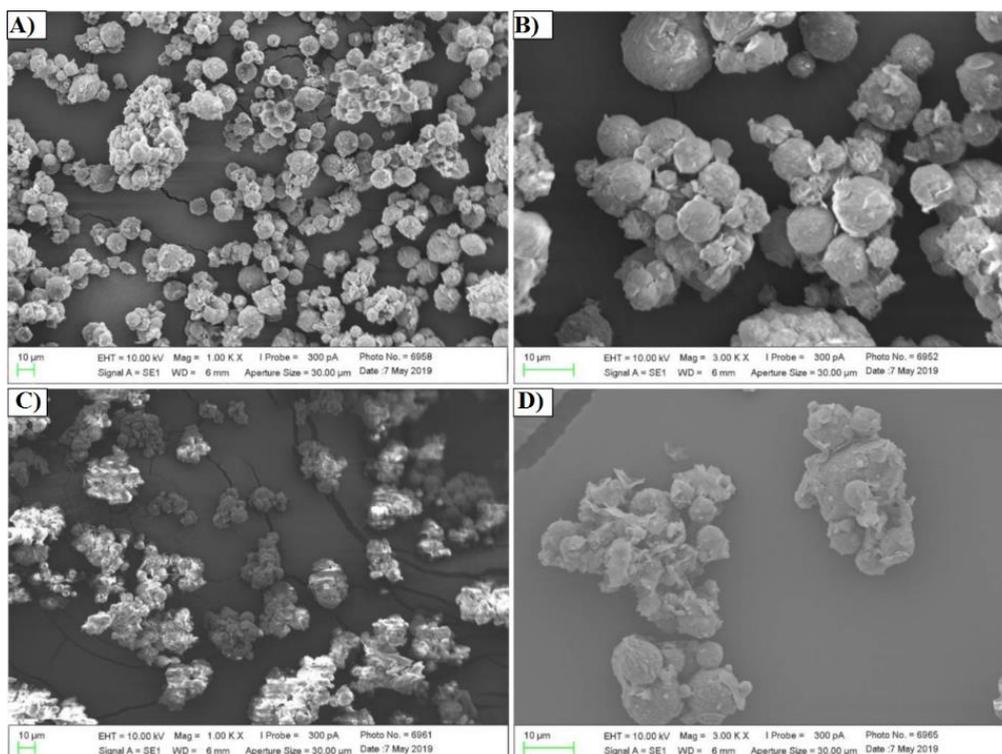
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Caracterização físico-química das micropartículas

3.1.1. Tamanho e morfologia das micropartículas

XMP e XMP5-ASA se apresentaram na forma esférica e com presença de resíduos em sua superfície, que podem estar relacionados ao reticulante que permaneceu na superfície das micropartículas após o processo de lavagem (Figura 1A-B). A análise do tamanho de partícula revelou um diâmetro médio de $12,66 \pm 1,01$ e $14,64 \pm 0,5$ μm para MPXP e MPX5-ASA, respectivamente, que também foi confirmado pelo MEV (Figura 1A-B).

Figura 1: Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da XMP (1A-B) e da XMP5-ASA (1C-D).



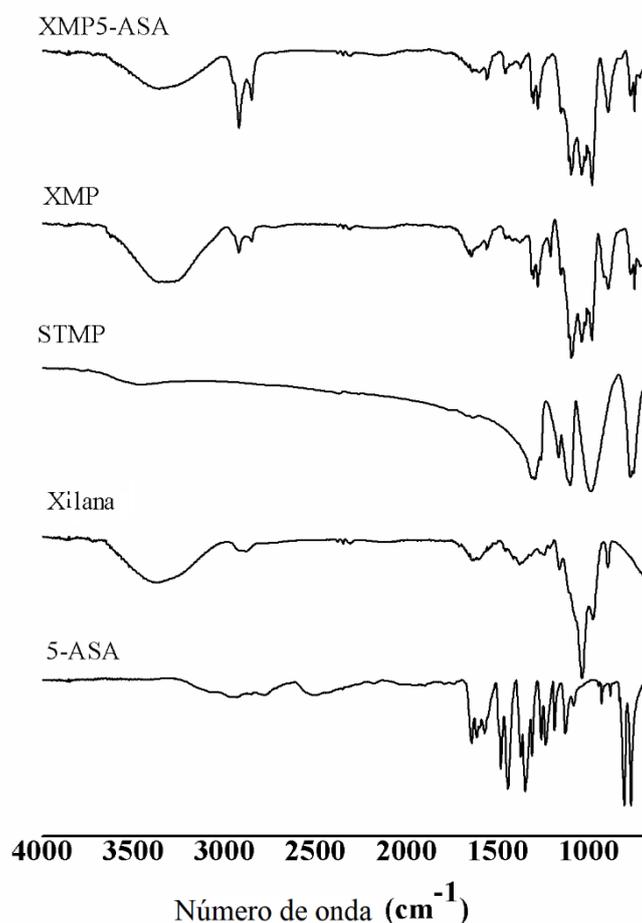
A eficiência de encapsulação da XMP5-ASA foi de $65,41 \pm 3,9\%$. Esse resultado foi semelhante ao reportado por Palma et al. (2019) que produziu microcápsulas de quitosana contendo 5-ASA por meio da secagem por aspersão obtendo-se uma eficiência de aprisionamento de 65–70%. Por outro lado, trabalhos realizados pelo nosso grupo mostraram uma eficiência de encapsulamento da 5-ASA de $23,61 \pm 0,15$ e $24,98 \pm 0,12\%$ para microcápsulas produzidas através da secagem por aspersão e por reticulação polimérica interfacial, respectivamente (SILVA et al., 2013). Em relação ao processo de reticulação polimérica interfacial realizado por Silva et al. (2013), os autores atribuíram a baixa eficiência de encapsulação as várias etapas de lavagem usadas para evitar qualquer resíduo de solvente orgânico e do reticulante (cloreto de tereftaloila), este último responsável pela alta toxicidade dessas micropartículas (MARCELINO et al., 2015; SILVA et al., 2013). Neste trabalho, etapas de lavagem semelhante foram utilizadas. No entanto, pode ser possível que o processo de reticulação utilizando o STMP como reticulante aumente a retenção do fármaco na rede polimérica.

