**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA (RENORBIO)**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ**

**- PONTO FOCAL -**

# DELINEAMENTO DE NANOPARTÍCULAS A PARTIR DE POLÍMEROS NATURAIS PARA ENCAPSULAÇÃO DE MESALAZINA

**IZABELA BORGES DE CARVALHO LIMA**

**TERESINA-PI**

**2022**

**IZABELA BORGES DE CARVALHO LIMA**

# DELINEAMENTO DE NANOPARTÍCULAS A PARTIR DE POLÍMEROS NATURAIS PARA ENCAPSULAÇÃO DE MESALAZINA

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), ponto focal Universidade Federal do Piauí (UFPI), em cumprimento às exigências para obtenção do título de Doutora em Biotecnologia.

*Orientador:* Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes

*Co-Orientadora:* Profa. Dra. Hercília Maria Lins Rolim

*Área de Concentração - Linha de Pesquisa:*

Biotecnologia Industrial - Bioprocessos

.

**TERESINA-PI**

**2022**

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco
Serviço de Processamento Técnico

L732d Lima, Izabela Borges de Carvalho.
Delineamento de nanopartículas a partir de polímeros naturais para encapsulação de mesalazina / Izabela Borges de Carvalho Lima. – 2022.
144 f.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia, Teresina, 2022.
"Orientador: Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes.
Co-Orientadora: Profa. Dra. Hercília Maria Lins Rolim"

1. Biotecnologia. 2. Polímeros naturais. 3. Goma do cajueiro. 4. Mesalazina. I. Título.

CDD 660.6

Bibliotecária: Milane Batista da Silva – CRB-3/1005

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRO-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

**FOLHA DE APROVAÇÃO - DEFESA DE TESE**

**ALUNA:** IZABELA BORGES DE CARVALHO LIMA

**DELINEAMENTO DE NANOPARTÍCULAS A PARTIR DE POLÍMEROS NATURAIS PARA ENCAPSULAÇÃO DE MESALAZINA**

**PROFESSOR ORIENTADOR:** Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes

| **BANCA EXAMINADORA:** | **CONCEITO** | **ASSINATURA** |
|---|---|---|
| Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes (UFPI) (Presidente) | APROVADA | |
| Prof. Dr. Adley Antonini Neves de Lima (UFRN) (Examinador Interno) | APROVADA | Documento assinado digitalmente gov.br ADLEY ANTONINI NEVES DE LIMA Data: 24/02/2023 08:36:04-0300 Verifique em https://verificador.iti.br |
| Prof. Dr. Hernane da Silva Barud – (UNIARA) (Examinador Externo) | APROVADA | |
| Profa Dra. Durcilene Alves da Silva (UFDPar). (Examinadora Interna) | APROVADA | Documento assinado digitalmente gov.br DURCILENE ALVES DA SILVA Data: 25/02/2023 12:06:17-0300 Verifique em https://verificador.iti.br |
| Profa. Dra. Rosimeire Ferreira dos Santos (UFPI) (Examinadora Externa) | APROVADA | Documento assinado digitalmente gov.br ROSIMEIRE FERREIRA DOS SANTOS Data: 28/02/2023 09:25:49-0300 Verifique em https://verificador.iti.br |

**DATA DA AVALIAÇÃO:** 20 de Dezembro de 2022
**HORÁRIO:** 9:00h. **LOCAL:** Plataforma Google Meet

**DEDICATÓRIA**

À minha querida mãe Ana Maria, aos meus irmãos Miriã, David e Daniela pelo amor, união e entusiasmo em cada passo dado na minha vida. À minha sobrinha Isis, pelo riso fácil, mais amor e alegria que trouxe a nossa família.

Ao meu pai José Borges (*In memorian*).
Quanta falta me faz. Saudades eternas.

Ao meu companheiro de vida Marconny.

Ao meu filho Miguel, por transformar a minha vida com o seu sorriso, e me ensinar todos os dias o real significado da palavra AMOR.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, ter me dado a vida, por fazer-me sentir a sua presença em todos os meus passos, por me permitir vivenciar tantas coisas e conhecer tantas pessoas, e por isso ser uma eterna aprendiz.

A Universidade Federal do Piauí (UFPI), e ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (RENORBIO) por me possibilitar a realização do Curso de Doutorado, não só pela parte técnica, pelo título em si, mas porque a educação constrói Mentes, e é isso que levamos e aplicamos em todos os pilares das nossas vidas.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior), pelo apoio financeiro e suporte técnico através do Portal de Periódicos.

Aos meus orientadores: Professor Dr. Lívio Nunes por me reintroduzir ao mundo da Tecnologia Farmacêutica e empreendedorismo me possibilitando aprender tantas coisas novas; À professora Dra. Hercília Rolim pelo acolhimento de braços abertos, me fazendo acreditar que tudo daria certo. Obrigada pela confiança, oportunidade e amizade.

Às "Garotinhas Ativas" do Laboratório de Inovação Tecnológica, Empreendedorismo, Medicamentos e Correlatos (LITE): Lina Clara Moreno, Ana Cristina Santana, Victória Peres, Lorena Lima, Leide Soares, Brenda Nayranne, por todos os momentos que passamos juntas, sejam eles de partilha de conhecimento, ajuda nos experimentos, discussões científicas e filosóficas, de altas risadas, lamentações ou nostalgia.

Às amigas companheiras de Turma: Bruna Souza, Ag-Anne Melo, Lívia Filgueiras e Juliana Nadielle pelo choro livre (risos). Obrigada pelo ombro amigo.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (RENORBIO), em especial a Profa Dra. Carla Eiras, que se propôs a ministrar a disciplina 'Felicidade' onde discutimos sobre psicologia positiva, inteligência emocional, neurociência, fazendo-nos entender as implicações dos sentimentos e emoções na vida pessoal e profissional. Agradeço

pela iniciativa de falar de temas tão relevantes, nunca propostos anteriormente no nordeste. Considero divisor de águas na minha vida.

Às profas Dra. Durcilene Alves e Dra. Sávia Dias pelo fornecimento da Goma do Cajueiro Acetilada e por pacientemente me ensinar a sintetizar as nanopartículas sempre se disponibilizarem a tirar as minhas dúvidas.

Às pessoas maravilhosas dos laboratórios (LPN, LAS, LIMAV, MATSens) que encontrei na caminhada cheios de gentileza: Roger Wallacy, João Paulo, Élcio, Adonias, Samuel, Alan Ícaro, Poliana, Ariane, Moisés, Luciano: seja no fornecimento de água ultra-pura necessárias para as sínteses das nanopartículas, na liofilização das amostras, emprestando condutivímetro, me ensinando a analisar amostras ou plotar os dados de TGA, DSC, FTIR, DRX no origin, ou MEV no imageJ, À Carlinha do NCQMC-UFPE que conheci no ISM2019 *(International Simposium of Microencapsulation em Salvador/BA em 2019)* e pacientemente me ensinou a analisar dados de liberação *in vitro*. Ao Márcio que gentilmente organizava a agenda do LIMAV pra utilização dos equipamentos e análise de amostras.

Ao Prof. Dr. Dalton Dittz e ao Mestrando Rayran Walter, pela parceria nos testes de citotoxicidade *in vitro*.

Muitíssimo Obrigada!

**Izabela Borges de Carvalho Lima**

***"O segredo de progredir é começar. O segredo de começar é dividir as tarefas árduas e complicadas em tarefas pequenas e fáceis de executar, e depois começar pela primeira".***
***(Mark Twain)***

## LISTA DE FIGURAS


| CAPÍTULO I | |
|---|---|
| **Figura 1: Representação das localizações do trato gastrointestinal mais comumente afetadas (cor escura) por Colite Ulcerativa (A) e Doença de Crohn (B)** | 23 |
| **Figura 2: Barreira intestinal da mucosa em condições saudável e de inflamação** | 24 |
| **Figura 3: Alterações fisiológicas no TGI de pacientes** | 25 |
| **Figura 4: Dimensões representativas de algumas espécies típicas em suas escalas** | 31 |
| **Figura 5: Tipos de Nanopartículas utilizadas como sistemas de liberação** | 32 |
| **Figura 6: Estrutura química da Goma de Cajueiro Acetilada** | 36 |
| **Figura 7: Estrutura química da Zeína** | 37 |

| CAPÍTULO II | |
|---|---|
| **Figura 1. Fluxograma de seleção de artigos para este estudo (PRISMA)** | 53 |
| **Figura 2. Número de artigos publicados por país relacionados a sistemas nanoestruturados usando polímeros naturais para otimização do tratamento das doenças inflamatórias intestinais** | 54 |
| **Figura 3. Evolução anual de publicações científicas relacionadas a sistemas nanoestruturados utilizando polímeros naturais para otimização do tratamento das doenças inflamatórias intestinais** | 54 |
| **Figura 4. Polímeros naturais mais citados no desenvolvimento de nanossistemas para otimizar o tratamento de doenças inflamatórias intestinais** | 56 |
| **Figura 5. Estrutura da Quitosana** | 62 |
| **Figura 6. Estrutura do Alginato** | 64 |
| **Figura 7. Estrutura do Ácido Hialurônico** | 64 |
| **Figura 8. Estrutura da Inulina** | 66 |
| **Figura 9. Estrutura do Amido** | 67 |
| **Figura 10. Estrutura da Ciclodextrina** | 68 |
| **Figura 11. Estrutura da Goma Xantana** | 69 |

| | |
|---|---|
| **Figura 12. Estrutura da gelatina** | 69 |

| **CAPÍTULO III** | |
|---|---|
| **Figura 1. (a) Mesalazina ou 5-ASA (b) Goma do Cajueiro Acetilada** | 89 |
| **Figura 2. Distribuição de tamanho de partícula (a) e potencial zeta de NP-GCA-MSZ (b)** | 95 |
| **Figura 3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das NP-GCA-** | 96 |
| **Figura 4. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourrier (FTIR) da Mesalazina (MSZ), NP-GCA, NP-GCA-MSZ e** | 97 |
| **Figura 5. Difração de raios-X (DRX) de NP-GCA-MSZ. [A] Mesalazina, [B] GCA, [C] Mistura Física, [D] NP-GCA, [D] NP-GCA-MSZ** | 98 |
| **Figura 6. Perfil de Liberação da MSZ a partir das NP-GCA em pH 1,2, pH 6.8 e pH 7.4** | 99 |
| **Figura 7. Ensaio de Citotoxicidade *in vitro* pelo método MTT em células CT26 com 72 horas de exposição (A) NP-GCA (B) NP-GCA-MSZ.** | 101 |

| **CAPÍTULO IV** | |
|---|---|
| **Figura 1: Estrutura química da Mesalazina (A) e da Zeína (B)** | 111 |
| **Figura 2: Representação esquemática da preparação das NP-ZN-MSZ** | 113 |
| **Figura 3: Formação as Nanopartículas [A] e após a secagem em spray-dyer [B]** | 118 |
| **Figura 4: Distribuição de tamanho de partícula (a) e potencial zeta de NP-ZN-MSZ (b)** | 120 |
| **Figura 5: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das NP-ZN-MSZ** | 121 |
| **Figura 6: Espectro de FTIR (pastilha de KBr) da Mistura Física, Nanopartículas de zeína com e sem o fármaco e da Mesalazina** | 122 |
| **Figura 7: Termograma de NP-ZN-MSZ** | 123 |
| **Figura 8: Perfil de Liberação da MSZ a partir das NP-ZN em pH 1,2, pH 6.8 e pH 7.4** | 124 |
| **Figura 9: Ensaio de MTT em células CT26 com 72 horas de exposição (A) NP-ZN** | 127 |


**LISTA DE TABELAS**

| CAPÍTULO I | |
|---|---|
| **Tabela 1. Parâmetros físico-químicos da Mesalazina** | 28 |
| **Tabela 2. Medicamentos de Referência disponíveis no mercado farmacêutico brasileiro** | 29 |

| CAPÍTULO II | |
|---|---|
| **Tabela 1. Sistemas Nanoestruturados usando polímeros naturais para otimização do tratamento das doenças inflamatórias intestinais** | 56 |
| **Tabela 2. Patentes depositadas em bancos de dados relacionados a polímeros naturais nanoestruturados usados para otimizar o tratamento de doenças inflamatórias intestinais** | 59 |

| CAPÍTULO III | |
|---|---|
| **Tabela 1. Caracterização das NP-GCA-MSZ em diversas proporções polímero-fármaco** | 94 |
| **Tabela 2. Representação dos dados experimentais do modelo cinético *Peppas-Sahlin* que mostrou maior valor de $R^2$adj e seus parâmetros $K_1$ e $K_2$** | 98 |
| **Tabela 3: Estabilidade coloidal de NP-GCA-MSZ em 120 dias** | 102 |

| CAPÍTULO IV | |
|---|---|
| **Tabela 1. Caracterização das Nanopartículas de Zeína com e sem Fármaco** | 118 |
| **Tabela 2. Representação dos dados experimentais dos modelos cinéticos que melhor se ajustaram aos diferentes meios de liberação** | 122 |
| **Tabela 3: Estabilidade coloidal de NP-ZN-MSZ em 120 dias** | |


## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---|---|
| ANOVA | Análise de variância |
| 5-ASA | Ácido 5-aminossalicílico |
| CLAE | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência |
| COX | Ciclo-oxigenase |
| CU | Colite Ulcerativa |
| DC | Doença de Crohn |
| DII | Doenças Inflamatórias Intestinais |
| EDL | Espalhamento dinâmico da luz |
| DLS | Dynamic Light Scattering |
| DRX | Difração de Raio X |
| EE | Eficiência de encapsulação |
| FTIR | Espetroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier |
| g | Grama |
| GC | Goma do Cajueiro |
| GI | Gastrointestinal |
| HPLC | High Performance Liquid Cromatography |
| CLAE | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência |
| IPD | Índice de polidispersão |
| MEV | Microscopia Eletrônica de Varredura |
| min | Minutos |
| mm | Milímetro |
| MSZ | Mesalazina |
| mV | MiliVolts |
| nm | Nanômetro |
| NP | Nanopartículas |
| NP-GCA-MSZ | Nanopartículas de Goma do Cajueiro Acetilada carreando Mesalazina |
| NP-ZN-MSZ | Nanopartículas de Zeína carreando Mesalazina |
| ºC | Grau Celsius |

| | |
|---|---|
| pH | potencial Hidrogeniônico |
| PM | Peso Molecular |
| RCU | Retocolite Ulcerativa |
| rpm | Rotação por minuto |
| UV/Vis | Ultravioleta visível |
| v/v | Volume/volume |
| µg/mL | Micrograma/mililitro |
| µL | Microlitro |
| µm | Micrômetro |
| TGI | Trago Gastrointestinal |
| TGA | Análise Termogravimétrica |
| NPPs | Nanopartículas poliméricas |

LIMA, Izabela Borges de Carvalho. **Delineamento de nanopartículas a partir de polímeros naturais para encapsulação de Mesalazina.** 144f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2022.


**RESUMO**

Mesalazina (MSZ) é um fármaco anti-inflamatória para tratamento das Doenças Inflamatórias Intestinais (Colite Ulcerativa e Doença de Crohn), que acomete principalmente o cólon. Este fármaco tem como fatores limitantes a baixa absorção no cólon e alta absorção sistêmica que favorece efeitos adversos. Este estudo se propôs a encapsular MSZ em nanopartículas obtidas de polímeros naturais não-tóxicos, biocompatíveis, biodegradáveis e mucoadesivos, sendo elas a Goma do cajueiro Acetilada (NP-GCA), um polissacarídeo extraído do tronco da árvore *Anacardium Ocidentale*, purificado e modificado e a Zeína (NP-ZN), proteína encontrada no milho classificada no grupo das prolaminas. As NP foram sintetizadas pelo método de Diálise (NP-GCA) ou Dessolvatação (NP-ZN) seguida por secagem em liofilizador ou mini spray-dryer, respectivamente, variando as proporções polímero-fármaco no momento da síntese. As NP-GCA-MSZ apresentaram tamanho 273±6,76nm, índice de polidispersão (IPD) 0,10±0,02 e potencial zeta -43,2±8,15mV e as NP-ZN-MSZ apresentaram tamanho 266,6±52 nm, IPD 0,14±1.1 e Potencial zeta -36,4±1.5 mV o que sugere uniformidade e estabilidade coloidal das NP. A quantificação de MSZ nas NP foi realizada através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) onde NP-GCA-MSZ (10:1) demonstrou eficiência de encapsulação (EE) 99% e *drug-loaded* 24µg/mL e NP-ZN-MSZ (1:20) EE 45% e *drug-loaded* 43,8 µg/mg de NP. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) demonstraram morfologia esférica com variação de tamanho de 240 a 500nm (NP-GCA-MSZ) e 220 a 400nm (NP-ZN-MSZ). Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) não mostraram espectros do fármaco nas NP em relação a mistura física o que sugere e confirma a encapsulação do fármaco. As análises termogravimétricas (TGA) demonstraram Estabilidade térmica das NP-ZN-MSZ até 300°C e ausência de pico endotérmico, que indica estado amorfo nas nanopartículas. Difração de Raio X (DRX) demonstrou que a incorporação do fármaco em nanopartículas poliméricas amorfas de NP-GCA torna-o mais estável ao reduzir a sua cristalinidade. Estudos de liberação *in vitro* demonstraram gastrorresistência, com baixa liberação após 2h em pH 1,2, e a mudança para pH 6,8 durante 4h aumentou a liberação para 62,08 ± 6,03 das NP-GCA e 54,83 ± 1,30% das NP-ZN que se manteve em pH 7,4, onde observa-se liberação sustentada do fármaco 95,61 ± 3,25% NP-GCA-MSZ em 24h, e 97,67 ± 0,32% NP-ZN-MSZ em 120h. Estudos de citotoxicidade *in vitro* usando a linhagem de células CT26.WT (carcinoma de cólon murino) onde diferentes concentrações de NPs foram expostas por 72h demonstrou ausência de citotoxicidade basal até 131µg/mL NP-GCA (com ou sem MSZ), ou 500µg/mL (NP-ZN). O estudo de estabilidade coloidal em 120 dias não mostrou diferença de tamanho, IPD e potencial zeta, indicando NPs com menor tendência a formar agregados. Tais NPs fornecem evidências promissoras como veículo para a liberação sustentada de Mesalazina no cólon com foco na otimização do Tratamento das Doenças Inflamatórias Intestinais.



**Palavras-chave:** Nanocarreadores; Polímeros naturais; Goma do cajueiro; Zeína; Mesalazina; Colite.

LIMA, Izabela Borges de Carvalho. **Design of nanoparticles from natural polymers for Mesalazine encapsulation.** 144f. Thesis (Doctorate in Biotechnology) - Federal University of Piauí, Teresina, 2022.


**ABSTRACT**

Mesalazine (MSZ) is an anti-inflammatory drug for the treatment of Inflammatory Bowel Diseases (Ulcerative Colitis and Crohn's Disease), which mainly affects the colon. This drug has as limiting factors the low absorption in the colon and high systemic absorption that favors adverse effects. This study aimed to encapsulate MSZ in nanoparticles obtained from non-toxic, biocompatible, biodegradable and mucoadhesive natural polymers, namely Acetylated Cashew Gum (NP-GCA), a polysaccharide extracted from the trunk of the Anacardium Ocidentale tree, purified and modified and Zein (NP-ZN), protein found in corn classified in the group of prolamins. NPs were synthesized by the method of Dialysis (NP-GCA) or Desolvation (NP-ZN) followed by drying in a lyophilizer or mini spray-dryer, respectively, varying the polymer-drug proportions at the time of synthesis. The NP-GCA-MSZ had a size of 273±6.76nm, a polydispersity index (IPD) of 0.10±0.02 and a zeta potential of -43.2±8.15mV and the NP-ZN-MSZ had a size of 266.6 ±52 nm, IPD 0.14±1.1 and zeta potential -36.4±1.5 mV which suggests uniformity and colloidal stability of the NPs. The quantification of MSZ in NP was performed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) where NP-GCA-MSZ (10:1) showed encapsulation efficiency (EE) 99% and drug-loaded 24µg/mL and NP-ZN- MSZ (1:20) EE 45% and drug-loaded 43.8 µg/ mg NP. Scanning Electron Microscopy (SEM) demonstrated spherical morphology with size variation from 240 to 500nm (NP-GCA-MSZ) and 220 to 400nm (NP-ZN-MSZ). Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) did not show drug spectra in the NPs in relation to the physical mixture which suggests and confirms drug encapsulation. Thermogravimetric analysis (TGA) demonstrated thermal stability of NP-ZN-MSZ up to 300°C and absence of an endothermic peak, which indicates amorphous state in the nanoparticles. X-Ray Diffraction (XRD) demonstrated that the incorporation of the drug in amorphous polymeric nanoparticles of NP-GCA makes it more stable by reducing its crystallinity. In vitro release studies demonstrated gastro-resistance, with low release after 2h at pH 1.2, and the change to pH 6.8 for 4h increased the release to 62.08 ± 6.03 of NP-GCA and 54.83 ± 1 .30% of NP-ZN that remained at pH 7.4, where sustained drug release is observed 95.61 ± 3.25% NP-GCA-MSZ in 24h, and 97.67 ± 0.32% NP -ZN-MSZ in 120h. In vitro cytotoxicity studies using the cell line CT26.WT (murine colon carcinoma) where different concentrations of NPs were exposed for 72h showed no basal cytotoxicity up to 131µg/mL NP-GCA (with or without MSZ), or 500µg/ mL (NP-ZN). The colloidal stability study at 120 days showed no difference in size, IPD and zeta potential, indicating NPs with a lower tendency to form aggregates. Such NPs provide promising evidence as a vehicle for the sustained release of Mesalazine into the colon with a focus on optimizing the treatment of Inflammatory Bowel Diseases.



**Keywords:** Nanocarriers; Natural polymers; Cashew gum; Zein; Mesalazine; Colitis.

**SUMÁRIO**

1. INTRODUÇÃO .....17

2. OBJETIVOS .....20

2.1. Objetivo Geral .....20

2.2.Objetivos Específicos .....20

*Capítulo I* .....*21*

3. REFERENCIAL TEÓRICO .....22

3.1.Doenças Inflamatórias Intestinais (DII) .....22

3.2. Liberação de fármacos direcionadas para DII .....24

3.3. Mesalazina .....27

3.4. Nanopartículas poliméricas .....30

3.5.Polímeros Naturais .....32

3.6. Goma do Cajueiro Acetilada .....33

3.7.Zeína .....36

4. REFERÊNCIAS .....38

*Capítulo II* .....*47*

Desenvolvimento de sistemas nanoestruturados usando polímeros naturais para otimizar o tratamento de doenças inflamatórias intestinais: um estudo prospectivo .....48

*Capítulo III* .....*87*

Nanopartículas de Goma do Cajueiro Acetilada para liberação de Mesalazina…….……88

*Capítulo IV*.....*110*

Nanoparticulas obtidas da Zeína para encapsulação de Mesalazina……..…111

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS..... 135

ANEXOS .....136

# *Introdução*

# 1. **INTRODUÇÃO**

As doenças inflamatórias intestinais (DII) são condições crônicas representadas pela Doença de Crohn (DC) e a Colite ulcerativa (CU) com etiologia que envolve fatores genéticos, ambientais e imunológicos. Tem como sinais e sintomas: diarréia, abscessos, fístulas, dor abdominal, estenose e perda de peso. Os objetivos da terapêutica são a indução e a manutenção da remissão para melhora da qualidade de vida dos pacientes (CHU et al., 2018a; JEONG et al., 2019; PARK et al., 2020; COHEN; RUBIN, 2021).

A Mesalazina (MSZ) também conhecida como ácido 5-aminossalicílico (5-ASA) é um fármaco aminossalicilato utilizado nas DII desde os anos 60 para induzir a remissão e manutenção principalmente na CU. Seu mecanismo de ação não está completamente elucidado, mas envolve supressão de NF-kB, proteção da barreira epitelial de células T84 contra peroxinitritos, redução de radicais livre, inibição de leucotrienos, prostaglandinas e de citocinas pró-inflamatórias (SARDO et al., 2019).

Além do alto custo, este fármaco tem como fatores limitantes ao seu uso a baixa absortividade no cólon inflamado, alta absorção sistêmica que favorece aos efeitos adversos e o alto regime de dosagem que chega a 4,8gramas/dia e dificultam a adesão ao tratamento pelos pacientes (BERENDS et al., 2019; LAU et al., 2013; WANG et al., 2017).

Diversos estudos revelam as oportunidades da nanotecnologia no tratamento das DII, que pode substituir as formas de dosagem convencionais com maior eficácia, menores doses e melhora da solubilidade (KUMAR; NEWTON, 2017a).

Nanopartículas poliméricas (NPPs) oferecem maior seletividade do fármaco ao órgão-alvo, liberação sustentada do composto encapsulado, proteção adequada contra a degradação, elevada capacidade de encapsulamento e maior estabilidade quando em contato com fluidos biológicos (AGÜEROS et al., 2010; INCHAURRAGA et al., 2015; ULBRICH et al., 2016).

Polímeros naturais têm sido utilizados para liberação de fármacos no cólon, (RAJGURU *et al*., 2011). São atóxicos, biodegradáveis, possuem alta estabilidade, são fáceis de manipular, econômicos e tem degradação específica no cólon, e por isso nanopartículas a partir de polímeros naturais tornam-se mais atrativos para carreamento de fármacos para tratamento das doenças inflamatórias intestinais (GARG et al., 2018; KULKARNI; BUTTE; RATHOD, 2012; PRAJAPATI; PATEL; S., 2017).

A goma do cajueiro (CG) é um polímero natural polissacarídico extraído do exsudato da árvore *Anacardium occidentale*_amplamente distribuída no nordeste do Brasil. Contém galactose (72-73%), glicose (11-14%), arabinose (4,6 a 5%), ramnose (3,2-4%) e ácido glucurônico (4,7-6,3%) em sua estrutura e tem como vantagens a biocompatibilidade, biodegradabilidade e custo-efetividade, além de propriedades reológicas e mucoadesivas (RIBEIRO *et al*., 2016).

A acetilação de GC (GCA) resulta em uma estrutura química final adequada a obtenção de nanopartículas poliméricas a qual pode ser aplicada em sistemas nanoestruturados buscando uma liberação mais controlada do fármaco e sua proteção gastrointestinal (ARAÚJO et al., 2018; DIAS et al., 2016a; RIBEIRO et al., 2016).

Outro polímero natural amplamente estudado como veículo para a liberação controlada de fármacos é a Zeína (ZN), uma proteína do grupo das prolaminas extraída do milho (LI et al., 2016). Possui natureza anfifílica, não-tóxica, biocompatível, biodegradável e desenvolve interações mucoadesivas, que permanece mais tempo em contato com a superfície absortiva dos enterócitos e promovendo a liberação controlada do fármaco (PENALVA *et al*., 2017; FARRIS *et al*., 2017).

Nesse sentido, nanoparticulas formadas a partir da goma do cajueiro acetilada ou da zeina mostra-se inovador para encapsulação da mesalazina, o que amplia as possibilidades de otimização do tratamento das Doenças Inflamatórias Intestinais.

# *Objetivos*

# 1. OBJETIVOS

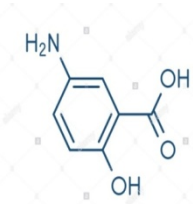
## 1.1. Objetivo Geral

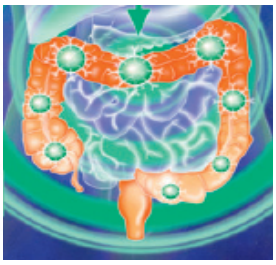
- ✓ Delineamento de Nanopartículas a partir dos polímeros naturais Zeína e Goma do Cajueiro Acetilada para encapsulação de Mesalazina

## 1.2.Objetivos Específicos

- ✓ Desenvolver nanopartículas a partir da Goma do Cajueiro Acetilada (NP-GCA) carregadas com Mesalazina (MSZ).
- ✓ Desenvolver nanopartículas a partir da Zeína (NP-ZN) carregadas com Mesalazina (MSZ).
- ✓ Caracterizar as nanopartículas quanto ao seu tamanho, uniformidade, carga superficial, estabilidade coloidal e eficiência de encapsulação, verificando a interferência da razão polímero/fármaco nesses parâmetros.
- ✓ Analisar a morfologia através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)
- ✓ Analisar os grupos funcionais e as interações entre fármaco e polímeros encapsulantes através de Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourrier (FTIR).
- ✓ Analisar a Temperatura de Transição Vítrea através de Calorimetria diferencial Exploratória (DSC)
- ✓ Analisar o perfil de cristalinidade das formulações através de Difração de Raios-X (DRX).
- ✓ Avaliar a cinética de liberação *in vitro*
- ✓ Avaliar a citotoxicidade *in vitro* através do método MTT

# *Capítulo I*



# *Referencial teórico*

# 3. REFERENCIAL TEÓRICO

## 3.1. Doenças Inflamatórias Intestinais (DII)

O intestino é considerado um importante órgão de absorção dos nutrientes necessários ao corpo humano, bem como de defesa contra a entrada de agentes patogênicos ou substâncias nocivas. Portanto, quando ocorre integridade danificada há favorecimento da entrada de microrganismo patogênico, levando a complicações na saúde e piora da qualidade de vida do paciente. Dentre os vários problemas que podem atingir o intestino, destacam-se as doenças inflamatórias intestinais (DII), representadas principalmente pela Doença de Crohn (DC) e Colite Ulcerativa (CU) (LI et al., 2020; MARANHÃO; VIEIRA; CAMPOS, 2015).

A etiologia é multifatorial, compreendendo desde a susceptibilidade genética do indivíduo até fatores ambientais como alimentação inadequada, alterações na microbiota intestinal e fatores imunológicos, onde ativação inadequada e por longo tempo do sistema imunológico da mucosa intestinal culmina na manifestação além dos sintomas intestinais e extraintestinais (ROMERO-CASTRO et al., 2016; TORRES et al., 2011).

A incidência das DII no mundo aumentou consideravelmente nos últimos anos, sendo considerada uma das doenças mais prevalentes do tubo digestivo. É maior em países desenvolvidos com taxas para DC de 6,38 casos novos/100.000 habitantes e de CU de 7,71 casos novos/100.000 habitantes (CHU et al., 2018b).

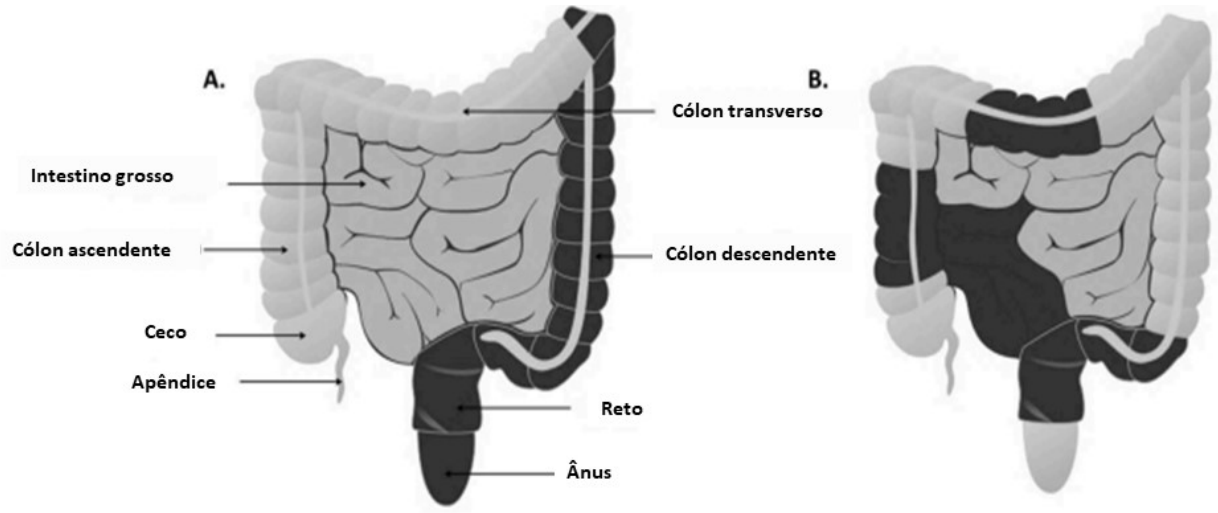
O Brasil é considerado um país de baixa incidência e prevalência de DII, embora note-se crescimento no volume de atendimentos e internações de pacientes com estas doenças, como demonstrado nos estudos de Silva (2015), com aumento progressivo do número de diagnósticos de CU a partir da década de 1990, existem poucos estudos recentes epidemiológicos nacionais, possivelmente devido à não existência até o momento de sistemas integrados de notificação de diagnóstico das DII (SILVA et al., 2015; KLEINUBING-JÚNIOR *et al*., 2011; GASPARINI, 2018).

Um estudo realizado no estado do Piauí mostrou que a incidência de DII entre 2011 e 2012 aumentou consideravelmente passando de 0,08 para 1,53 casos/100.000 habitantes (PARENTE et al., 2015). A prevalência das DII é maior em pessoas brancas, entre 20 e 40 anos, com um segundo pico a partir dos 55 anos, e com distribuição semelhante em

ambos os sexos, exceto a DC, na qual as mulheres são mais afetadas (ARANTES et al., 2017).

Embora pertençam ao mesmo grupo de doenças a CU e a DC são entidades diferentes. A CU consiste em uma inflamação contínua que atinge o cólon e o reto (Figura 1-A) e a camada mucosa superficial está diretamente envolvida na inflamação. Embora afete principalmente o cólon, a DC é caracterizada por seu envolvimento descontínuo e transmural podendo acometer todo o trato gastrointestinal (GI), desde a boca ao ânus (Figura 1-B) (PARK et al., 2020; TORRES et al., 2011).

**Figura 1:** Representação das localizações do trato gastrointestinal mais afetadas (cor escura) por Colite Ulcerativa (A) e Doença de Crohn (B).



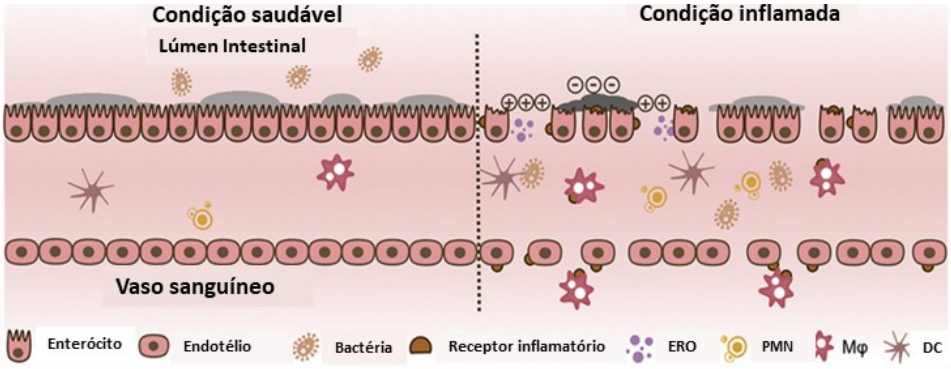

**Fonte:** YOUSHIA & LAMPRECHT (Adaptado), 2015.

Inúmeras alterações fisiopatológicas são causadas pela inflamação da mucosa no trato GI (Figura 2), como a integridade da barreira intestinal que é rompida devido à presença de alterações na superfície da mucosa, distorções de cripta e úlceras; aumento na produção de muco e infiltração de células imunes como neutrófilos, macrófagos linfócitos e células dendríticas (ANTONI *et al*., 2014) . Os pacientes que sofrem inflamação severa na mucosa podem apresentar durante a recidiva da DII alterações na motilidade GI, afetando o volume intestinal, o pH e a integridade da mucosa. Alterações no metabolismo microbiano do TGI

também é observado nas DII devido a resposta inflamatória na mucosa, juntamente com a diarreia severa (HUA et al., 2015).

As manifestações clínicas das DII são semelhantes e envolvem quadros que podem se estender por anos com diarreia de evolução prolongada e recidiva, abscessos, fístulas, dor abdominal, estenose e perda de peso. O sangramento retal pode ser observado, ocorrendo com mais frequência em pacientes com CU, por sua vez, a perda de peso e as doenças perianais ocorrem com mais frequência na DC (LI et al., 2020).

**Figura 2:** Barreira intestinal da mucosa em condição saudável e de inflamação




**Legenda:** ERO- Espécies Reativas de Oxigênio; PMN- Leucócitos Polimorfos Nuclear; Mφ- Macrófagos; DC- Células Dendriticas. **Fonte:** LI *et al*., 2020 (Adaptado)

Atualmente, não há cura definitiva para as DII, portanto as estratégias terapêuticas têm o objetivo de induzir e manter a remissão dos episódios inflamatórios (HUA et al., 2015). As terapias convencionais para o tratamento das DII incluem derivados do ácido 5-aminossalicílico (5-ASA), corticosteróides, agentes imunossupressores e terapia biológica com agentes anti-TNF. Uma estratégia típica de tratamento consiste em uma abordagem iniciando com aminossalicilatos e progredindo para corticosteroides, seguido por agentes imunossupressores (LI et al., 2020; ZHANG; LANGER; TRAVERSO, 2017).