3.1.2. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com refletância total atenuada (FTIR-ATR)

As análises de FTIR-ATR foram realizadas a fim de investigar a interação entre os componentes da formulação. As análises foram realizadas para as matérias-primas e para as micropartículas. Como esperado, os espectros de FTIR-ATR da xilana e do STMP (Figura 2) foram semelhantes aos encontrados em trabalhos anteriores publicados pelo nosso grupo (OLIVEIRA et al., 2010; URTIGA et al., 2017). No entanto, os espectros de XMP e XMP5-ASA foram um pouco diferentes. Foi observado em ambos os espectros a presença de um intenso pico em 1110 cm^{-1} , que pode estar relacionado ao estiramento simétrico (P–O–P) presentes em grupos pirofosfatos e a presença de outros picos em 750 cm^{-1} a 775 cm^{-1} , que podem ser atribuídos ao estiramento vibracional das pontes de fósforo (O–P–O e/ou P=O) e ao estiramento simétrico (POP), respectivamente. Com isso, esses picos presentes nos espectros das XMP e XMP5-ASA podem estar relacionados aos resíduos de STMP resultante do processo de reticulação (PARIZE et al., 2012; SUFLET, CHITANU, POPA, 2006; URTIGA et al., 2017). Além disso, o processo de reticulação foi confirmado pela presença de um pico entre 1200 e 1250 cm^{-1} , em 1217 cm^{-1} (Figura 2) que está relacionado a formação da ligação éster fosfato entre a xilana e o STMP durante o processo de reticulação (URTIGA et al., 2017).

Em relação ao 5-ASA, foi observado bandas de absorção em 2552 cm^{-1} , 1650 cm^{-1} e 1580 cm^{-1} , que correspondem às vibrações de $-\text{NH}_2$, $-\text{C}=\text{O}$ e $-\text{C}=\text{C}-$, respectivamente (TANG et al., 2018). A perda de intensidade para todas as bandas de absorção características da 5-ASA no espectro das micropartículas também foi observado, o que pode ser atribuído ao processo de encapsulação, uma vez que é caracterizado pela restrição em sua vibração pelo fato de estar inserido na rede polimérica.

Figura 2: Espectro de FTIR-ATR da 5-ASA, xilana, STMP, XMP e XM5-ASA



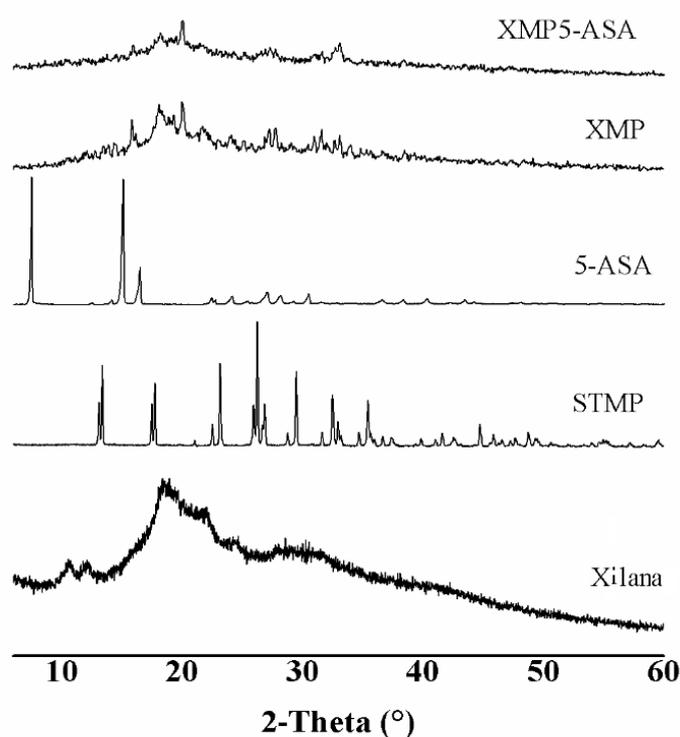
3.1.3. Difração de raio x (DRX)