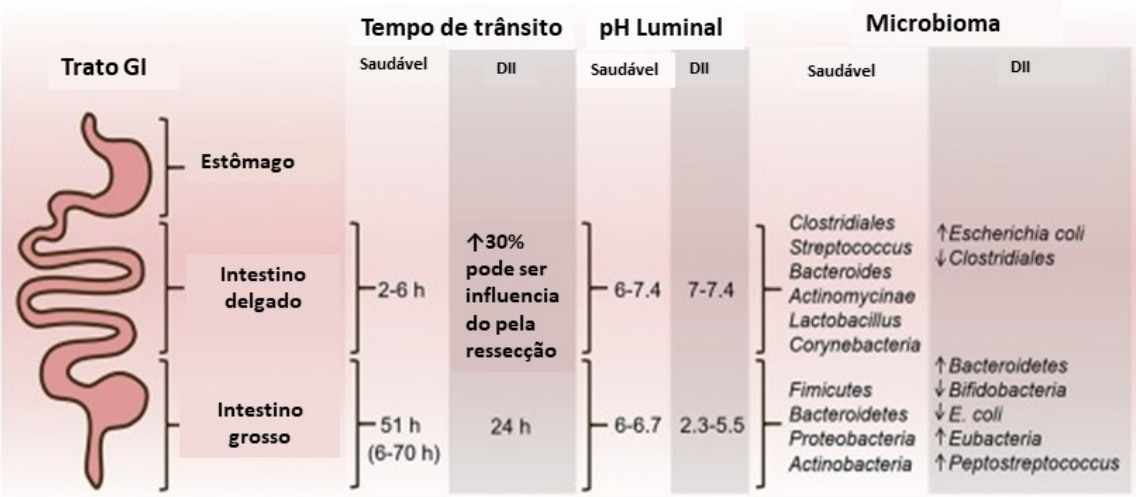
### 3.2. Liberação de fármacos direcionadas para DII

A principal dificuldade em direcionar sistemas de liberação de fármacos para as DII está nas condições fisiológicas alteradas. A inflamação na mucosa altera inúmeros fatores,

como o pH, a motilidade gastrointestinal, tempo de trânsito intestinal, enzimas digestivas e microbiota (Figura 3), apresentando assim desafios significativos para a estabilidade dos sistemas de liberação de fármaco, especialmente quando administrados por via oral (MCCONNELL; FADDA; BASIT, 2008; ZHANG; LANGER; TRAVERSO, 2017).

As formulações orais são preferíveis devido a comodidade e melhor adesão ao tratamento pelo paciente. No entanto essa via de tratamento encontra desafios relacionados à condição fisiopatológica da doença, uma vez que a inflamação encontra-se confinada no cólon na CU e de forma descontínua da DC, podendo atingir diversas porções do TGI (HUA et al., 2015; LI et al., 2020). As formulações orais de modo geral são projetadas para alcançar distribuição sistêmica, resultando em efeitos adversos e toxicidade após a biodistribuição do fármaco pelo organismo (ALI ASGHAR; CHANDRAN, 2006; VISCIDO et al., 2014).

**Figura 3:** Alterações fisiológicas no TGI de pacientes com DII




***Fonte:*** LI *et al*. (Adaptado), 2020.

A distribuição de fármacos para DC e CU deve objetivar efeito localizado, garantindo que o medicamento seja entregue ao local inflamado do TGI, sem ser absorvido ou mal absorvido. As abordagens de liberação convencionais de fármaco para DII visam como alvo um segmento do TGI, principalmente o cólon. Apenas uma fração do fármaco pode atingir os locais inflamados provocando uma baixa absorção cólon, enquanto o resto pode ser absorvido pela circulação sistêmica através das áreas saudáveis do TGI superior, induzindo efeitos colaterais. Dessa forma, diferentes estratégias foram propostas para direcionar os fármacos por via oral, incluindo pró-fármacos, polímeros sensíveis ao pH,

sistemas dependentes de tempo e sistemas ativados pela microflora (TALAEI et al., 2013; ZHANG et al., 2016).

O pH varia ao longo do trato TGI, em condições normais os valores de pH no estômago são extremamente baixo (1,0 a 2,5), esse valor aumenta rapidamente para pH 6 no duodeno e para pH 7,4 no íleo terminal (BRATTEN; JONES, 2006; FALLINGBORG et al., 1993), e então sofre uma ligeira diminuição para 6,4 passa pela válvula ileocecal e sobe lentamente ao longo do cólon até o reto para pH 7,0 (ZHANG; LANGER; TRAVERSO, 2017). As DII alteram significativamente os valores de pH no decorrer do trato GI, onde são encontrados valores de pH variando de 2,7 a 5,5 em pacientes com CU, e em média 5,3 naqueles com DC na região entre o cólon e o reto (FALLINGBORG et al., 1993; MCCONNELL; FADDA; BASIT, 2008).

Sistema de liberação de fármacos direcionadas podem ser motivadas pela sensibilidade ao pH, usando estratégias como os revestimentos poliméricos. O Eudragit S (copolímero de ácido metacrílico-metacrilato de metila), é utilizado em formulações farmacêuticas disponíveis no mercado e o revestimento de copolímero de ácido metacrílico -etil acrilato em Mongersen, são polímeros que respondem à mudança de pH e solubilizam em pH maior que 7. Entretanto, tais sistemas de direcionamento do cólon, quando dependem apenas da liberação de fármaco responsiva ao pH tem limitações devido as variabilidades interindividuais do pH colônico, podendo ter eficácia insatisfatória (LAUTENSCHLÄGER et al., 2014; VISCIDO et al., 2021; ZHANG; LANGER; TRAVERSO, 2017).

O tempo de trânsito GI é modificado em pacientes com DII em comparação com indivíduos saudáveis (NGUYEN et al., 2015; SCHIPPA; CONTE, 2014). O direcionamento de fármacos dependentes do tempo pode superar as limitações dos sistemas de liberação sensíveis ao pH, entretanto a variabilidade do trânsito GI interindividual é influenciada por vários fatores, incluindo o fluido intestinal e a motilidade, a composição do microbioma e o comprimento do intestino (MCCONNELL; FADDA; BASIT, 2008). Como a diarreia é um sintoma evidente na DII, o tempo de trânsito do cólon diminui, provavelmente devido ao aumento do conteúdo de líquido luminal (ZHANG; LANGER; TRAVERSO, 2017). Mudanças na motilidade GI (HEBDEN et al., 2000) também diminuem a eficiência de direcionamento de sistemas de liberação de fármacos osmóticos e controlados por pressão (OHAMA; HORI; OZAKI, 2007).

A composição microbiana e a diversidade é reduzida em pacientes com DC e CU com aumentos nas principais espécies, como *Bacteroides , Eubacteria* e *Peptostreptococcus* (HUA et al., 2015). A disbiose afeta a produção de uma variedade de enzimas metabólicas, como azoredutase (RAFII; FRANKLIN; CERNIGLIA, 1990), galactosidase (ALTO, 1962), xilosidase, nitroredutase, glicosidase (ENGLYST; HAY; MACFARLANE, 1987), e outros. A degradação enzimática é uma estratégia utilizada para a síntese de pró-fármacos, que são compostos inativos que requerem biotransformação *in vivo* para liberar a forma farmacologicamente ativa no local de ação (LAUTENSCHLÄGER et al., 2014).

### 3.3. Mesalazina

A Mesalazina (MSZ) também conhecida como ácido 5-aminossalicilato (5-ASA) (Tabela 1) é um antiinflamatório pertencente ao grupo dos aminossalicilatos. É um fármaco amplamente utilizado nas DII, para induzir a remissão e manutenção na CU de intensidade leve a moderada, sendo o seu uso na DC ainda controverso (IGLESIAS *et al*., 2019; SHAHDADI SARDO *et al*., 2019). Está em uso há mais de 70 anos, porém com limitações quanto a sua ação tópica e um protocolo terapêutico complexo (VISCIDO et al., 2014). Somando-se a isso, o custo elevado, a baixa absortividade no cólon inflamado e maior absorção sistêmica, favorece o surgimento de efeitos adversos e baixa eficácia no órgão-alvo motivando a baixa adesão ao tratamento das DII (LAU et al., 2013; WANG et al., [s.d.]).

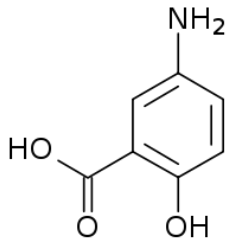
A MSZ apresenta-se como pó ou cristal, de coloração branca, cinza claro ou rosa claro, com ponto de fusão em cerca de 280°C. Escurece quando exposta à luz, é solúvel em soluções diluídas de ácido clorídrico e em soluções diluídas de hidróxidos alcalinos, é levemente solúvel em água e mais solúvel em água quente (IACUCCI *et al*., 2010; SHAHDADI SARDO *et al*., 2019; VISCIDO *et al*., 2014).

Após a administração, o fármaco é rapidamente absorvido no TGI superior e acetilado a N-acetil-5-ASA, que é desativada no epitélio colônico e o fígado. A meia-vida de eliminação é de 3 horas e do seu metabólito N-acetil-5-ASA é de 5 a 10 horas. A porção não absorvida é excretada pelas fezes; a parte absorvida é eliminada pela urina; 10 a 30% da dose administrada são excretados pela urina dentro de 24 horas como N-acetil-5-ASA (SANDBOR; ER, 2003).

O mecanismo de ação do 5-ASA ainda não está totalmente elucidado. Acredita-se que vários fatores, incluindo a supressão da via do fator nuclear kappa B proteção da função de barreira epitelial das células T84 contra peroxinitrito eliminação de radicais livres, inibição de leucotrieno, prostaglandina e síntese de citocinas pró-inflamatórias (ABDU ALLAH; A EL SHORBAGI, 2016) são responsáveis pelas propriedades imunossupressoras, antiinflamatórias e antioxidantes do 5-ASA (SHAHDADI SARDO et al., 2019).

A primeira forma farmacêutica disponível comercialmente para administração oral do 5-ASA foi a sulfassalazina, uma pró-fármaco composta de ácido 5-aminossalicílico (5-ASA) ligado a sulfapiridina por um anel azo. A parte ativa (5-ASA) da pró-fármaco é liberada no local de ação após metabolização no cólon junto com sulfapiridina (QURESHI; COHEN, 2005). No entanto, a sulfassalazina, causa uma infinidade de efeitos colaterais que, por sua vez, eram atribuídas à parte sulfapiridina da pró-fármaco. Por esta razão, a administração de pró-fármacos de 5-ASA são consideradas desvantajosas. Outros pró-fármacos como a balsalazida e olsalazina que não contém sulfa e com menos efeitos colaterais possíveis foram introduzidos no mercado (DESREUMAUX; GHOSH, 2006).

**Tabela 1:** Parâmetros físico-químicos da Mesalazina

| Nome comum | Mesalazina |
|---|---|
| Estrutura química |  |
| Fórmula molecular | $C_7H_7NO_3$ |
| Nomenclatura (IUPAC) | 5-amino-2-hydroxybenzoic acid |
| Peso molecular | 153,13 g/mol |
| PKa | 2,3 e 5,69 |
| Ponto de fusão | 280ºC |
| Solubilidade | Ligeiramente solúvel em água, álcool; mais solúvel em água quente; Ácido clorídrico: 18 mg/mL |

Atualmente, a MSZ encontra-se disponível no mercado em diferentes formas farmacêuticas e concentrações. No que refere à forma farmacêutico de comprimidos o medicamento de referência encontra-se nas dosagens de 400 mg, 500 mg e 800 mg. Na forma de supositório retal, nas dosagens de 250 mg, 500 mg e 1000 mg. Por fim, a MSZ também está disponível na forma de enema, nas dosagens de 10 mg/mL e 3 g (LAUTENSCHLÄGER *et al*., 2014; SHAHDADI SARDO *et al*., 2019). A tabela 2 resume os medicamentos de referência disponível no mercado farmacêutico brasileiro.

Apesar de ser amplamente utilizado no tratamento das DII, o protocolo terapêutico do 5-ASA necessita em muitos casos de doses elevadas para atingir o efeito terapêutico desejado. Estes sistemas de dosagens convencionais favorecem as manifestações de efeitos colaterais graves, devido a absorção prematura da MSZ na porção superior do intestino (LOFTUS; KANE; BJORKMAN, 2004), além disso resulta em uma baixa concentração local do fármaco na região do cólon e, consequentemente, baixa eficácia no tratamento da DII (SHAHDADI SARDO *et al*., 2019).

**Tabela 2:** Medicamentos de referência disponíveis no mercado farmacêutico brasileiro

| Nome | Laboratório | Concentração | Forma Farmacêutica |
|---|---|---|---|
| Asalit® | Merck S.A | 400mg | Comprimido revestido |
| Asalit® | Merck S.A | 250mg | Supositório retal |
| Asalit® | Merck S.A | 3g | Enema retal |
| Mesacol® | Altana pharma | 800mg | Comprimido revestido |
| Mesacol® | Nycomed | 500mg | Supositório |
| Pentasa® | Ferring | 500mg | Comprimido de liberação prolongada |
| Pentasa® | Ferring | 1000mg | Supositório retal |
| Pentasa® | Ferring | 10mg/mL | Enema retal |

**Fonte:** ANVISA, 2015.

O direcionamento da MSZ para a liberação específica cólon motivou o desenvolvimento de estratégicas para aliviar os problemas relacionados a efeitos colaterais graves, bem como a baixa concentração do fármaco na região do cólon. Dessa forma, sistemas de liberação colônica foram projetadas por meio de revestimento polimérico para

otimizar a forma de dosagem oral. O Asacol® foi a primeira forma de dosagem oral revestida, seu revestimento foi baseado no uso de um polímero sensível ao pH, o Eudragit S, depois disso, o Claversal® e o Salofalk® também foram desenvolvidos utilizando o Eudragit L, outro polímero responsivo ao pH. Entretanto, as variabilidades interindividuais no ambiente GI em termos de pH, secreções e tempo de trânsito podem afetar positiva ou negativamente a liberação do fármaco das formas farmacêuticas formuladas (HENS *et al*., 2017; SHAHDADI SARDO *et al*., 2019).

O sistema de administração ideal para o 5-ASA no cólon consiste em minimizar a absorção sistêmica através da parte superior do intestino e maximizar a liberação do fármaco no cólon. Dessa forma, uma alternativa para minimizar os problemas relacionados ao sistema de administração convencional é a associação do fármaco à sistemas carreadores com base em nanotecnologia, que podem apresentar vantagens nos aspectos que limitam a otimização do tratamento das DII pelo método convencional (LAUTENSCHLÄGER et al., 2014; VISCIDO et al., 2014).

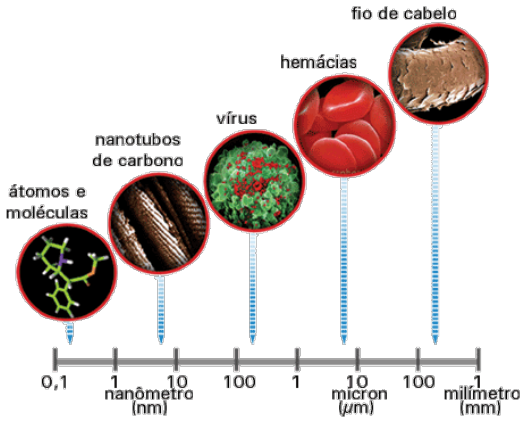
### 3.4. Nanopartículas poliméricas

A nanomedicina é uma área emergente e refere-se à aplicação da nanotecnologia à medicina, tendo o foco principal na administração de medicamentos. Permite não só o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos, mas a melhoria da eficácia dos medicamentos já existentes no mercado, aprimorando desde aspectos físico-químicos relacionados à molécula até aspectos farmacocinéticos, como a biodisponibilidade (BRAKMANE; WINSLET; SEIFALIAN, 2012; DE JONG; BORM, 2008; LAROUI et al., 2011a; PICHAI; FERGUSON, 2012b). Além disso, sistemas nanoparticulados facilita a liberação direcionada e controlada do medicamento para o local de interesse, trazendo diversas vantagens em relação a administração convencional (ZHANG; LANGER; TRAVERSO, 2017).

De acordo com a Sociedade Americana para Teste e Materiais (2012), devem ser consideradas nanopartículas estruturas que apresentam ao menos duas dimensões na faixa entre 1 nm e 100 nm (Figura 4). No entanto, para aplicações biomédicas, a União Europeia classifica como nanopartículas os sistemas que apresentam ao menos uma dimensão com

tamanho menor que 1000 nm e que sejam biologicamente ativos, tendo a capacidade de veicular um fármaco (EUROPEAN COMMISSION, 2012; WANG; VON RECUM, 2011).

**Figura 4:** Dimensões representativas de algumas espécies típicas em suas escalas




**Fonte:** TOMKELSKI, 2017.

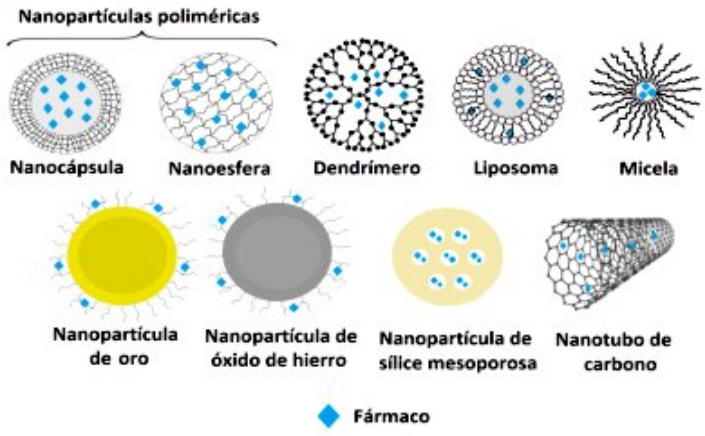
Nos últimos anos, os sistemas de administração oral de fármacos direcionadas ganharam importância crescente devido a entrega de forma passiva do fármaco no tecido alvo, causando mínimos efeitos indesejáveis como toxicidade e efeitos colaterais (KRISHNAIAH; KHAN, 2012; BANSAL *et al*., 2014). Partículas em escala micro e nano tornaram-se ferramentas promissoras para a entrega direcionada de medicamentos para sítios anatômicos específicos (DESAI et al., 1996; LAMPRECHT; SCHÄFER; LEHR, 2001; YOKOYAMA, 2005). Dessa forma, sistemas nanoparticulados podem superar alguns dos problemas da terapia convencional e aumentar a eficácia terapêutica de um determinado medicamento (ZHANG et al., 2016).

As nanoestruturas que medeiam a liberação direcionada de fármacos têm propriedades como estabilidade, tamanho, forma, carga de superfície, química de superfície, resistência mecânica e porosidade que podem ser adaptadas para funcionalidades específicas que são necessárias para atender às necessidades da aplicação biomédica alvo (IDREES et al., 2020).

Vários tipos de partículas em escala nanométrica têm sido utilizados para carreamento de fármacos, como por exemplo, as nanopartículas inorgânicas (nanopartículas de ouro, nanopartículas magnéticas), nanopartículas poliméricas, nanopartículas lipídicas sólidas, lipossomas, nanotubos de carbono, assim como os conjugados envolvendo essas

nanopartículas (BEZERRA; SILVA, 2016). A Figura 5 apresenta alguns tipos de nanopartículas utilizadas como sistema de liberação.

**Figura 5:** Representação dos tipos de nanopartículas utilizadas como sistemas de liberação




**Fonte:** GÓMEZ, 2017.

As nanopartículas poliméricas são estruturas usualmente sólidas e esféricas que podem ser preparadas a partir de polímeros naturais ou sintéticos. O termo nanopartícula inclui classificações em duas categorias, as nanocápsulas e as nanoesferas, que diferem entre si quanto a sua composição e organização estrutural. As nanocápsulas são sistemas vesiculares em que a molécula pode estar inserida no interior de uma cavidade aquosa ou oleosa, circundada por uma membrana lipídica ou polimérica. As nanoesferas são sistemas matriciais em que a molécula encontra-se dispersa fisicamente e uniformemente na matriz polimérica ou lipídica (BRIGGER; DUBERNET; COUVREUR, 2012; SCHAFFAZICK et al., 2003; USKOKOVIĆ, 2007; ZHANG; WEBSTER, 2009).

As vantagens da administração de fármacos por sistemas de entrega direcionada ao tecido alvo são diversas, dentre eles, proporcionar alta concentração local do fármaco no tecido ou órgão alvo para atividades farmacológicas prolongadas e eficácia maximizada do fármaco com menores doses. Além disso, previne ou reduz a degradação do fármaco e a perda de eficácia antes de atingir o local de ação. Ao orientar os fármacos para o local de ação tais sistemas reduz a distribuição não específica de medicamentos por todo o corpo e por consequência, diminui a frequência de dosagem, os efeitos colaterais, otimizando o esquema terapêutico proposto ao paciente (LU et al., 2016).

As DII afetam predominantemente o cólon, portanto, os sistemas de administração de fármacos direcionados ao cólon têm recebido atenção significativa. Partículas em escala nano tem maior absorção no local inflamado do cólon (COLLNOT; ALI; LEHR, 2012; SCHMIDT et al., 2013; VISCIDO et al., 2014) em comparação com as partículas do tamanho micro, porque além da maior reatividade e área superficial característicos da escala nano, o tamanho médio dos poros da camada do muco é 300 nm (BAJKA; RIGBY, 2015; IWAO et al., 2018). Além disso, o cólon tem um longo tempo de retenção, o que pode aumentar a absorção de fármacos que usualmente são mal absorvidas. Portanto, este sistema pode superar alguns dos problemas da terapia convencional e aumentar a eficácia terapêutica dos fármacos (MAESTRELLI et al., 2008; ZHANG et al., 2016). Esaas partículas nanométricas podem ser obtidas a partir de polímeros naturais (GARG et al., 2018).

### 3.5. Polímeros Naturais

Polímeros naturais, também chamados de biopolímeros, são materiais formados durante os ciclos de vida de plantas verdes, animais, bactérias e fungos. Eles são classificados principalmente em três grupos: polissacarídeos, polipeptídeos e polinucleotídeos. Geralmente, polipeptídeos e polissacarídeos são usados como carreadores de fármacos para otimizar o tratamento de muitas doenças.(KHAN et al., 2019)

As propriedades físico-química e biológica dos polímeros naturais tem despertado interesse para a indústria farmacêutica e o uso deste material é promissor para diversas áreas. As aplicações dos polímeros naturais são variadas, sendo utilizada para ajudar a mascarar o sabor, como aglutinante, revestimento de filme, além de ser amplamente utilizado como material de revestimento para síntese de partículas em escala micro e nano (GACHARD; COUTIN; SEKIGUCHI, 1997; GARG *et al*., 2018).

Devido as propriedades de biodegradabilidade e biocompatibilidade que, em sua maioria, os polímeros naturais dispõem, essas estruturas tem sido selecionada por diversos pesquisadores a preparação de biomateriais (LIU et al., 2008). Nesse sentido, tais materiais poliméricos têm recebido mais atenção do que outras classes de materiais no desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos (KIM et al., 2009).

No contexto de liberação de fármaco no cólon os biopolímeros desempenham um papel crucial nos sistemas de liberação de fármacos direcionados. Tais sistemas devem ser capazes de proteger o fármaco, devendo superar o ambiente fisiológico do estômago e do intestino delgado, para que o fármaco seja apenas liberado nos locais inflamados. Dessa maneira, os biopolímeros permanecem estáveis dentro do ambiente fisiológico do estômago e intestino delgado, além de serem degradados pela flora bacteriana do cólon, então a liberação do fármaco é garantida para administração exclusivamente no cólon, tornando-se materiais favoráveis para entregas direcionadas para as DII (GARG et al., 2018; ZHANG et al., 2016).

A utilização destes materiais para sistemas nanoparticulados pode acontecer isoladamente ou em combinações para alcançar propriedades específicas e desejáveis para liberação de fármacos no cólon. Além disso, o uso de polímeros biocompatíveis reduz os efeitos colaterais de um determinado fármaco e boa permeabilidade (GARG et al., 2018; IDREES et al., 2020). Dentre esses polímeros biocompatíveis tem-se os polissacarídeos e as proteínas.

### 3.6. Goma do Cajueiro Acetilada

Os polissacarídeos são polímeros naturais compostos por unidades de monossacarídeo em repetição unidas por ligações glicosídicas (LIU et al., 2008; PAHARIA et al., 2007; ZHANG et al., 2016). A goma de cajueiro (GC) é um polissacarídeo extraído do exsudato da *Anacardium occidentale*, popularmente conhecida como cajueiro amplamente distribuída no nordeste brasileiro. A utilização da resina do cajueiro para a indústria farmacêutica é promissora, devido a sua obtenção ser simples, por advir de uma produção sustentável, além da facilidade de modificação da estrutura química para alterar propriedades físico-químicas (MELO et al., 2012).

A goma de cajueiro purificada contém galactose (72–73%), glicose (11–14%), arabinose (4,6 a 5%), ramnose (3,2–4%) e ácido glucurônico (4,7–6,3%) em sua estrutura (DIAS et al., 2016). Diferentes propriedades da GC são relatadas para aplicações biomédicas, como ação antiinflamatório na cicatrização (SCHIRATO et al., 2006), atividade antibacteriana (CAMPOS et al., 2012; TORQUATO et al., 2004), efeito antitumoral *in vivo* (FLORÊNCIO, 2007), além de ser um excelente material formador de filme, com potencial aplicação em

dispositivos nanobiomédicos (ARAÚJO et al., 2012). Portanto, trata-se de um biopolímero com vasta possibilidade de aplicação farmacológica.

A aplicabilidade da goma de cajueiro como excipiente farmacêutico é de grande interesse da indústria, podendo ser utilizado para projetar comprimidos e promover a liberação controlada de fármacos. A alta solubilidade em meio aquoso, a torna um material favorável para esta finalidade (OFORI-KWAKYE et al., 2016). Além disso, foi relatado que a goma de cajueiro pode atuar como um agente gelificante (KUMAR et al., 2009) e aglutinante (GOWTHAMARAJAN et al., 2011).

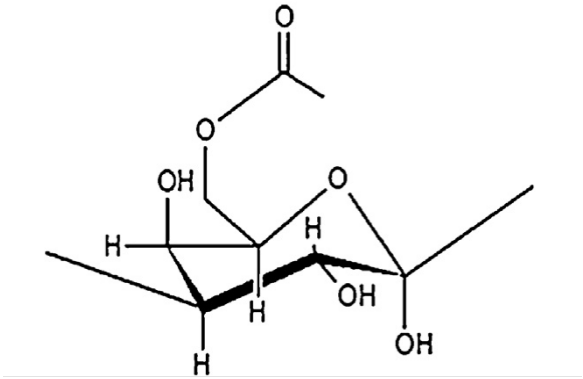
A queda da viscosidade durante o armazenamento e a possibilidade de contaminação microbiana são algumas das dificuldades associadas ao uso de gomas, somando-se a isso, a alta solubilidade da GC dificulta o uso deste material para a obtenção de sistemas de liberação nanoestruturado. Uma estratégia utilizada para contornar essas desvantagens é a modificação da estrutura química da goma do cajueiro, além disso, a modificação estrutural proporciona uma administração mais específica de sistemas de liberação nanoestruturado (RANA et al., 2011) e pode melhorar a eficiência da incorporação do fármaco na matriz (ZHANG; WEBSTER, 2009).

A acetilação é um dos métodos utilizados para promover alterações estruturais da goma do cajueiro, e é considerada uma reação de fácil processamento, baixo custo e baixa toxicidade. Atua aumentando a hidrofobicidade da cadeia, desta forma, melhorando propriedades de superfície do biopolímero o que favorece a interação com princípios ativos hidrofóbicos, sendo vantajoso sua utilização no desenvolvimento de sistemas de carreamento eficazes de fármacos (DIAS et al., 2016; PITOMBEIRA et al., 2015).

Tem sido estudada tanto na área biológica com efeitos antimicrobianos (CAMPOS *et al*., 2012), protetor mucoesofágico (NICOLAU et al., 2019), gastroprotetor (CARVALHO *et al*., 2015), antidiarréico (ARAÚJO *et al*., 2015), cicatrizante (SCHIRATO, MONTEIRO *et al*., 2006), como na área farmacêutica (modificada), onde diversos estudos mostram o seu potencial como carreador de fármacos, tais como: insulina (VASCONCELOS SILVA et al., 2019), indometacina (CARDIAL *et al*., 2019; PITOMBEIRA *et al*., 2015), anfotericina B (LIMA et al., 2018), diclofenaco dietilamônio (DIAS et al., 2016), epiisopiloturina (RODRIGUES *et al*., 2019), licopeno (DE ANDRADES et al., 2021).

Dessa maneira, a goma de cajueiro acetilada (GCA) (Figura 6) é favorável para aplicação na estruturação de sistemas de entregas direcionadas para o cólon nas DII. Por sua vez, o cólon inflamado produz grande quantidade de proteínas de carga superficial positiva, (transferrina, proteína catiônica eosinofílica), e a acetilação de GC confere a estrutura carga de superfície negativa, favorecendo a afinidade do fármaco pelo cólon inflamado, garantindo a sítio especificidade (LI et al., 2020).

**Figura 6:** Estrutura química da Goma de Cajueiro Acetilada



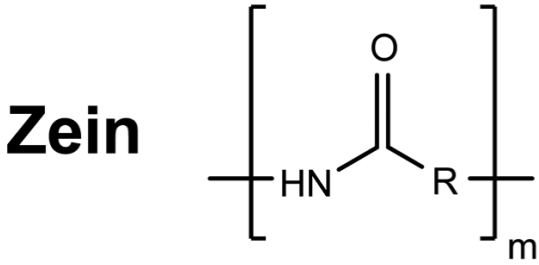

**Fonte:** Dias *et al*., 2016.

Isso traz uma perspectiva adicional às nanopartículas, visto que a inflamação encontra-se confinada a locais específicos da mucosa intestinal (FREIRE et al., 2006a) e muitos fármacos com potencial para tratamento de DII acabam falhando por não possuírem ação sítio específica no cólon (LI et al., 2020; VISCIDO et al., 2014).

### 3.7. Zeína

Zeína é a principal proteína de armazenamento de sementes de milho (*Zea mays L*.) classificada como prolamina (Figura 7), é rica em aminoácidos não polares (por exemplo, leucina, alanina e prolina) e também contém alguns resíduos de aminoácidos polares (por exemplo, glutamina), resultando em sua alta solubilidade em solução aquosa de etanol 60-90%, mas baixa solubilidade somente em água (ALI et al., 2014; FENG et al., 2020; LIU et al., 2020).

**Figura 7:** Estrutura química da zeína




**Fonte:** ALI *et al*., 2014.

Por ser uma das proteínas naturais mais interessantes do milho, a zeína é amplamente investigada como excipiente farmacêutico, bem como um biomaterial para sistemas nanoparticulados (HAWKINS; SOON-SHIONG; DESAI, 2008; O'DONNELL et al., 1997; WANG et al., 2005). Devido sua obtenção ser por meio natural, apresenta vantagens como biodegradabilidade, biocompatibilidade e baixa toxicidade e pode ser usado com segurança em comparação com outros materiais industriais sintéticos e/ou semi-sintéticos (GEORGET; BARKER; BELTON, 2008). Além disso, foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) como um dos excipientes de biomateriais mais seguros (LAI; GUO, 2011; ZU, 2011).

Propriedades mucoadesivas da zeína é uma das grandes vantagens da molécula (PEÑALVA et al., 2015), atraindo atenção especial para produção de sistemas de liberação direcionadas que podem levar a uma liberação lenta e sustentada do fármaco próximo à membrana celular e um longo tempo de retenção no trato gastrointestinal superior para alta absorção do fármaco (KIM et al., 2005).

Devido ao seu caráter anfifílico único, a zeína pode facilmente se automontar para formar nanopartículas para a liberação de bioativos hidrofóbicos. As NP de Zeína podem melhorar significativamente a solubilidade e estabilidade do fármaco, e estender o seu tempo de ação, promovendo a entrega direcionada do fármaco, melhorarando a eficácia e reduzindo a toxicidade e reações adversas (TRAN; TRAN; VO, 2014; TRAN et al., 2019; LIU et al., 2020).

Suas nanopartículas já foram estudadas para carrear diversas moléculas/fármacos: quercetina (MORENO et al., 2017; PENALVA et al., 2017), paclitaxel (LI et al., 2016), beta-caroteno (JAIN et al., 2018), eugenol (VENERANDA et al., 2018), terpinen-4-ol (MARINI et al., 2014), α-tocoferol (LUO et al., 2011), 5-Fluorouracil (LAI; GUO, 2011), vitamina D3 (LUO; TENG; WANG, 2012), curcumina (CHANG et al., 2017; FENG et al., 2020), luteína (CHENG; FERRUZZI; JONES, 2019), óleo de menta (CHEN; ZHONG, 2015), timol

(ZHANG et al., 2014), daidzina (ZOU; GU, 2013), pterostilbeno (LIU et al., 2020) dentre outros.

Nesse sentido, entende-se as Nanopartículas de Goma do Cajueiro Acetilada e de Zeína como adjuvantes inovadores com intuito de carrear a Mesalazina até o cólon, o que o que amplia as possibilidades de otimização do tratamento das Doenças Inflamatórias Intestinais.

## 4. REFERÊNCIAS


ABDU ALLAH, H. H.; A EL SHORBAGI, A. N. 5-Aminosalyclic Acid (5-ASA): A Unique Anti-Inflammatory Salicylate. **Medicinal chemistry**, v. 06, n. 05, p. 306–315, 2016.

ALI ASGHAR, L. F.; CHANDRAN, S. Multiparticulate formulation approach to colon specific drug delivery: Current perspectives. **Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 9, n. 3, p. 327–338, 2006.

ALI, S. et al. Zein/cellulose acetate hybrid nanofibers: Electrospinning and characterization. **Macromolecular Research**, v. 22, n. 9, p. 971–977, 2014.

ALTO, P. (Received January 3rd, 1962). v. 62, 1962.

ANTONI, L. et al. Intestinal barrier in inflammatory bowel disease. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 5, p. 1165–1179, 2014.

ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, 2012.

ARANTES, J. A. V. et al. Epidemiological profile and clinical characteristics of patients with intestinal inflammatory disease. **Journal of Coloproctology**, v. 37, n. 4, p. 273–278, 2017.

ARAÚJO, I. M. S. et al. Contribution of the cashew gum (Anacardium occidentale L.) for development of layer-by-layer films with potential application in nanobiomedical devices. **Materials Science and Engineering C**, v. 32, n. 6, p. 1588–1593, 2012.

ARAÚJO, T. S. L. . et al. Antidiarrheal activity of cashew GUM, a complex heteropolysaccharide extracted from exudate of Anacardium occidentale L. in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 174, p. 299–307, 2015.

BAJKA, B. .; RIGBY, K. . Macierzanka, A.R. Mackie, The influence of small intestinal mucus structure on particle transport ex vivo. **Colloids Surf. B. Biointerfaces**, v. 135, p. 73–80, 2015.

BANSAL, V. et al. Novel prospective in colon specific drug delivery system. **Polimery w medycynie**, v. 44, n. 2, p. 109–118, 2014.

BIZERRA, A.; SILVA, V. SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA: Mecanismos e aplicações. **Revista Saúde e Meio Ambiente**, v. 3, n. 2, p. 1–12, 2016.

BRAKMANE, G.; WINSLET, M.; SEIFALIAN, A. M. Systematic review: The applications of nanotechnology in gastroenterology. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 36, n. 3, p. 213–221, 2012.

BRATTEN, J.; JONES, M. P. New directions in the assessment of gastric function: Clinical applications of physiologic measurements. **Digestive Diseases**, v. 24, n. 3–4, p. 252–259, 2006.

BRIGGER, I.; DUBERNET, C.; COUVREUR, P. Nanoparticles in cancer therapy and

diagnosis. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, n. SUPPL., p. 24–36, 2012.

CAMPOS, D. A. et al. Study of antimicrobial activity and atomic force microscopy imaging of the action mechanism of cashew tree gum. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, p. 270– 274, 2012.

CARVALHO, N. S. . et al. Gastroprotective properties of cashew gum, a complex heteropolysaccharide of Anacardium occidentale, in naproxen-induced gastrointestinal damage in rats. **Drug Development Research**, v. 76, p. 143–151, 2015.

CHANG, C. et al. Caseinate-zein-polysaccharide complex nanoparticles as potential oral delivery vehicles for curcumin: Effect of polysaccharide type and chemical cross-linking. **Food Hydrocolloids**, v. 72, p. 254–262, 2017.

CHEN, H.; ZHONG, Q. A novel method of preparing stable zein nanoparticle dispersions for encapsulation of peppermint oil. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 593e602-602, 2015.

CHENG, C. J.; FERRUZZI, M.; JONES, O. G. Fate of lutein-containing zein nanoparticles following simulated gastric and intestinal digestion. **Food Hydrocolloids**, v. 87, n. January 2018, p. 229–236, 2019.

CHU, X. et al. The cost of inflammatory bowel disease: an initiative from the Crohn's & Colitis Foundation. **Path- Res and Practice**, v. 214, p. 151–162, 2018.

COLLNOT, E. M.; ALI, H.; LEHR, C. M. Nano- and microparticulate drug carriers for targeting of the inflamed intestinal mucosa. **Journal of Controlled Release**, v. 161, n. 2, p. 235–246, 2012.

DA SILVA, B. C. et al. The Demographic and Clinical Characteristics of Ulcerative Colitis in a Northeast Brazilian Population. **BioMed Research International**, v. 2015, 2015.