A cinética de liberação do fármaco a partir das micropartículas pode ser afetada pelo seu estado físico na matriz polimérica, que pode variar amorfo a cristalino bem definido (ARANAZ et al., 2017). A Figura 3 compara os espectros de DRX da 5-ASA, xilana, STMP e das micropartículas. O espectro de DRX da xilana exibiu claramente características típicas de materiais predominantemente amorfos com presença de uma leve cristalinidade na região de 10° a 30° (2 θ). Os picos mais largos em 19,6° e 29° (2 θ) são característicos de regiões cristalinas de xilana semicristalina (GRODAHL, GATENHOLM, DEKKER, 2004). Por outro lado, os espectros de STMP e 5-ASA mostraram picos intensos entre 10° e 50° (2 θ) devido sua natureza cristalina (CESAR et al., 2018; LI et al., 2009; LI et al., 2009).

Em relação aos espectros das micropartículas (XMP e XMP5-ASA), os resultados foram semelhantes a xilana isolada. Foi observado um pico largo em aproximadamente 19,6° e 29° (2 θ) semelhante ao da xilana com a presença de alguns

picos de cristalinidade entre 15° e 35° (2θ), que podem estar relacionados aos resíduos de STMP do processo de reticulação, assim como confirmado pelos resultados de FTIR-ATR e MEV. Além disso, os picos de difração característicos de 5-ASA não apareceram no padrão DRX do MPX5-ASA, o que pode estar relacionado a dispersão molecular da 5-ASA na matriz polimérica, corroborando com a observação do MEV em que nenhum cristal de 5-ASA foi visto na superfície das micropartículas (ARANAZ et al., 2017; LIU et al., 2019).

Figura 3: Espectros de DRX da 5-ASA, xilana, STMP, XMP, XMP5-ASA.



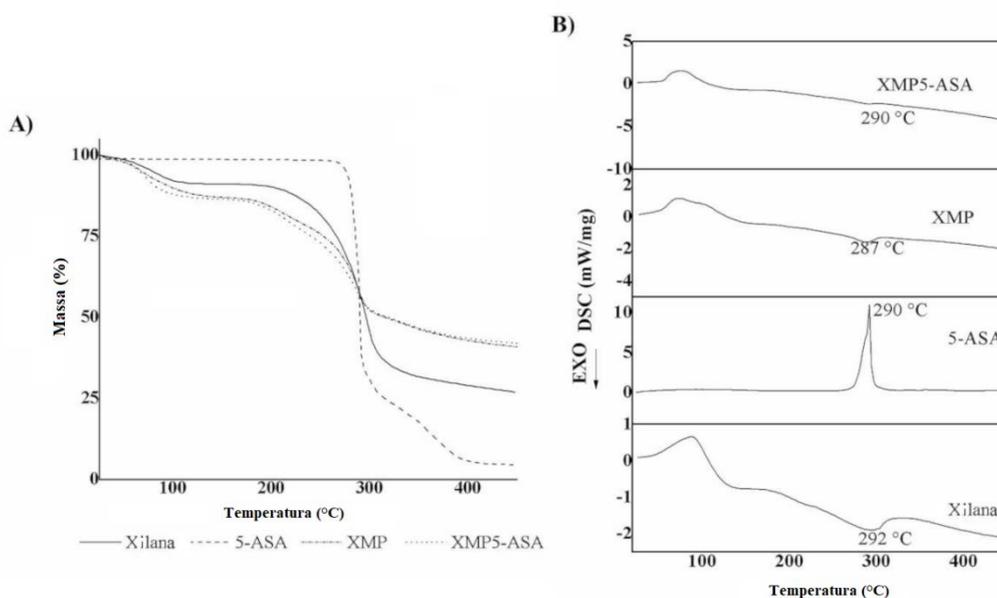
3.1.4. Termogravimetria (TG) e Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A análise térmica vem sendo bastante utilizada para investigar interações entre o fármaco e os polímeros em diversas formulações de micropartículas e nanopartículas (OLIVEIRA et al., 2013). Na Figura 4A pode ser observado o comportamento térmico da xilana. O primeiro evento de degradação foi observado em 110°C com uma perda de massa de 8%, o que é sugestivo de perda de água presente no pó da xilana (MARCELINO et al., 2015; SILVA et al., 2013). O segundo evento