DE ANDRADES, E. O. et al. Acetylated cashew gum and fucan for incorporation of lycopene rich extract from red guava (Psidium guajava L.) in nanostructured systems: Antioxidant and antitumor capacity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 191, n. September, p. 1026–1037, 2021.

DE JONG, W. H.; BORM, P. J. A. Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards. **International Journal of Nanomedicine**, v. 3, n. 2, p. 133–149, 2008.

DE PAULA, R. C. M.; HEATLEY, F.; BUDD, P. M. Characterization of Anacardium occidentale exudate polysaccharide. **Polymer International**, v. 45, n. 1, p. 27–35, 1998.

DE PAULA, R. C. M.; RODRIGUES, J. F. Composition and rheological properties of cashew tree gum, the exudate polysaccharide from Anacardium occidentale L. **Carbohydrate Polymers**, v. 26, n. 3, p. 177–181, 1995.

DESAI, M. P. et al. **Gastrointestinal uptake of biodegradable microparticles: Effect of particle sizePharmaceutical Research**, 1996.

DESREUMAUX, P.; GHOSH, S. Review article : mode of action and delivery of 5-aminosalicylic acid – new evidence. v. 24, n. June, p. 2–9, 2006.

DIAS, S. F. L. et al. Acetylated cashew gum-based nanoparticles for transdermal delivery of diclofenac diethyl amine. **Carbohydrate Polymers**, v. 143, p. 254–261, 2016.

DO AMARAL RODRIGUES, J. et al. Acetylated cashew gum-based nanoparticles for the incorporation of alkaloid epiisopiloturine. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 128, p. 965–972, 2019.

ENGLYST, H. N.; HAY, S.; MACFARLANE, G. T. Polysaccharide breakdown by mixed populations of human faecal bacteria. **FEMS Microbiology Letters**, v. 45, n. 3, p. 163–171, 1987.

FALLINGBORG, J. et al. Very low intraluminal colonic pH in patients with active ulcerative colitis. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 38, n. 11, p. 1989–1993, 1993.

FENG, S. et al. Effect of adjusting pH and chondroitin sulfate on the formation of curcumin-zein nanoparticles: Synthesis, characterization and morphology. **Carbohydrate Polymers**, v. 250, n. June, p. 116970, 2020.

FLORÊNCIO, A. P. DE S. ESTUDO DA ATIVIDADE ANTI-TUMORAL DO POLISSACARÍDEO (PJU) EXTRAÍDO DE Anacardium occidentale FRENTE A UM MODELO EXPERIMENTAL DO SARCOMA 180. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 4, n. 1, p. 61–65, 2007.

FREIRE, A. C. et al. Liberação específica de fármacos no cólon por via oral. II - Tipos de sistemas utilizados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 3, p. 337–355, 2006.

GACHARD, I.; COUTIN, B.; SEKIGUCHI, H. Synthesis and characterization of random and regular l-lysine-based polyamides. **Macromolecular Chemistry and Physics**, v. 198, n. 5, p. 1375–1389, 1997.

GARG, L. K. et al. Review on natural polymers : A carrier for colon-targeted drug delivery approach. v. 12, n. 5, 2018.

GASPARINI, R. G. Incidence and Prevalence of Inflammatory Bowel Diseases in the State of São Paulo - Brazil. 2018.

GEORGET, D. M. R.; BARKER, S. A.; BELTON, P. S. A study on maize proteins as a potential new tablet excipient. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, n. 2, p. 718–726, 2008.

GÓMEZ, N. L. TRABAJO FIN DE GRADO TÍTULO : NANOPARTÍCULAS ESTÍMULO-RESPUESTA PARA LA LIBERACIÓN DE Autor : Nuria Lafuente Gómez. 2017.

GOWTHAMARAJAN, K. et al. Preliminary study of Anacardium occidentale gum as binder in formulation of paracetamol tablets. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 2, p. 506–511, 2011.

HAWKINS, M. J.; SOON-SHIONG, P.; DESAI, N. Protein nanoparticles as drug carriers in clinical medicine. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, n. 8, p. 876–885, 2008.

HEBDEN, J. M. et al. Limited exposure of the healthy distal colon to orally-dosed

formulation is further exaggerated in active left-sided ulcerative colitis. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 14, n. 2, p. 155–161, 2000.

HENS, B. et al. Exploring gastrointestinal variables affecting drug and formulation behavior: Methodologies, challenges and opportunities. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 519, n. 1–2, p. 79–97, 2017.

HUA, S. et al. Advances in oral nano-delivery systems for colon targeted drug delivery in inflammatory bowel disease: Selective targeting to diseased versus healthy tissue. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 11, n. 5, p. 1117–1132, 2015.

IACUCCI, M. et al. Mesalazine in inflammatory bowel disease : A trendy topic once again ? v. 24, n. 2, p. 127–134, 2010.

IDREES, H. et al. A review of biodegradable natural polymer-based nanoparticles for drug delivery applications. **Nanomaterials**, v. 10, n. 10, p. 1–22, 2020.

IGLESIAS, N. et al. Nanostructured Chitosan-based biomaterials for sustained and colon-specific resveratrol release. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 2, 2 jan. 2019.

IWAO, Y. et al. Inflamed site-specific drug delivery system based on the interaction of human serum albumin nanoparticles with myeloperoxidase in a murine model of experimental colitis. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 125, n. January, p. 141–147, 2018.

JAIN, A. et al. Beta carotene-loaded zein nanoparticles to improve the biopharmaceutical attributes and to abolish the toxicity of methotrexate: a preclinical study for breast cancer. **Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology**, v. 46, n. sup1, p. 402–412, 2018.

KHAN, M. J. ET AL. Use of nanostructured polymer in the delivery of drugs for cancer therapy. **Nanostructured polymer composites for biomedical applications**, p. 261–276, 2019.

KIM, B. Y. et al. Bioadhesive interaction and hypoglycemic effect of insulin-loaded lectin-microparticle conjugates in oral insulin delivery system. **Journal of Controlled Release**, v. 102, n. 3, p. 525–538, 2005.

KIM, S. et al. Engineered polymers for advanced drug delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 71, n. 3, p. 420–430, 2009.

KRISHNAIAH, Y. S. R.; KHAN, M. A. Strategies of targeting oral drug delivery systems to the colon and their potential use for the treatment of colorectal cancer. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 17, n. 5, p. 521–540, 2012.

KUMAR, R. et al. Evaluation of Anacardium occidentale gum as gelling agent in aceclofenac gel. **International Journal of PharmTech Research**, v. 1, n. 3, p. 695–704, 2009.

LAI, L. F.; GUO, H. X. Preparation of new 5-fluorouracil-loaded zein nanoparticles for liver targeting. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 404, n. 1–2, p. 317–323, 2011.

LAMPRECHT, A.; SCHÄFER, U.; LEHR, C. M. Size-dependent bioadhesion of micro- and nanoparticulate carriers to the inflamed colonic mucosa. **Pharmaceutical Research**, v. 18, n. 6, p. 788–793, 2001.

LAROUI, H. et al. Nanomedicine in GI. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 300, n. 3, p. 371–383, 2011.

LAU, E. T. L. et al. Encapsulation of hydrocortisone and mesalazine in zein microparticles. **Pharmaceutics**, v. 5, p. 277–293, 2013.

LAUTENSCHLÄGER, C. et al. Drug delivery strategies in the therapy of inflammatory bowel disease. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 71, p. 58–76, 2014.

LI, A. C. Y.; THOMPSON, R. P. H. Basement membrane components. **Journal of Clinical Pathology**, v. 56, n. 12, p. 885–887, 2003.

LI, S. et al. Preparation and characterization of a novel conformed bipolymer paclitaxel-nanoparticle using tea polysaccharides and zein. **Carbohydrate Polymers**, v. 146, p. 52–57, 2016.

LI, X. et al. Site-specific targeted drug delivery systems for the treatment of inflammatory bowel disease. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 129, n. July, 2020.

LIMA CARDIAL, M. R. et al. Pickering emulsions stabilized with cashew gum nanoparticles as indomethacin carrier. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 132, p. 534–540, 2019.

LIMA, M. R. et al. Hydrophobization of cashew gum by acetylation mechanism and amphotericin B encapsulation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 108, p. 523–530, 2018.

LIU, Q. et al. Zein/fucoidan-based composite nanoparticles for the encapsulation of pterostilbene: Preparation, characterization, physicochemical stability, and formation mechanism. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 158, p. 461–470, 2020.

LIU, Z. et al. Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, n. 15, p. 1650–1662, 2008.

LOFTUS, E. V.; KANE, S. V.; BJORKMAN, D. Systematic review: Short-term adverse effects of 5-aminosalicylic acid agents in the treatment of ulcerative colitis. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 19, n. 2, p. 179–189, 2004.

LU, L. et al. Nanoparticle-based oral delivery systems for colon targeting: principles and design strategies. **Science Bulletin**, v. 61, n. 9, p. 670–681, 2016.

LUO, Y. et al. Preparation and characterization of zein/chitosan complex for encapsulation of α-tocopherol, and its in vitro controlled release study. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 85, n. 2, p. 145–152, 2011.

LUO, Y.; TENG, Z.; WANG, Q. Development of zein nanoparticles coated with

carboxymethyl chitosan for encapsulation and controlled release of vitamin D3. **J Agric Food Chem.**, v. 60, n. 3, p. 836–43, 2012.

MAESTRELLI, F. et al. Development of enteric-coated calcium pectinate microspheres intended for colonic drug delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, n. 2, p. 508–518, 2008.

MARANHÃO, D. D. DE A.; VIEIRA, A.; CAMPOS, T. DE. Características e diagnóstico diferencial das doenças inflamatórias intestinais. **Jbm**, v. 103, p. 9–15, 2015.

MARINI, V. G. et al. Biodegradable nanoparticles obtained from zein as a drug delivery system for terpinen-4-ol. **Quimica Nova**, v. 37, n. 5, p. 839–843, 2014.

MCCONNELL, E. L.; FADDA, H. M.; BASIT, A. W. Gut instincts: Explorations in intestinal physiology and drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 364, n. 2, p. 213–226, 2008.

MELO, M. A. et al. Preparação de nanopartículas de prata e ouro: Um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. **Quimica Nova**, v. 35, n. 9, p. 1872–1878, 2012.

MORENO, L. C. G. E. I. et al. Effect of the oral administration of nanoencapsulated quercetin on a mouse model of Alzheimer's disease. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 517, n. 1–2, p. 50–57, 2017.

NGUYEN, T. L. A. et al. How informative is the mouse for human gut microbiota research? **DMM Disease Models and Mechanisms**, v. 8, n. 1, p. 1–16, 2015.

NICOLAU, L. A. D. et al. Cashew gum, a biopolymer, topically protects oesophageal mucosa in non erosive reflux disease: A promising translational study. **Carbohydrate Polymers**, v. 226, n. August, 2019.

O'DONNELL, P. B. et al. Aqueous pseudolatex of zein for film coating of solid dosage forms. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 43, n. 1, p. 83–89, 1997.

OFORI-KWAKYE, K. et al. Development and evaluation of natural gum-based extended release matrix tablets of two model drugs of different water solubilities by direct compression. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 24, n. 1, p. 82–91, 2016.

OHAMA, T.; HORI, M.; OZAKI, H. Mechanism of abnormal intestinal motility in inflammatory bowel disease: How smooth muscle contraction is reduced? **Journal of Smooth Muscle Research**, v. 43, n. 2, p. 43–54, 2007.

PAHARIA, A. et al. Eudragit-coated pectin microspheres of 5-Fluorouracil for colon targeting. **AAPS PharmSciTech**, v. 8, n. 1, p. 0–6, 2007.

PARENTE, J. M. L. et al. Inflammatory bowel disease in an underdeveloped region of Northeastern Brazil. **World Journal of Gastroenterology**, v. 21, n. 4, p. 1197–1206, 2015.

PARK, K. T. et al. The cost of inflammatory bowel disease: an initiative from the Crohn's & Colitis Foundation. **Inflammatory bowel diseases**, v. 26, p. 1- 10., 2020.

PENALVA, R. et al. Zein nanoparticles for oral delivery of quercetin: Pharmacokinetic studies and preventive anti-inflammatory effects in a mouse model of endotoxemia. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 13, n. 1, p. 103–110, 2017.

PEÑALVA, R. et al. Zein nanoparticles for oral folic acid delivery. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 30, p. 450–457, 2015.

PICHAI, M. V. A.; FERGUSON, L. R. Potential prospects of nanomedicine for targeted therapeutics in inflammatory bowel diseases. **World Journal of Gastroenterology**, v. 18, n. 23, p. 2895–2901, 2012.

PITOMBEIRA, N. A. O. et al. Self-assembled nanoparticles of acetylated cashew gum: Characterization and evaluation as potential drug carrier. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 610–615, 2015.

QURESHI, A. I.; COHEN, R. D. Mesalamine delivery systems : do they really make much difference ? v. 57, p. 281–302, 2005.

RAFII, F.; FRANKLIN, W.; CERNIGLIA, C. E. Azoreductase activity of anaerobic bacteria isolated from human intestinal microflora. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, n. 7, p. 2146–2151, 1990.

RANA, V. et al. Modified gums: Approaches and applications in drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 3, p. 1031–1047, 2011.

ROMERO-CASTRO, A. et al. Pharmacokinetics in wistar rats of 5-[(4-carboxybutanoyl)amino]-2-hydroxybenzoic acid: A novel synthetic derivative of 5-aminosalicylic acid (5-ASA) with possible anti-inflammatory activity. **PLoS ONE**, v. 11, n. 7, p. 1–16, 2016.

SANDBOR, W. J. N.; ER, S. B. H. Systematic review : the pharmacokinetic profiles of oral mesalazine formulations and mesalazine pro-drugs used in the management of ulcerative colitis. n. Table 1, p. 29–42, 2003.

SCHAFFAZICK, S. R. et al. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Quimica Nova**, v. 26, n. 5, p. 726–737, 2003.

SCHIPPA, S.; CONTE, M. P. Dysbiotic events in gut microbiota: Impact on human health. **Nutrients**, v. 6, n. 12, p. 5786–5805, 2014.

SCHIRATO, G. V.; MONTEIRO, F. M. F. . et al. O polissacarídeo do Anacardium occidentale L. na fase inflamatória do processo cicatricial de lesões cutâneas. **Ciência Rural**, v. 36, p. 149–154, 2006.

SCHIRATO, G. V. et al. O polissacarídeo do Anacardium occidentale L. na fase inflamatória do processo cicatricial de lesões cutâneas. **Ciência Rural**, v. 36, n. 1, p. 149–154, 2006.

SCHMIDT, C. et al. Nano- and microscaled particles for drug targeting to inflamed intestinal mucosa - A first in vivo study in human patients. **Journal of Controlled Release**, v. 165, n. 2,

p. 139–145, 2013.

SHAHDADI SARDO, H. et al. A review on 5-aminosalicylic acid colon-targeted oral drug delivery systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 558, p. 367–379, 2019.

TALAEI, F. et al. Overcoming therapeutic obstacles in inflammatory bowel diseases: A comprehensive review on novel drug delivery strategies. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n. 4, p. 712–722, 2013.

TOMKELSKI, M. L. **O ensino de tópicos de nanociência e de nanotecnologia na educação básica e superior: uma análise a partir das compreensões de professores**, 2017.

TORQUATO, D. S. et al. Evaluation of antimicrobial activity of cashew tree gum. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 20, n. 5, p. 505–507, 2004.

TORRES, J. A. DO P. et al. Doenças inflamatórias intestinais no Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe: Manifestações extraintestinais. **Revista Brasileira de Coloproctologia**, v. 31, n. 2, p. 115–119, 2011.

TRAN, P. H. L. et al. Drug stabilization in the gastrointestinal tract and potential applications in the colonic delivery of oral zein-based formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 569, n. June, p. 118614, 2019.

TRAN, P.; TRAN, T.; VO, T. Nanomateriais à base de conjugado de polímero para distribuição de drogas. **Journal of nanoscience and nanotechnology**, v. 14, n. 1, p. 815–827, 2014.

USKOKOVIĆ, V. Nanotechnologies: What we do not know. **Technology in Society**, v. 29, n. 1, p. 43–61, 2007.

VASCONCELOS SILVA, E. DE L. et al. Solvent-free synthesis of acetylated cashew gum for oral delivery system of insulin. **Carbohydrate Polymers**, v. 207, n. August 2018, p. 601–608, 2019.

VENERANDA, M. et al. Formation and characterization of zein-caseinate-pectin complex nanoparticles for encapsulation of eugenol. **LWT - Food Science and Technology**, v. 89, n. September 2017, p. 596–603, 2018.

VICTORIA, C. R.; SASSAKI, L. Y.; NUNES, H. R. D. C. Incidence and prevalence rates of inflammatory bowel diseases, in midwestern of São Paulo State, Brazil. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 46, n. 1, p. 20–25, 2009.

VISCIDO, A. et al. Nanotechnology in the treatment of inflammatory bowel diseases. **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 8, n. 9, p. 903–918, 2014.

VISCIDO, A. et al. Nanotecnologia no tratamento de doenças inflamatórias intestinais Palavras-chave. v. 8, n. 9, p. 1–26, 2021.

WANG, H. . et al. Facile encapsulation of hydroxycamptothecin nanocrystals into zein-based nanocomplexes for active targeting in drug delivery and cell imaging. **Acta Biomater.**, v. 61, p. 88–100, [s.d.].

WANG, H. J. et al. Heparin-loaded zein microsphere film and hemocompatibility. **Journal of Controlled Release**, v. 105, n. 1–2, p. 120–131, 2005.

WANG, N. X.; VON RECUM, H. A. Affinity-Based Drug Delivery. **Macromolecular Bioscience**, v. 11, p. 321–332, 2011.

YOKOYAMA, M. Drug targeting with nano-sized carrier systems. **Journal of Artificial Organs**, v. 8, n. 2, p. 77–84, 2005.

ZHANG, L. et al. Polysaccharide-based micro / nanocarriers for oral colon-targeted drug delivery. v. 24, n. 7, p. 579–589, 2016.

ZHANG, L.; WEBSTER, T. J. Nanotechnology and nanomaterials: Promises for improved tissue regeneration. **Nano Today**, v. 4, n. 1, p. 66–80, 2009.

ZHANG, S.; LANGER, R.; TRAVERSO, G. Nanoparticulate drug delivery systems targeting inflammation for treatment of inflammatory bowel disease. **Nano Today**, v. 16, p. 82–96, 2017.

ZHANG, Y. et al. Fabrication, characterization and antimicrobial activities of thymol-loaded zein nanoparticles stabilized by sodium caseinate–chitosan hydrochloride double layers. **Food Chemistry**, v. 142, n. 1, p. 269–275, 2014.