ocorre na faixa de 193 °C a 410 °C com uma perda de massa de 62%. Esse evento está relacionado ao processo de degradação do polímero. O comportamento térmico da 5-ASA (Figura 4A) mostra uma única perda de massa de 97,8% entre 269 °C e 394 °C, que é atribuída a decomposição do fármaco. Em relação ao comportamento térmico das micropartículas (Figura 4A), dois eventos foram observados e são semelhantes aos eventos encontrados para a xilana. A primeira ocorreu em aproximadamente 116 °C, mostrando uma perda de massa de 8-10%. Essa perda de massa pode ser atribuída a perda de água presente nos sistemas. O segundo evento térmico ocorreu entre 165 °C e 320 °C, com perda de massa de 36,5% e 35,6%, para XMP e XMP5-ASA, respectivamente. Como pode ser visto, os sistemas microparticulados apresentaram menores perdas de massa quando comparado a xilana, o que pode estar relacionada a uma maior estabilidade térmica do sistema devido as ligações éster fosfato formadas no processo de reticulação. Mostrando assim que o processo de reticulação foi capaz de melhorar a estabilidade térmica do sistema (BRASSESCO et al., 2019).

As curvas de DSC de todas as amostras estão de acordo com as curvas de TG. A curva de DSC da xilana e das micropartículas (Figura 4B) revelou um evento endotérmico na faixa de temperatura de 55-116 °C, indicando a perda de água das amostras. Um pico exotérmico também foi observado em 292 °C, 287 °C e 290 °C para a xilana, XMP e XMP5-ASA, respectivamente. Em relação a 5-ASA, um pico endotérmico foi observado em torno 290 °C, que corresponde ao ponto de fusão do fármaco (CESAR et al., 2018). Além disso, nenhum evento térmico relacionado a 5-ASA foi encontrado na curva térmica da XMP5-ASA.

Figura 4: TG (A) e DSC (B) da 5-ASA, xilana, XMP e XMP5-ASA.