ZOU, T.; GU, L. TPGS Emulsified Zein Nanoparticles Enhanced Oral Bioavailability of Daidzin: In Vitro Characteristics and In Vivo Performance. **Mol Pharm**, v. 10, n. 5, p. 2062–2070, 2013.

ZU, Y.-G. Preparation, characterization and targeting of micronized 10-hydroxycamptothecin-loaded folate-conjugated human serum albumin nanoparticles to cancer cells. **International Journal of Nanomedicine**, p. 397, 2011.

# *Capítulo II*




# *Artigo 1*

Publicado em ***Journal of Drug Delivery Science and Technology***
Qualis **A3** Fator de Impacto: **3.981**

https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102590

# Desenvolvimento de sistemas nanoestruturados usando polímeros naturais para otimizar o tratamento de doenças inflamatórias intestinais: um estudo prospectivo

Izabela B. C. Lima[1,2] *; Lina Clara G. A. I. Moreno.[1,2]; Edson C. Silva-Filho[3]; Juan M. Irache[4] ; Francisco J. B. Veiga[5]; Hercília M. L. Rolim[2] and Lívio C. C. Nunes[1]

[1] Laboratório de Inovação Tecnológica e Empreendedorismo, Medicamentos e Correlatos (LITE), Universidade Federal do Piauí, Teresina PI, Brasil. izabela.borges@hotmail.com * (I.L.); liviocesar@hotmail.com (L.N.) [2] Laboratório de Nanossistemas Farmacêuticos (NANOSFAR), Universidade Federal do Piauí, Teresina PI, Brasil. linaclaramoreno@gmail.com (L.M.); hercilia.rolim@gmail.com (H.R.) [3] Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados (LIMAV), Universidade Federal do Piauí, Teresina PI, Brasil. edsonfilho@ufpi.edu.br (E.C.) [4] Grupo de Pesquisa NANO-VAC, Departamento de Química e Tecnologia Farmacêutica, Universidade de Navarra, Espanha jmirache@unav.es (J.I.) [5] Centro de Estudos Farmacêuticos - Universidade de Coimbra, Portugal. fveiga@ci.uc.pt (F.V.)

**Resumo:** As doenças inflamatórias intestinais (DII) são condição crônica com sintomas como diarréia, dor abdominal, perda de peso, sangramento retal e anemia, representada pela Doença de Crohn (DC) e Colite Ulcerativa (UC). Um dos principais problemas no tratamento das DII é a baixa capacidade dos fármacos em atingir o cólon inflamado, principal órgão acometido, o que gera a necessidade de administração de altas doses de fármaco favorecendo a ocorrência de efeitos adversos. Uma possível alternativa para superar essa limitação é o encapsulamento de fármacos em nanocarreadores poliméricos. Os nanossistemas têm se mostrado úteis em aumentar a absorção de fármacos no cólon, melhorando a eficácia do tratamento e diminuindo as doses necessárias. Com base no exposto, esta revisão tem como objetivo realizar um estudo prospectivo relacionado ao desenvolvimento de nanoestruturas obtidas a partir de polímeros naturais para otimizar o tratamento das DII com foco no cólon. Todas as buscas foram realizadas nas bases de dados científicas (*BVS, PubMed, Science Direct e Scopus*) e de patentes (*EPO, USPTO, WIPO e INPI*) usando como palavras-chave os principais polímeros naturais AND “Inflammatory bowel disease” AND “nano”. Neste estudo, foram incluídos 44 artigos e 4 patentes. Observamos que o foco principal dos estudos são as nanopartículas poliméricas de polissacarídeos com propriedades programadas para superar vários obstáculos para a liberação eficiente do fármaco no cólon. A quitosana foi o polímero natural mais citado no desenvolvimento dos nanossistemas, devido à sua resistência à degradação enzimática e propriedades mucoadesivas que otimizam o tratamento da DII. Esse polímero apresentou maior capacidade de atingir o cólon inflamado e promover a liberação sustentada do fármaco. No entanto, os estudos ainda são recentes.

**Palavras-chave:** Nanoparticles; Doença de Crohn; Colite Ulcerativa; Polissacarídeos; Quitosana.

## 1. Introdução

A doença inflamatória intestinal (DII) é uma condição crônica com sintomas como diarreia, dor abdominal, perda de peso, sangramento retal e anemia com fases de remissão e exacerbação, representada pela doença de Crohn (DC) e colite ulcerativa (UC), que são fatores de risco para câncer de cólon (GAMBOA et al., 2015; YOUSHIA; LAMPRECHT, 2016). Essa doença tem etiologia multifatorial, envolvendo principalmente fatores genéticos, ambientais e imunológicos. A incidência de DII é maior em países desenvolvidos e varia de aproximadamente 5,3 a 63,6 por 100.000 pessoas (CHU et al., 2018a; JEONG et al., 2019; PARK et al., 2020).

A fisiopatologia nas DII inclui a liberação de citocinas pró-inflamatórias, como interleucinas (IL-1β, IL-6 e IL-12), fator de necrose tumoral α (TNF-α), interferon γ (IFN-γ), fator de crescimento transformador (TGF)-β, e aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS) que resulta em dano excessivo aos tecidos intestinais. A permeabilidade intestinal é anormal com aumento da produção de muco (KHARE et al., 2020).

O tratamento farmacológico das DII na prática clínica é realizado com aminossalicilatos (mesalazina, sulfassalazina - oral e retal), corticosteroides (prednisona, hidrocortisona, budesonida), antibióticos, imunossupressores (tacrolimus, azatioprina e mercaptopurina) e terapia biológica (infliximab, visando adalimb) para diminuir os sintomas da fase aguda e induzir o período de remissão e manutenção (GUO; JIANG; GUI, 2016; HUANG; GUO; GUI, 2018; JEONG et al., 2019).

Um dos principais desafios no tratamento da DII é a baixa capacidade de atingir o cólon, pois, além das variações inter e intra-individuais, o pH gástrico e a degradação enzimática no intestino delgado também causam baixa absorção de fármacos no cólon inflamado, além de favorecer a absorção sistêmica e a ocorrência de efeitos colaterais, incluindo síndrome nefrótica, hepatite, discrasia sanguínea, pancreatite e pleuropericardite (PALMA et al., 2019; PARK et al., 2020; SHAHDADI SARDO et al., 2019)

A nanotecnologia tem uma ampla gama de benefícios na indústria farmacêutica. Vários estudos revelam os benefícios da nanomedicina no tratamento da DII, que pode substituir as formas farmacêuticas convencionais (COCO et al., 2013; KUMAR; NEWTON, 2017b; MAYYAS; REMAWI, 2012; PICHAI; FERGUSON, 2012a; ZOHRI et al., 2009). Os nanossistemas são úteis para aumentar a absorção de fármacos, melhorar a eficácia e reduzir as doses (IWAO et al., 2018; KUMAR; NEWTON, 2017b; LAROUI; SITARAMAN; MERLIN, 2012).

Os polímeros naturais chamaram a atenção devido às preocupações com a toxicidade dos polímeros sintéticos (SABRA; CLIVE; BILLA, 2019). São biodegradáveis, não tóxicos, altamente estáveis, fáceis de manusear, mais econômicos e se degradam especificamente no cólon, o que os torna mais qualificados no transporte de fármacos destinados ao tratamento de DII (PRAJAPATI; PATEL; S., 2017). Os polímeros naturais estudados para liberação de fármacos são: alginato, amilose, albumina, carragenina, celulose, ciclodextrina, colágeno, quitosana, condroitina, dextrana, gelatina, ácido hialurônico, inulina, pectina, amido, goma guar, goma xantana (DAS; DESHMUKH; JHA, 2010; GARG et al., 2018; PRAJAPATI; PATEL; S., 2017), goma do cajueiro (RIBEIRO et al., 2016) e zeína (LABIB, 2018).

Nesse contexto, as nanoestruturas obtidas a partir de polímeros naturais podem ser uma excelente alternativa para a liberação de fármacos e otimização do tratamento das DII, com propriedades programadas para superar completa e sequencialmente os múltiplos obstáculos para a liberação eficiente do fármaco no cólon inflamado (LAROUI et al., 2010a; LAROUI; SITARAMAN; MERLIN, 2012; LAUTENSCHLÄGER et al., 2014; ZHANG et al., 2016).

Esta revisão tem como objetivo realizar um estudo prospectivo científico e tecnológico relacionado ao desenvolvimento de sistemas nanoestruturados utilizando polímeros naturais para otimizar o tratamento de doenças inflamatórias intestinais.

## 2. Metodologia

A estratégia de busca PICo (Problema, Intervenção e Contexto) foi utilizada como método para definir a questão de pesquisa para a busca bibliográfica de evidências. A prospecção científica foi realizada por meio de busca nas bases de dados eletrônicas

Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), *PubMed*, *Science Direct* e *Scopus*. As Palavras-chave foram combinadas *"inflammatory bowel disease" OR colitis OR "crohn disease"* com os principais polímeros naturais: *Alginate* OR *Amylose* OR *Albumin* OR *Carrageenan* OR *Cellulose* OR *Cyclodextrin* OR *Collagen* OR *Chitosan* OR *Chondroitin* OR *Dextran* OR *Gelatin* OR *Hyaluronic acid* OR *Inulin* OR *Pectin* OR *Starch* OR *Guar gum* OR *Xanthan Gum* OR *Cashew gum* OR *Zein* AND "*Nano" (Search strategy - Supplementary material S1).* A busca foi realizada entre agosto de 2019 e junho de 2020, na língua inglesa, e não foram definidos prazos para artigos ou patentes. Inicialmente os artigos foram analisados por meio da leitura do título, resumo e palavras-chave, os listados para análise foram lidos na íntegra. Artigos originais usando sistemas nanoestruturados de polímeros naturais para otimizar o tratamento de doenças inflamatórias intestinais (colite ulcerativa ou doença de Crohn) foram incluídos no estudo. Foram excluídos artigos que envolvessem o uso apenas de polímeros sintéticos, amostras não nanoestruturadas, ou que enfocassem outras doenças, artigos de revisão e artigos duplicados.

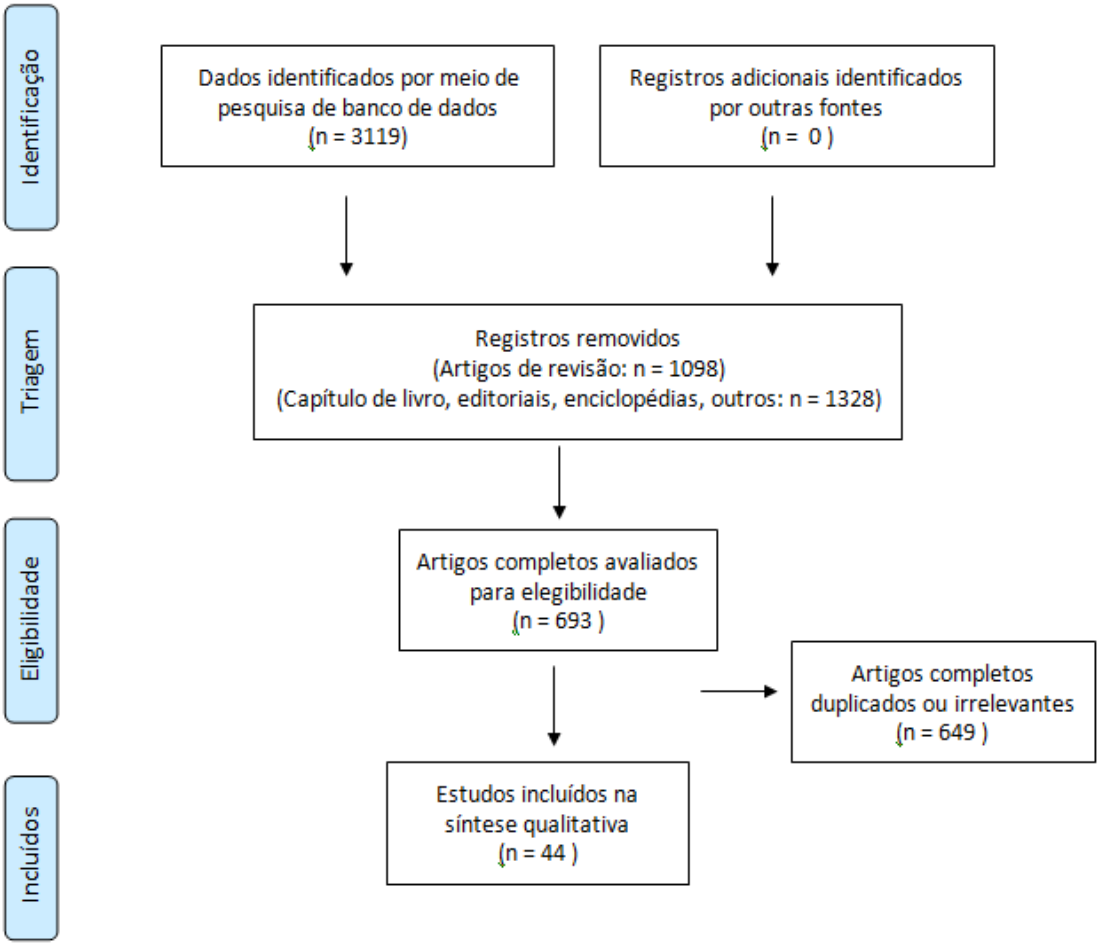
A prospecção tecnológica foi realizada por meio de buscas nas seguintes bases de dados de patentes; *European Patent Office* (EPO), *United States Patent and Trademark Office* (USPTO), *World Intellectual Property Organization* (WIPO) and *the Brazilian National Institute of Industrial Property* (INPI). Foram utilizadas as mesmas palavras-chave e critérios de análise dos artigos, em inglês e português quando aplicável. *(Search strategy - Supplementary material S1).*

## 3. Resultados

### 3.1 Prospecção Científica

A busca nas bases de dados científicas segundo as palavras-chave resultou em um total de 3.119 dados, sendo 58 da BVS, 10 da *Pubmed*, 3025 da *Science Direct* e 26 da *Scopus*. Foram excluídos 1.098 artigos de revisão e 1.328 dados classificados como capítulos de livros, editoriais, enciclopédias, entre outros. 649 artigos foram duplicados ou irrelevantes para este estudo com base no título e/ou resumo. Portanto, 44 artigos foram incluídos neste estudo (Figura 1; Tabela 1).

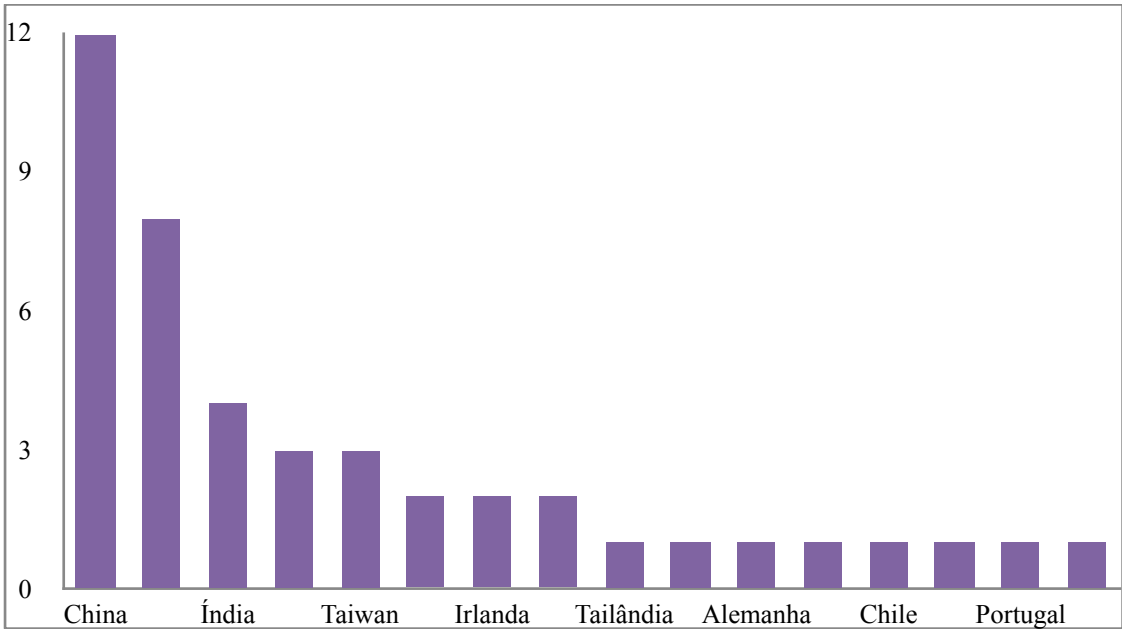
**Figura 1:** Fluxograma de seleção de artigos para este estudo (PRISMA)




**Fonte:** Autoria própria (2020)

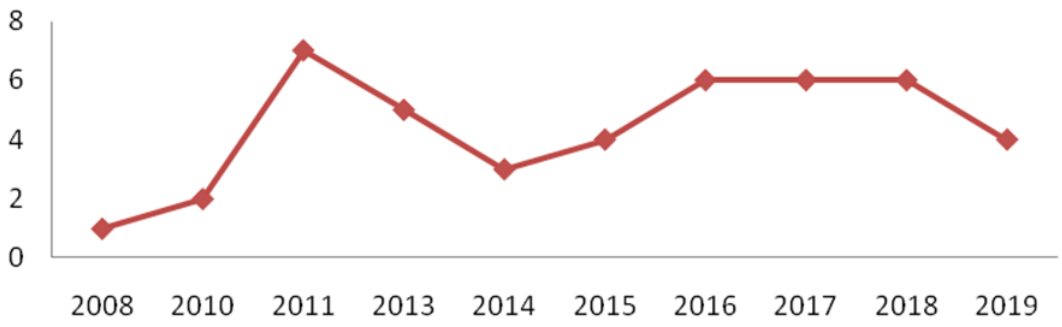
O país com a maior produção de pesquisa nessa área é a China com 12 publicações, seguida pelos EUA com 8 citações (Figura 2). A Figura 3 mostra a evolução anual das publicações científicas e observa-se que a primeira publicação relacionada a esse tema teve início em 2008, o que demonstra um interesse recente de pesquisadores pela área. O ano de 2011 teve o maior número de publicações com 7 citações seguido dos anos 2016, 2017, 2018 com 6 citações (Figura 3).