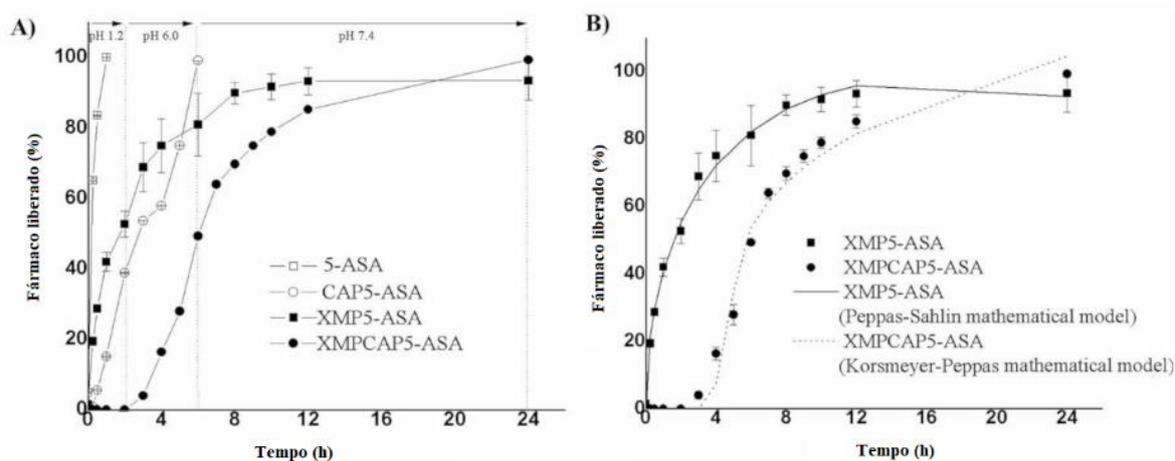


3.1.5. Cinética de liberação *in vitro* das micropartículas contendo 5-ASA

A liberação *in vitro* de 5-ASA a partir de micropartículas foi estudada em diferentes meios de dissolução visando simular a passagem das micropartículas pelo trato gastrointestinal. Os resultados revelaram que aproximadamente 52% da dose inicial do fármaco na formulação XMP5-ASA foi liberada em menos de 2 horas no meio gástrico (pH 1,2) (Figura 5A). Essa rápida liberação do fármaco pode ser explicada pela formação de poros na superfície das micropartículas, relacionadas às características intrínsecas do polímero (NAGASHIMA-JR et al., 2008; SILVA et al., 2013). Além disso, em meio intestinal simulado (pH 6,0), 80% da droga foi liberado em até 6 h, o que indica que a formulação XMP5-ASA é capaz de atingir o intestino grosso com aproximadamente 20% de seu carregamento inicial de 5-ASA. Logo, com o objetivo de evitar a liberação rápida inicial, cápsulas gastro-resistentes foram preenchidas com XMP5-ASA (XMPCAP5-ASA). O perfil de liberação da 5-ASA a partir das MPXCAP5-ASA no meio gástrico simulado mostrou um tempo de latência de até 4 h. No meio intestinal simulado, apenas 49% da 5-ASA foi liberada, até 6 h. Portanto, aproximadamente 50% da dose inicial do fármaco pode atingir o intestino grosso utilizando essa abordagem. Adicionalmente, com o propósito de avaliar se a cápsula gastro-resistente não foi o único fator capaz de promover o retardo na liberação do fármaco, amostras contendo 5-ASA livre nas cápsulas gastro-resistentes também foram avaliadas (CAP5-ASA) (Figura 5A). Contudo, foi possível observar que o fármaco foi totalmente liberado em 6 h de experimento. Assim, o resultado geral

relativo ao perfil de liberação das amostras nos permite inferir a importância das micropartículas de xilana no controle de liberação de 5-ASA, proporcionando uma melhoria na disponibilidade do fármaco no cólon.

Figura 5: A) Perfil de liberação *in vitro* do fármaco ao longo do tempo em função do pH. B) Modelagem matemática do perfil de liberação do fármaco de acordo com diferentes modelos. 5-ASA = 5-ASA livre, CAP5-ASA = dentro de cápsulas gastro-resistentes; XMP5-ASA = micropartículas de xilana contendo 5-ASA; XMPCAP5-ASA = cápsulas gastro-resistentes contendo XMP5-ASA).



Os dados de liberação *in vitro* foram ajustados em equações matemáticas a fim de descrever o perfil cinético da 5-ASA das formulações. Os resultados obtidos a partir da modelagem de cada sistema (R^2 ajustado, RMSE e MSC), bem como suas respectivas constantes, foram apresentados na Tabela 1. O perfil cinético de liberação apresentado pela XMP5-ASA foi melhor ajustado no modelo Peppas-Sahlin (Figura 5B), o que explica que a liberação do fármaco ocorreu por meio de dois processos, o fenômeno de difusão Fickiano e o de relaxamento da cadeia polimérica. A aplicação deste modelo e o cálculo das constantes k_1 e k_2 permite avaliar o impacto de cada mecanismo no processo de liberação do medicamento. Na verdade, uma vez que k_1 (44,83) é maior que k_2 (-5,61), pode-se dizer que a difusão Fickiana foi o fator predominante na liberação de 5-ASA das micropartículas (ver Tabela 1) (Peppas, Sahlin, 1989). Por outro lado, a cinética de liberação da 5-ASA das MPXCAP5-ASA foi melhor ajustada no modelo de Korsmeyer-Peppas, obtendo-se um expoente de liberação (n) de 0,26, indicando a presença do transporte de difusão Fickiana para essa formulação (JHA et al., 2016).

Tabela 1: Diferentes modelos matemáticos para avaliação do perfil de liberação *in vitro* da 5-ASA e as constantes de liberação.

Formulação	Modelos	Equação	R2 Ajustado	RMSE*	MSC**	Constantes
XMP5-ASA	Primeira-ordem	$F=100 \times [1-\text{Exp}(-k_1 \times t)]$	0.94	7.22	2.88	$k_1 = 0.39$
	Higuchi	$F = k_H \times t^{0.5}$	0.69	17.76	1.02	$k_H = 27.46;$
	Korsmeyer-Peppas	$F = k_{KP} \times t^n$	0.92	8.97	2.33	$k_{KP} = 45,68; n=0,28$
	Peppas-Sahlin	$F = k_1 \times t^m + k_2 \times t^{(2 \times m)}$	0.99	2.93	4.57	$k_1 = 44.83; k_2 = -5.61; m = 0.51$
XMPCAP5-ASA	Primeira-ordem	$F=100 \times [1 \times e^{-k_1 \times (t-T_{lag})}]$	-	-	-	-
	Higuchi	$F=k_H \times (t-T_{lag})^{0.5}$	0.94	9.36	2.14	$k_H = 26.30$
	Korsmeyer-Peppas	$F=k_{KP} \times (t-T_{lag})^n$	0.98	5.68	3.08	$k_{KP} = 48.48; n = 0.26$
	Peppas-Sahlin	$F=k_1 \times (t-T_{lag})^m + k_2 \times (t-T_{lag})^{(2 \times m)}$	0.87	13.72	1.98	$k_1 = -132.24; k_2 = 121.78; m = 0.16$

*RMSE – Desvio padrão médio; **MSC – Critério de seleção do modelo.