**Figura 2** - Número de artigos publicados por país relacionados a sistemas nanoestruturados usando polímeros naturais para otimização do tratamento das doenças inflamatórias intestinais



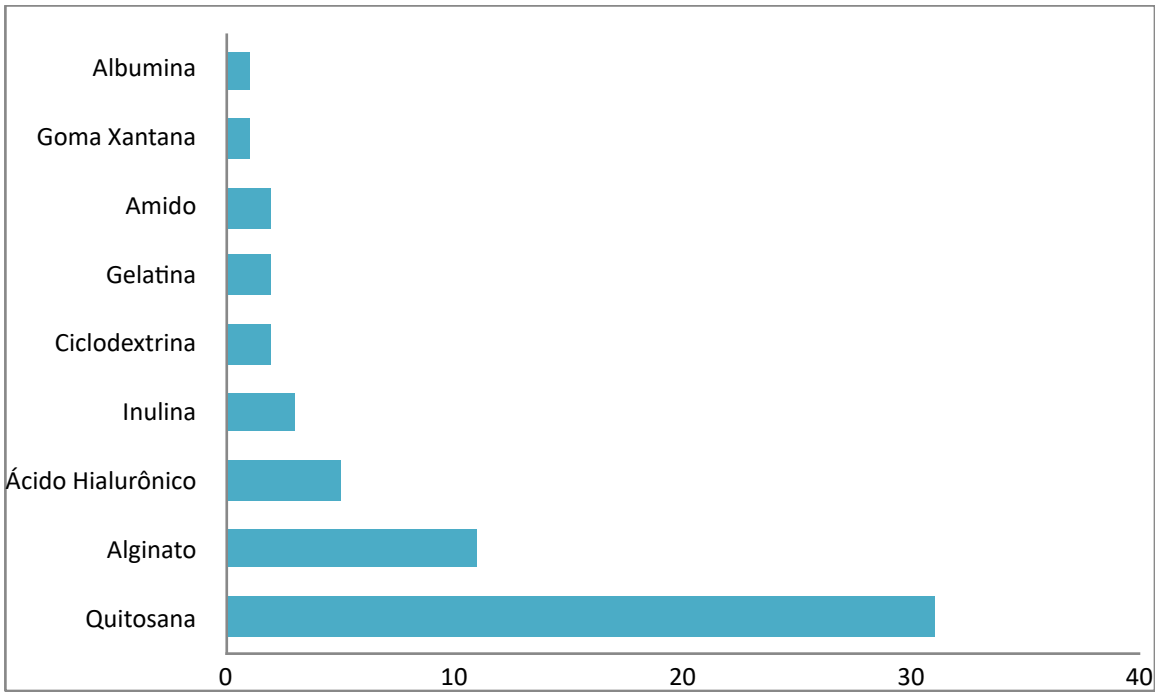

**Fonte:** Autoria própria (2020)

**Figura 3 -** Evolução anual de publicações científicas relacionadas a sistemas nanoestruturados utilizando polímeros naturais para otimização do tratamento das doenças inflamatórias intestinais




**Fonte:** Autoria própria (2020)

**Figura 4 –** Polímeros naturais mais citados no desenvolvimento de nanossistemas para otimizar o tratamento de doenças inflamatórias intestinais




**Fonte:** Autoria própria (2020)

Os polímeros naturais mais utilizados para a vetorização de compostos bioativos para o cólon são a quitosana (70%), o alginato (25%) e o ácido hialurônico (11%) (Figura 4 e Tabela 1).

**Tabela 1:** Sistemas nanoestruturados usando polímeros naturais para otimização do tratamento das doenças inflamatórias intestinais

| Nanossistemas | Polímeros | Agentes Terapêuticos | Tamanho (nm) | Resultados | Referênciaas |
|---|---|---|---|---|---|
| Nano-hidrogel | Alginato e Inulina | Ácido 5-amino salicílico (5-ASA) | 84-198 | O núcleo de alginato de sódio protege o fármaco do pH ácido no estômago e o revestimento de inulina libera a droga no cólon inflamado | (BAHADORI et al., 2019) |
| NiMOS* | Gelatina Tipo-B | DNA expressando IL-10 | 200 | Redução de IFN- γ, TNF-α, IL-1α, IL-1β, IL-12 e quimiocinas na colite ulcerativa | (BHAVSAR; AMIJI, 2008) |
| Complexo polieletrolítico nanoestruturado | Quitosana e ácido hialurônico / ftalato de hipromelose | Metotrexato | 325-458 | Aumento da permeabilidade de metotrexato em células Caco-2 e modelo de co-cultura tripla de produção de muco de Caco-2: HT29-MTX: células B Raji | (BONI et al., 2018) |
| Nanovesiculas | Quitosana | Quercetina | 130 | Melhora na resistência gástrica das vesículas favorecendo a liberação de quercetina no cólon inflamado | (CASTANGIA et al., 2015) |
| Nanoparticulas | Trimetilquitosana-cisteína galactosilada | siRNA TNF- α | 200-450 | NP-GTC medindo 450 nm demonstrou forte afinidade de ligação para siRNA, diminuição da permeabilidade epitelial intestinal e aumento da eficácia anti-inflamatória in vivo | (CHENG; TANG; YIN, 2015) |
| Nanoparticulas | Quitosana e alginato | Prednisolone and inulin | 138-484 | Nanopartículas produzidas com quitosana eram biodegradáveis e proporcionavam liberação no cólon<br>Nanopartículas produzidas com alginato eram biodegradáveis e proporcionavam boa encapsulação de ingredientes ativos | (GAMBOA et al., 2015) |
| Nanoparticulas | Quitosana | Diclofenaco de sódio | 10 | Liberação direcionada ao cólon e aumento da absorção em células Caco-2 em 3 vezes | (HUANBUTTA et al., 2013) |
| Nanoparticulas | Quitosana galactosilada (GC) | siRNA TNF-α | 245 | NPs modificados por GC aliviaram a inflamação do cólon de forma mais eficiente do que NPs não modificados. | (HUANG; GUO; GUI, 2018) |
| Nanoparticulas | Quitosana | Resveratrol | 170 | Liberação do cólon sustentada por 48 h | (IGLESIAS et al., 2019a) |
| Nanoparticulas | Albumina de soro humano (HSA) | 5-ASA | 190 | HSA-NP fornece a liberação de 5-ASA para o cólon e é eficaz em doses 1000 vezes menores do que o fármaco livre no tratamento da colite ulcerativa | (IWAO et al., 2018) |
| NiMOS* | Gelatina | siRNA TNF-α | 207 | Aumento do silenciamento do gene TNF-α e diminuição dos níveis de IL-1β, IFN-γ, MCP-1, MPO | (KRIEGEL; AMIJI, 2011) |
| Nanoparticulas | Quitosana | Rifamixina | 23,9 | Liberação em pH 7,4 (fluido ileo-colônico simulado) por 24h | (KUMAR; NEWTON, 2017b) |
| Nanopartículas de revestimento de hidrogéis A / CS | Alginato e Quitosana (A / CS) | KPV (tripeptídeo: lisina-prolina-valina) | 400 | NPs alcançaram o cólon e rapidamente liberaram KPV nos colonócitos. NP-KPV foi eficaz em uma concentração 12.000 vezes menor do que o KPV livre | (LAROUI et al., 2010b) |
| Nanoparticulas | Quitosana | siRNA TNF-α | 380 | Redução específica da expressão de TNFα no tecido do cólon em camundongos tratados com lipopolissacarídeos | (LAROUI et al., 2011b) |
| Nanopartículas CS / A revestidas com hidrogéis | Quitosana e alginato (CS / A) | Fab'-bearing siRNA de TNFα | 376 | Maior liberação no pH colônico, com otimização dos parâmetros antiinflamatórios | (LAROUI et al., 2014) |
| Nanoparticulas | Quitosana | - | 329,6 | Partículas funcionalizadas com quitosana aderiram à superfície do tecido inflamado. | (LAUTENSCHLÄGER et al., 2013) |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Nanoparticulas | Quitosana e Fucoidana | Proteína solúvel da membrana da casca do ovo (SEP) | 100 | NP são estáveis em pH 1,2 e liberam 50% de seu conteúdo em pH 7,4. Promove redução de NO, TNF-α e IL-6 em células CaCo-2 | (LEE; HUANG, 2019) |
| Hierarquia estruturada nano-em-nano-em-micro | Ácido hialurônico (HA) | Budesonida | 200 | NP oral funcionalizado com HA atinge o cólon inflamado, causando liberação prolongada do fármaco. | (LI et al., 2018) |
| Nanoparticulas | Quitosana | SIGIRR | 100 | Redução de TLR4 ** / NF- κB no cólon | (LIU et al., 2017) |
| Nanoparticulas | Goma xantana | Curcumina | 425 | Redução de MPO e nitrito, diminuição da perda de peso e aumento da absorção sistêmica de curcumina | (MUTALIK et al., 2016) |
| Complexo de nanopartículas catiônicas | Ciclodextrina (CD) | DNA | 150 | Aumento da transfecção de células intestinais diferenciadas com potencial vetorização oral de genes. | (O'NEILL et al., 2011) |
| Complexo de nanopartículas catiônicas | Ciclodextrina (CD) | DNA | 569 | O complexo CD-DNA era estável em enzimas pancreáticas CD protegeu o DNA da degradação pela DNase | (O'NEILL et al., 2013) |
| Nanotransportadores de cerâmica | Alginato | Catalase | 925 | Maior liberação de catalase em pH alcalino; gastrorresistente | (PARIHAR et al., 2017) |
| Nanofilmes | Quitosana e alginato | APP e APP-Dns | 200 | Com o Q / A, o conteúdo era liberado de forma sustentada: após 6h na mucosa intestinal. | (RIVA et al., 2013) |
| Nanocápsulas | Quitosana e alginato | 5-ASA e Glicomacropeptideo (GMP) | 100 | As nanocápsulas mostraram maior eficiência de encapsulação para 5-ASA do que para GMP | (RIVERA et al., 2015) |
| Nanopartículas | Quitosana | bacteria probiotica (*L. casei* ATCC 39392) | 226,3 | A menor dose de extrato probiótico liofilizado (LPE) em nanopartículas foi mais eficiente do que a mais alta livre. O composto encapsulado reduziu MPO, TNF-α e IL-1β | (SAADATZADEH et al., 2012) |
| Nanopartículas | Quitosana e carboximetil-amido | 5-ASA | 300 | Maior liberação do fármaco no fluido colônico simulado | (SABOKTAKIN et al., 2011) |
| Nanopartículas | Inulina | Ornidazol | 216,5 | Liberação rápida no meio intestinal enzimático, além de ser degradado no cólon pela inulinase. | (SHIVHARE et al., 2018) |
| Nanopartículas | Inulina | Budesonida | 210 | Maior acúmulo no cólon inflamado | (SUN et al., 2018) |
| Nanopartículas | Quitosana | ODN (oligonucleotídeos decoy fator nuclear-kB) | 366 | Os NPs de quitosana foram mais absorvidos pelas células do cólon; Maior estabilidade em ambiente ácido; Diminuição da diarreia, fezes com sangue e MPO | (TAHARA et al., 2011) |
| Nanopartículas | Quitosana | Salazosulfapiridina / DMβ-CD | 90 | Aumento da eficiência de encapsulação, Liberação sustentada, Redução de toxicidade. | (TANG et al., 2017) |
| Nanopartículas | Quitosana | 5-ASA/ HPβ-CD | 90 | Liberação sustentada. Redução da inflamação na colite sem alterar a viabilidade celular. | (TANG et al., 2018a) |
| Nanopartículas | Quitosana | - | 64 | Resistência elétrica transepitelial aumentada (TER). Redução da permeabilidade da monocamada epitelial intestinal, TNF-α, MIF. | (TU et al., 2016) |
| Aerogéis de amido nanoporoso para | Amido | Fitoesterois | 59-87 | Redução da cristalinidade. Maior solubilidade em água e biodisponibilidade | (UBEYITOGULLARI; CIFTCI, 2017) |
| Nanopartículas | Ácido hialurônico | Budesonida | 177-293 | Redução de IL-8 e TNF-α. Liberação sustentada em fluido colônico simulado | (VAFAEI et al., 2016) |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Nanopartículas | Quitosana e Fucoidana | Berberina | 111 | Aumento da eficiência do encapsulamento. Aumento de liberação de fluido intestinal. Diminuição de NO e TNF-α | (WU et al., 2014) |
| Nanopartículas | Quitosana e Fucoidana | Ciclosporina A | 185,7 | Adesão do NP ao cólon inflamado por 36 horas. Redução do índice de atividade da colite | (WU et al., 2019) |
| Hidrogéis (quitosana/ | Quitosana e alginato | Anticorpo de superfície contra CD98 + siRNA- | 200 | Redução da severidade da colite (perda de peso, MPO, TNF-α, IL-6, IL-12) | (XIAO et al., 2014) |
| Nanopartículas (quitosana) funcionalizadas | Ácido hialurônico / Quitosana / alginato | siRNA-CD98 + Curcumina | 246 | Redução da perda de peso, MPO, TNF-α, redução de CD98 | (XIAO et al., 2016) |
| Nanopartículas (quitosana e alginato) | Ácido hialurônico/ Quitosana / alginato | KPV | 272 | Aumento da captação pelas células epiteliais do cólon e macrófagos. Aumento da cicatrização da mucosa e alívio da colite | (XIAO et al., 2017) |
| Nanopartículas | Quitosana trimetilgalactosilada (GTC) | siMap4k4 | 140-153 | Redução de TNF-α, perda de peso e MPO. Aumento da captação de células em macrófagos ativados. Distribuição aumentada de siRNA na colite ulcerosa. | (ZHANG; TANG; YIN, 2013) |
| Hidrogéis CS/A revestindo | Quitosana e alginato | 6-Shogaol | 246 | Redução de TNF-α, IL-6, IL-1β e iNOS. Aumento de Nrf-2 e HO-1 | (ZHANG et al., 2018) |
| Nanopartículas | Quitosana Carboximetil (CMC) | 6-mercaptopurina (6-MP) | 100 | A liberação depende da concentração de GSH no meio, que é maior em pH 5; | (ZHENG et al., 2011) |
| Nanopartículas | Quitosana Galactosilada | ASO (oligonucleotídeo antisense) | Não descrito | Diminuição do TNF-α em camundongos com colite. Redução da severidade clínica e histopatológica | (ZUO et al., 2010) |

- NiMOS: Sistemas de liberação oral de nanopartículas em microesferas;
- TLR4: Toll-like receptor 4 - Detecta lipopolissacarídeo de bactérias Gram-negativa
- SIGIRR: human gene que codifica o receptor Ig-1 relacionado à IL-1. Modula a resposta imune, e homeostase epitelial do cólon.
- APP e APP-Dns: um inibidor de adenosina desaminase, 4-amino-2- (2-hidroxi-1-decil) pirazol- [3,4-d] pirimidina (APP) e seu derivado fluorescente de dansil (APP-Dns) / inibidor de adenosina desaminase = fármacos anti-inflamatórias, Aumentam a adenosina diminuindo a inflamação da mucosa intestinal na DII.
- siMap4k4: Silenciamento de genes por RNA de fita dupla (siRNA) da proteína quinase quinase quinase quinase 4 ativada por mitogênio (Map4k4), um mediador da expressão de citocinas.
- CD98: um heterodímero de um transportador de aminoácido do tipo L (LAT) e β-integrina1, foi implicado no modelo de colite experimental que implica os sintomas clínicos de DII.

## 3.2 Prospecção Tecnológica

De todas as patentes analisadas e posterior aplicação dos critérios de exclusão mencionados, apenas 4 patentes foram incluídas nesta prospecção (Estratégia de busca - Material complementar S1). Os polímeros nanoestruturados naturais utilizados para otimizar o tratamento de doenças inflamatórias intestinais citados em produtos tecnológicos patenteados foram quitosana, alginato, pectina, amilopectina, ácido hialurônico, gelatina ou albumina. Essas patentes foram depositadas entre 2014 e 2018, com uma patente publicada a cada ano (Tabela 2). Os Estados Unidos são o maior detentor de patentes, seguidos pelo Brasil e pela China, cada um com uma patente.

A Classificação Internacional de Patentes (CIP) é um instrumento para uma ordenação dos documentos de patentes de forma a facilitar o acesso e informações tecnológicas / estado da arte em diversas áreas, as quais são estruturadas hierarquicamente em seção, classe, subclasse, grupo e subgrupo (SAMPAIO et al., 2018). Dentre as 4 patentes depositadas, observou-se que a única classificação internacional citada é a A61K, que representa preparações para fins médicos, odontológicos ou higiênicos, envolvendo 1 patente de medicamentos caracterizados por formas físicas especiais (A61K 9/00), 2 patentes classificadas como Nanocápsulas (A61K 9/51), e 1 patente classificada como preparações medicinais caracterizadas pelos princípios não ativos utilizados, ou aditivos inertes; Agentes direcionadores ou modificadores quimicamente ligados ao ingrediente ativo: Polissacarídeos e derivados; Gomas, amido, alginato, dextrina, ácido hialurônico, quitosana, inulina, ágar ou pectina (A61K 47/36).

**Tabela 2:** Patentes depositadas em bancos de dados relacionados a polímeros naturais nanoestruturados usados para otimizar o tratamento de doenças inflamatórias intestinais

| Título | Número do pedido | Resumo |
|---|---|---|
| Processo de obtenção de nano e micropartículas de 4-metisculetina (4-ME) encapsuladas em quitosana | BR 10 2017 019855 3 A2 | A nanoencapsulação do 4-ME é realizada utilizando polímeros de quitosana reticulada com tripolifosfato de sódio pelo método de gelificação ionotrópica e avaliação no tratamento de doenças inflamatórias intestinais com liberação direcionada dos princípios ativos para o cólon, maior biodisponibilidade e efeito terapêutico. |
| Construções para diagnosticar e tratar doenças inflamatórias do intestino e câncer de cólon | US 20150147270 A1 | Os veículos da presente invenção incluem NPs formados a partir de polímeros naturais (proteína ou polissacarídeo). O polissacarídeo pode ser alginato, quitosana, pectina, amilopectina ou uma mistura de dois ou mais. Outros polímeros naturais úteis incluem proteínas como gelatina e |
| Composição para uso no tratamento e prevenção de distúrbios relacionados à inflamação | US 20140141077 A1 | Composição contendo fármaco dentro de uma nanopartícula esférica de ácido hialurônico (HA). A composição demonstrou ser capaz de reduzir a dose terapêutica de um fármaco no tratamento e prevenção de distúrbios relacionados à doença inflamatória intestinal. |

| | | |
|---|---|---|
| Nanopreparação para o tratamento de doenças inflamatórias intestinais, bem como método de preparação e aplicação da nanopreparação | CN108014093 (A) 2018 | Nanopartículas de proteína de milho revestidas por vesículas de membrana externa de *Escherichia coli* para vetorização de antibacterianos.<br><br>Esta invenção descreve um método de preparação e aplicação de nanopreparação no tratamento de doenças inflamatórias do intestino. |

Fonte: Autores (2020)

## 4. Discussão

### 4.1 Nanopartículas Poliméricas (NPs)

Neste estudo, a plataforma de liberação de fármacos mais amplamente utilizada foram as nanopartículas poliméricas (NPs), que são partículas coloidais sólidas formadas por polímeros com diâmetros variando de 1 a 1000 nm (Tabela 1). As vantagens de usar esses nanosistemas como carreadores de fármacos são: alta capacidade de encapsulação de fármacos, alta estabilidade quando em contato com fluidos biológicos, viabilidade de incorporação de compostos hidrofílicos e hidrofóbicos e propriedades de liberação sustentada no local específico (IRACHE et al., 2011; ULBRICH et al., 2016). As nanopartículas possuem maior capacidade de penetração nas células epiteliais e inflamatórias, sendo fagocitadas por macrófagos e neutrófilos nos locais de inflamação e maior interação com a camada de muco nos tecidos inflamados (GAMBOA et al., 2015).