4. CONCLUSÃO

Neste trabalho, a MPXCAP5-ASA se mostrou como uma formulação promissora para a liberação de 5-ASA no cólon. Não houve nenhuma interação química entre os componentes da formulação que pudesse interferir nas características do fármaco, conforme demonstrado pelos resultados de FTIR-ATR. Além disso, os estudos de DRX, TG e DSC revelaram que a 5-ASA foi capaz se dispersar molecularmente na matriz polimérica, induzindo a um aumento em sua estabilidade térmica. Logo, diante desses resultados, podemos concluir que a XMPCAP5-ASA é uma formulação promissora para futuros estudos *in vivo* em modelos para inflamação na região do colón.

5. REFERÊNCIAS

Aranaz, I., Paños, I., Peniche, C., et al. Chitosan Spray-Dried Microparticles for Controlled Delivery of Venlafaxine Hydrochloride. **Molecules**, v.22, n.11, p.1980. nov. 2017. doi:10.3390/molecules22111980

Bernstein, C. N. Review article: changes in the epidemiology of inflammatory bowel disease-clues for aetiology. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, vol. 46, n. 10, p. 911–919, nov. 2017. doi:10.1111/apt.14338

Brassesco, M. E., Fuciños, P., Pastrana, L., et al. Development of alginate microparticles as efficient adsorption matrix for protein recovery. **Process Biochemistry**, vol. 80, p. 157-163, mai, 2019. doi:10.1016/j.procbio.2019.02.016

Cesar, A. L. A., Abrantes, F. A., Farah, L., et al. New mesalamine polymeric conjugate for controlled release: Preparation, characterization and biodistribution study. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, vol.111, p. 57–64, jan. 2018. doi:10.1016/j.ejps.2017.09.037

Grodahl, M., Gatenholm, P., & Dekker, M. Role of acetyl substitution in hardwood xylan. **Polysaccharides: Structural diversity and functional versatility**, 2^a ed., Nova Iorque, 2004. doi:10.1201/9781420030822 *E-book*.

Guan, Q. A Comprehensive Review and Update on the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. **Journal of Immunology Research**, vol. 2019, p.1–16, dez. 2019. doi:10.1155/2019/7247238

Jha, J., Chakraborty, S., Chaudhuri, M. G., et al. In Vitro Release Kinetics and Transferrin Saturation Study of Intravenous Iron Sucrose Entrapped in Poly(ethylene glycol)-Assisted Silica Xerogel. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, vol.178, n. 7, p.1351–1362, abr. 2016. doi:10.1007/s12010-015-1951-1

Li, B.-Z., Wang, L.-J., Li, D., et al. Fabrication of starch-based microparticles by an emulsification-crosslinking method. **Journal of Food Engineering**, vol. 92, n. 3, p. 250–254, jun. 2009. doi:10.1016/j.jfoodeng.2008.08.011

Li, B., Wang, L., Li, D., et al. (2009). Physical properties and loading capacity of starch-based microparticles crosslinked with trisodium trimetaphosphate. **Journal of Food Engineering**, vol. 92, n. 3, p. 255–260, jun. 2009. doi:10.1016/j.jfoodeng.2008.10.008

Liu, G., Hu, M., Zhao, Z., et al. Enhancing the stability of astaxanthin by encapsulation in poly (l-lactic acid) microspheres using a supercritical anti-solvent process. **Particuology**, vol. 44, p. 54-62, jun. 2019. doi:10.1016/j.partic.2018.04.006

Marcelino, H., da Silva, A., Gomes, M., et al. Leads from Physical, Chemical, and Thermal Characterization on Cytotoxic Effects of Xylan-Based Microparticles. **Polymers**, vol 7, n. 11, p. 2304–2315, nov. 2015. doi:10.3390/polym7111515

Mladenovska, K., Raicki, R. S., Janevik, E. I., et al. Colon-specific delivery of 5-aminosalicylic acid from chitosan-Ca-alginate microparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, vol. 342, n.1-2, p. 124–136, set. 2007. doi:10.1016/j.ijpharm.2007.05.028

Nagashima, T., Oliveira, E. E., da Silva, A. E., et al. Influence of the Lipophilic External Phase Composition on the Preparation and Characterization of Xylan Microcapsules—A Technical Note. **AAPS PharmSciTech**, vol. 9, n. 3, p. 814–817, set. 2008. doi:10.1208/s12249-008-9115-z

Oliveira, A. R. de, Molina, E. F., de Castro Mesquita, P., et al. Structural and thermal properties of spray-dried methotrexate-loaded biodegradable microparticles. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, vol. 112, n. 2, p. 555–565, mai 2013. doi:10.1007/s10973-012-2580-3

Oliveira, E. E., Silva, A. E., Júnior, T. N., et al. Xylan from corn cobs, a promising polymer for drug delivery: Production and characterization. **Bioresource Technology**, vol. 101, n. 14, p. 5402–5406, jul. 2010. doi:10.1016/j.biortech.2010.01.137

Oliveira, F. M., Emerick, A. P. C., Soares, E. G. Aspectos epidemiológicos das doenças intestinais inflamatórias na macroregião de saúde leste do Estado de Minas Gerais. **Ciência & Saúde Coletiva**, vol. 15, n. suppl 1, p. 1031-1037, jun. 2010. doi:10.1590/S1413-81232010000700009

Palma, E., Costa, N., Molinaro, R., et al. Improvement of the Therapeutic Treatment of Inflammatory Bowel Diseases Following Rectal Administration of Mesalazine-loaded Chitosan Microparticles vs Asamax®. **Carbohydrate Polymers**, vol. 212, p. 430-438, mai. 2019. doi:10.1016/j.carbpol.2019.02.049

Parize, A. L., Stulzer, H. K., Laranjeira, M. C. M., et al. Evaluation of chitosan microparticles containing curcumin and crosslinked with sodium tripolyphosphate produced by spray drying. **Química Nova**, vol. 35, n. 6, p. 1127–1132, 2012. doi:10.1590/s0100-40422012000600011

Peppas, N. A., & Sahlin, J. J. A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation. **International Journal of Pharmaceutics**, vol. 57, n. 2, p. 169–172, dez 1989. doi:10.1016/0378-5173(89)90306-2

Sardo, H. S., Saremnejad, F., Bagheri, S., et al. A review on 5-aminosalicylic acid colon-targeted oral drug delivery systems. **International Journal of Pharmaceutics**, vol. 558, p. 367-379, mar. 2019. doi:10.1016/j.ijpharm.2019.01.022

Sauraj, Kumar, S. U., Gopinath, P., et al. Synthesis and bio-evaluation of xylan-5-fluorouracil-1-acetic acid conjugates as prodrugs for colon cancer treatment. **Carbohydrate Polymers**, vol. 157, p. 1442–1450, fev. 2017 doi: 10.1016/j.carbpol.2016.09.096

Silva, A. E., Oliveira, E. E., Gomes, et al. Producing xylan/Eudragit® S100-based microparticles by chemical and physico-mechanical approaches as carriers for 5-aminosalicylic acid. **Journal of Microencapsulation**, vol. 30, n. 8, p. 787–795, dez. 2013. doi:10.3109/02652048.2013.788087

Suflet, D. M., Chitanu, G. C., & Popa, V. I. Phosphorylation of polysaccharides: New results on synthesis and characterisation of phosphorylated cellulose. **Reactive and Functional Polymers**, vol. 66, n. 11, p. 1240–1249, nov. 2006. doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2006.03.006

Tang, P., Sun, Q., Zhao, L., et al. Mesalazine/hydroxypropyl- β -cyclodextrin/chitosan nanoparticles with sustained release and enhanced anti-inflammation activity. **Carbohydrate Polymers**, vol. 198, p. 418–425, out. 2018. doi:10.1016/j.carbpol.2018.06.106

Urtiga, S. C. C., Gabi, C. A. A. L., Eleamen, G. R. A., et al. Preparation and characterization of safe microparticles based on xylan. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, vol. 43, n. 10, p. 1601–1609, out. 2017. doi: : 10.1080/03639045.2017.1326932

Van de Meeberg, M. M., Schultheiss, J. P. D., Oldenburg, B., et al. Does the 5-Aminosalicylate Concentration Correlate with the Efficacy of Oral 5-Aminosalicylate and Predict Response in Patients with Inflammatory Bowel Disease? A Systematic Review. **Digestion**, vol. 101, n. 3, p. 245-261, 2019. doi:10.1159/000499331

Xu, J., Chen, N., Wu, Z., et al. 5-Aminosalicylic Acid Alters the Gut Bacterial Microbiota in Patients With Ulcerative Colitis. **Frontiers in Microbiology**, vol. 9, p. 1274, jun. 2018. doi:10.3389/fmicb.2018.01274

Zhang, Y., Huo, M., Zhou, J., Zou, A., Li, W., Yao, C., & Xie, S. DDSolver: An Add-In Program for Modeling and Comparison of Drug Dissolution Profiles. **The AAPS Journal**, vol. 12, n. 3, p. 263–271, set. 2010. doi:10.1208/s12248-010-9185-1

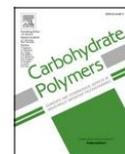
ANEXO

Carbohydrate Polymers 250 (2020) 116929



Contents lists available at ScienceDirect

Carbohydrate Polymers

journal homepage: www.elsevier.com/locate/carbpol

Xylan microparticles for controlled release of mesalamine: Production and physicochemical characterization

Silvana Cartaxo da Costa Urtiga^a, Vitória Maria Oliveira Alves^b, Camila de Oliveira Melo^c, Marini Nascimento de Lima^b, Ernane Souza^d, Arcelina Pacheco Cunha^e, Nágila Maria Pontes Silva Ricardo^e, Elquio Eleamen Oliveira^b, Eryvaldo Sócrates Tabosa do Egito^{a,*}

^a Graduate Program in Health Sciences, Federal University of Rio Grande do Norte, Gen. Gustavo Cordeiro de Faria, 59010-180, Natal, Rio Grande do Norte, Brazil

^b Department of Biology, State University of Paraíba, Horácio Trajano, 58070-450, João Pessoa, Paraíba, Brazil

^c Federal University of Paraíba, Conjunto Presidente Castelo Branco III, 58033-455, João Pessoa, Paraíba, Brazil

^d University of Michigan, College of Pharmacy, 428 Church St., Ann Arbor, Michigan, 48109, USA

^e Laboratory of Polymers and Materials Innovation, Department of Organic and Inorganic Chemistry, Sciences Center, Federal University of Ceará, Campus of Pici, 60455-760, Fortaleza, Ceará, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Mesalazine
Biopolymer
Hemicellulose
Drug delivery systems
Ddsolver

Chemical compounds studied in this article:

Sodium trimetaphosphate (PubChem CID 24579)
Mesalamine (PubChem CID 4075)

ABSTRACT

Xylan extracted from corn cobs was used to produce mesalamine-loaded xylan microparticles (XMP5-ASA) by cross-linking polymerization using a non-hazardous cross-linking agent. The microparticles were characterized by thermal analysis (DSC/TG), X-ray diffraction (XRD), Infrared spectroscopy (FTIR-ATR) and scanning electron microscopy (SEM). A comparative study of the *in vitro* drug release from XMP5-ASA and from gastro-resistant capsules filled with XMP5-ASA (XMP5-ASA) or 5-ASA was also performed. NMR, FTIR-ATR, XRD and DSC/TG studies indicated molecularly dispersed drug in the microparticles with increment on drug stability. The release studies showed that XMP5-ASA allowed more efficient drug retention in the simulated gastric fluid and a prolonged drug release lasting up to 24 h. XMP5-ASA retained approximately 48 % of its drug content after 6 h on the drug release assay. Thus, the encapsulation of 5-ASA into xylan microparticles together with gastro-resistant capsules allowed a better release control of the drug during different simulated gastrointestinal medium.

1. Introduction

Over the last years, biopolymers extracted from agricultural wastes have received a great attention in several research fields, of which xylan has substantial importance (Lucena, Costa, Eleamen, Mendonça, & Oliveira, 2017; Oliveira et al., 2010; Samanta et al., 2012, 2015). Xylan, the most common hemicellulose and the second most abundant biopolymer in the plant kingdom, can be extracted from many different agricultural products including wheat straw, corn stalks and cob, sorghum and sugar cane, hulls and husks from starch production, as well as from forest and pulping waste products from hardwoods and softwoods (Ebringerová & Heinze, 2000; Kayserlioglu, Bakir, Yilmaz, & Akkas, 2003).

Several beneficial properties related to xylyns have been reported in

the literature, such as antiphlogistic effects, immune function, anti-mutagenic activity, inhibitory action on the growth rate of tumors and antimicrobial activity (Ebringerová & Heinze, 2000; Ebringerová, Hromádková, Alfödi, & Hřibálová, 1998; Melo-Silveira et al., 2012, 2019). Additionally, studies reported that xylan has the ability to remain intact in the physiological stomach environment and small intestine, once its complete degradation requires the activity of several enzymes specifically produced by human colonic microflora (Rubinstein, 1995). Such characteristic would allow the use of this polymer as a suitable raw material for the development of a colon-specific mesalamine (5-ASA) drug (Oliveira et al., 2010).

5-ASA is an anti-inflammatory drug commonly used on the treatment of Crohn's disease and ulcerative colitis (Mladenovska et al., 2007). However, the conventional oral administration of 5-ASA is associated to

* Corresponding author at: Department of Pharmacy, Federal University of Rio Grande do Norte, Rua Gen. Gustavo Cordeiro de Faria, SN, CEP 59010-180, Natal, Rio Grande do Norte, Brazil.

E-mail address: socrates@ufnet.br (E.S.T. Egito).

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116929>

Received 3 March 2020; Received in revised form 6 August 2020; Accepted 6 August 2020

Available online 17 August 2020

0144-8617/© 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.