Partículas em escala nanométrica têm maior reatividade e maior área de superfície (KHAN; SAEED; KHAN, 2019) e por isso, têm maior absorção no local inflamado do cólon (COLLNOT; ALI; LEHR, 2012; LAI; WANG; HANES, 2009; SCHMIDT et al., 2013; VISCIDO et al., 2014) em comparação com partículas de tamanho micro (BAJKA; RIGBY, 2015; IWAO et al., 2018).

Isso resulta em maiores concentrações de fármaco no cólon inflamado com ação mais prolongada do que aquelas obtidas com os sistemas de liberação convencionais, levando a maior eficácia, redução dos efeitos colaterais sistêmicos, redução da dose e, consequentemente melhor adesão do paciente ao tratamento (VISCIDO et al., 2014).

## 4.2 Polímeros naturais para liberação de compostos bioativos no cólon nas DII

### 4.2.1 Quitosana

A quitosana (Figura 5) é um polissacarídeo hidrofílico catiônico obtido da desacetilação alcalina da quitina, encontrado principalmente em exoesqueletos de crustáceos, e tem grande potencial para aplicações farmacêuticas (GAUDIO et al., 2017; GONSALVES; ARAÚJO, 2011; TU et al., 2016). Possui diversas propriedades, entre elas biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixa toxicidade, baixa imunogenicidade, atividade antiinflamatória e imunomoduladora e mucoadesividade. As propriedades mucoadesivas da quitosana são importantes para prolongar o tempo de residência gastrointestinal do ativo (AHMAD et al., 2017; FONG; HOEMANN, 2017).

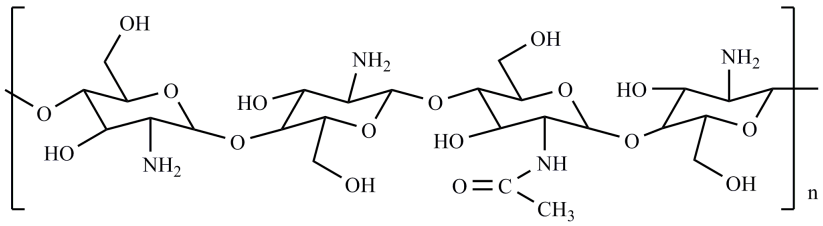



**Figura 5.** Estrutura da Quitosana (autoria própria)

Além de ter um baixo custo de produção e a capacidade de melhorar o transporte paracelular e transcelular no epitélio da mucosa, a quitosana é resistente à degradação enzimática do trato gastrointestinal superior, tem propriedades sensíveis ao pH e suas nanopartículas carregadas positivamente podem abrir as junções epiteliais intestinais fechadas, tornando o polímero um vetor potencial de fármaco especificamente para o cólon inflamado (BENABID; ZOUAI, 2016; URBANSKA; KARAGIANNIS; AU, 2016; WU et al., 2014).

Tang et al. (TANG et al., 2018b) desenvolveram um sistema de liberação sustentada de mesalazina (MSZ) através de sua complexação com hidroxipropil-β-ciclodextrina (HP-β-CD) carregada em nanopartículas de quitosana (NP-CS) e demonstrou que NP-CS-MSZ / HP-β-CD exibiu maior liberação sustentada de MSZ quando comparada com MSZ livre, além de inibir mais fortemente (2 vezes mais) a produção de NO, PGE2 e IL-8 nas células HT-29, indicando que os NPs são excelentes transportadores de mesalazina para o cólon, o que aumentará seu efeito antiinflamatório. Iglesias et al (IGLESIAS et al., 2019a) desenvolveram nanopartículas de quitosana para entregar resveratrol (ativo com atividades antioxidantes e antiinflamatórias) ao cólon. Em condições simuladas, o resveratrol foi liberado dessas nanopartículas em um período de 48h (veja outros estudos na Tabela 1).

A quitosana modificada também é utilizada na vetorização de fármacos ao cólon. A lectina do tipo galacto de macrófagos (MGL) na superfície dos macrófagos é expressa em grandes quantidades quando ocorre inflamação. Portanto, quitosana galactosilada (GC) (HUANG; GUO; GUI, 2018) ou quitosana trimetilgalactosilada (CHENG; TANG; YIN, 2015; ZHANG; TANG; YIN, 2013) usa a afinidade da lectina para se ligar à galactose para transmitir ativos direcionados ao cólon inflamado.

Dois estudos foram encontrados usando nanopartículas à base de quitosana com fucoidana. Wu et al. (WU et al., 2014) demonstram que nanopartículas à base de quitosana e fucoidana podem ser úteis para a administração local de berberina para restaurar a função de barreira epitelial intestinal danificada e otimizar seu efeito inflamatório quando comparado com sua forma livre em células Caco-2/células RAW264.7. Lee e Huang (LEE; HUANG, 2019) demonstraram que nanopartículas de quitosana/fucoidana distribuíram proteína de membrana de casca de ovo solúvel em células epiteliais intestinais lesadas induzidas por LPS, onde exerceu seu efeito imunomodulador. As NPs são gastrorresistentes e liberam seu conteúdo no meio intestinal.

Fucoidan é um polissacarídeo aniônico extraído de algas marrons sulfatadas, usado em vez de alginato para formar NPs com quitosana. Exibem efeitos imunomoduladores, levando à supressão da produção de citocinas inflamatórias nas células Caco-2/RAW264.7, melhorando a função da barreira intestinal pela regulação positiva da proteína de junção claudina-1(IRAHA; CHINEN; HOKAMA, 2013; TANOUE et al., 2008).

### 4.2.2 Alginato

O alginato (Figura 6) é um polissacarídeo aniônico derivado de algas marrons e fontes bacterianas. É considerado um polímero biosseguro, mucoadesivo, biodegradável, com baixa toxicidade e baixa imunogenicidade (PARIHAR et al., 2017). Esses polímeros são gastro-resistentes e podem interagir com a mucosa através de seus grupos hidroxila, carboxila e amina livres, desenvolvendo interações bioadesivas. (KULKARNI; BUTTE; RATHOD, 2012; LEE; MOONEY, 2012; RIVA et al., 2013).

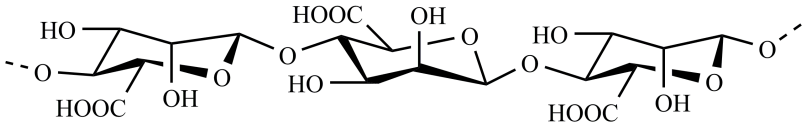



**Figura 6.** Estrutura do Alginato (autoria própria)

O alginato e a quitosana são polissacarídeos amplamente estudados como veículos para a administração oral de fármacos ao cólon. (LAROUI et al., 2014) Encapsulou TNFα siRNA em nanopartículas sintéticas revestidas com alginato e quitosana (hidrogéis) (7:3 v/v) para liberação no lúmen do cólon, à medida que são degradados em pH 5 ou 6, que é o pH do cólon sob estados inflamado e não inflamado, respectivamente, e observaram otimização dos parâmetros antiinflamatórios na colite induzida por sulfato de dextrana de sódio (DSS) 3% em camundongos. Vários outros estudos mostram o uso desses polímeros de forma complementar devido às suas respostas opostas a condições extremas de pH gastrointestinal. (LAROUI et al., 2010b, 2014; RIVA et al., 2013; RIVERA et al., 2015; XIAO et al., 2014, 2017). Ambos os polímeros são mucoadesivos, biodegradáveis e não tóxicos (GAMBOA et al., 2015; SABRA; CLIVE; BILLA, 2019) (Table 1).

### 4.2.3 Àcido Hialurônico

O ácido hialurônico (HA) (Figura 7) é um polissacarídeo polianiônico biocompatível abundante na matriz extracelular e fluidos sinoviais de várias fontes, como origens microbianas (por exemplo, cepas de *estreptococos*) e origens animais (por exemplo, humor vítreo bovino e cordão umbilical humano) HA se liga especificamente à glicoproteína CD44, que é superexpressa na superfície das células epiteliais do cólon e macrófagos em tecidos de

colite ulcerativa (VAFAEI et al., 2016; XIAO et al., 2017). Assim, HA é um veículo interessante para a administração de fármacos direcionadas ao cólon no tratamento da colite ulcerativa (ALMEIDA et al., 2014; WANG et al., 2013; XIAO et al., 2017).

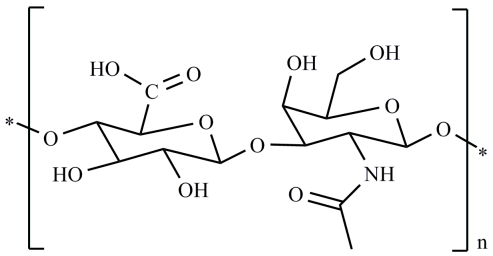



**Figura 7.** Estrutura do Ácido Hialurônico (autoria própria)

Xiao et al (XIAO et al., 2016) forneceu siRNA CD98 (silenciamento do RNA do antígeno de superfície associado à ativação de linfócitos - CD98) juntamente com curcumina (antiinflamatório) ao cólon, por meio de nanopartículas de HA (NP-HA), protegendo a camada mucosa e aliviando a inflamação na colite ulcerativa, in vitro e in vivo. Li et al (LI et al., 2018) usaram nanopartículas de sílica porosa funcionalizadas com HA para unir hidrogel responsivo a enzimas e um polímero sensível ao pH, gerando um veículo estruturado hierárquico (nano-em-nano-em-micro) com propriedades programadas para superar completamente e sequencialmente os vários obstáculos para eficiente liberação de fármacos em áreas inflamadas do intestino. Vafaei et al (VAFAEI et al., 2016) desenvolveram nanopartículas de HA (NP-HA) onde a budesonida (BDS) foi transportada para o cólon inflamado. Xiao et al (XIAO et al., 2017) carregou o tripeptídeo KPV em nanopartículas funcionalizadas com HA embebido em hidrogel de quitosana/alginato. Boni et al. (BONI et al., 2018) demonstraram que a permeabilidade intestinal do metotrexato (MTX) é modulada pela complexação da quitosana nanoestruturada (CS) e polieletrólitos HA (Tabela 1).

### 4.2.4 Inulina

A inulina (Figura 8) é um polissacarídeo hidrofílico biocompatível, não tóxico. Consiste em cadeias polidispersas lineares de ß (2,1) frutano, nas quais as unidades de frutose estão ligadas por ligações glicosídicas [ß (2,1)] e a unidade de glicose está conectada em sua extremidade redutora à cadeia de frutose por uma ligação α (2,1). A presença de ligações ß (2,1) na inulina impede sua degradação na parte superior do trato gastrointestinal (ZHANG X

et al., 2015). Essas propriedades tornam a inulina um potencial candidato vetorizador de fármacos ao cólon (GARG et al., 2018; JAIN et al., 2018; MEISSNER; LAMPRECHT, 2008; SHIVHARE et al., 2018).

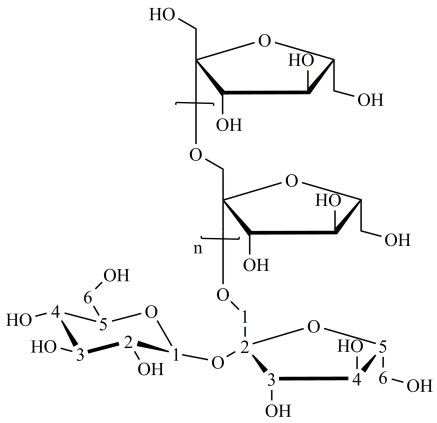


**Figura 8.** Estrutura da inulina (autoria própria)

Sun et al (SUN et al., 2018) desenvolveram nanopartículas com base em um polímero de inulina anfifílico com 4-aminotiofenol (ATP) enxertado em carboximetilinulina (CMI) carregando budesonida, demonstrando que NPs sensíveis a redox/pH podem ser usados para direcionar ingredientes ativos para redox/cólon de pH para o tratamento de DII. Shivhare et al (SHIVHARE et al., 2018) desenvolveram nanoestruturas autoassociadas do conjugado inulina-peptídeo anfifílico para carregar um ornidazol, provando ser um sistema útil para a liberação de fármacos no cólon.

### 4.2.5 Amido

O amido (Figura 9) é um polissacarídeo natural formado por amilose e amilopectina. É a principal forma de reserva de carboidratos em plantas verdes, presente principalmente em sementes e órgãos subterrâneos. Vários amidos são reconhecidos para uso farmacêutico, como milho, arroz, trigo e batata (GONSALVES; ARAÚJO, 2011; IRAHA; CHINEN; HOKAMA, 2013). O amido tem sido utilizado na administração de fármacos e biocatalisadores, devido às suas vantagens, como melhora da solubilidade e estabilidade dos fármacos, biodegradabilidade, biocompatibilidade e estabilidade de armazenamento. Ubeyitogullari et al (UBEYITOGULLARI; CIFTCI, 2017) desenvolveu aerogéis de amido nanoporoso (NSAs)

para formar nanopartículas contendo fitosterol para melhorar sua solubilidade/ biodisponibilidade. Saboktakin et al (SABOKTAKIN et al., 2011), sintetizaram nanopartículas de quitosana-carboximetilamido (NP CS-CMS) como um sistema de liberação de mesalazina (5-ASA) ao cólon.

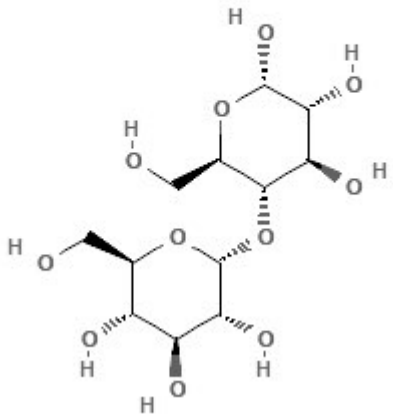


**Figura 9.** Estrutura do amido (autoria própria)

### 4.2.6 Ciclodextrina

As ciclodextrinas (CD) (Figura 10) são oligossacarídeos macrocíclicos, resultantes da degradação do amido pela ação da alfa-amilase ciclodextrina glicosiltransferase (CGTase), produzida pelo microrganismo *Bacillus macerans*. Eles são biodegradáveis, não imunogênicos e são amplamente utilizados na indústria biofarmacêutica para melhorar as propriedades físico-químicas e farmacodinâmicas dos fármacos, incluindo solubilidade, liberação, biodisponibilidade, estabilidade e redução da toxicidade (CRYAN SA et al., 2004a, 2004b; MCMAHON A et al., 2008).

Eles são caracterizados por uma forma cônica, que consiste em uma superfície externa hidrofílica e uma cavidade hidrofóbica. As propriedades de formação únicas da cavidade interna hidrofóbica dos CDs podem facilitar a funcionalização com grupos adicionais por meio de ligações não covalentes se combinados com porções hidrofóbicas capazes de serem incluídas na cavidade de CD (DAVIS, 2009). DCs exibem alta eficiência de transfecção em uma variedade de células, incluindo células epiteliais intestinais (O'MAHONY AM et al., 2012) e não são hidrolisados nem absorvidos pelo estômago e intestino delgado, facilitando a liberação no cólon (KUSHWAHA, 2014).

O'Neil et al (O'NEILL et al., 2013) avaliaram a adequação de um CD catiônico anfifílico para transferência de genes intestinais, com foco particular na superação de barreiras extracelulares. O'Neil et al (O'NEILL et al., 2011) avaliaram a captação e transfecção de células Caco-2 indiferenciadas (carcinoma de cólon humano) por nanocomplexos CD-DNA solúveis em água para terapia gênica de inflamações intestinais.

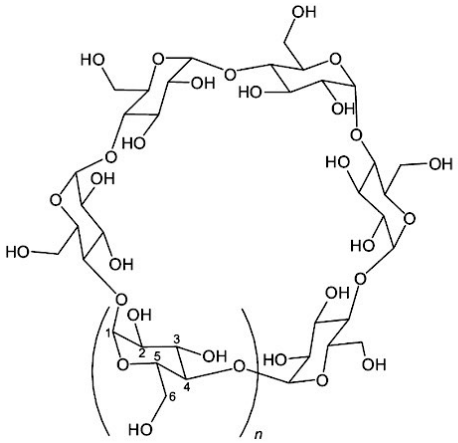


**Figura 10.** Estrutura da ciclodextrina (SHAHIWALA, 2019)

### 4.2.7 Goma Xantana

A goma xantana (Figura 11) é um polissacarídeo hidrofílico de alto peso molecular produzido pela fermentação da bactéria gram-negativa *Xanthomonas campestris*. Devido à presença de grupos ácido glucurônico e ácido pirúvico na cadeia lateral, possui caráter aniônico. É um polímero biodegradável e atóxico, um espessante para formulações e apresenta alta especificidade para o cólon devido à sua estabilidade independente do pH e degradação dependente da microbiota colônica (GARG et al., 2018; KHANDELWAL; AHLAWAT; SINGH, 2012)

Mutalik et al (MUTALIK et al., 2016) desenvolveu nanopartículas, à base de goma xantana enxertada com poliacrilamida, para o encapsulamento da curcumina. Descobriu-se que a liberação desse flavonóide das nanopartículas é dependente da microflora intestinal (pH 6,8 e 7,2), demonstrando uma capacidade significativamente maior de reduzir a inflamação do cólon (em uma colite induzida por ácido acético em ratos) do que a curcumina livre.

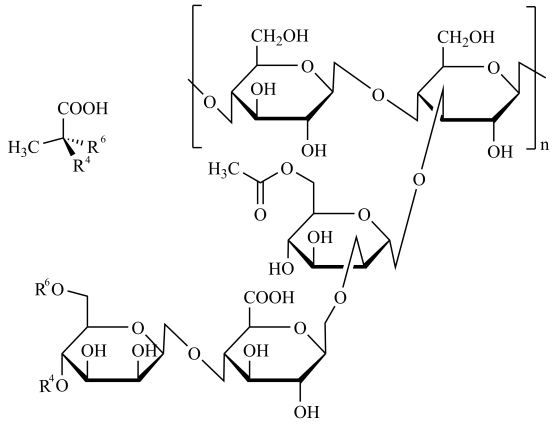


**Figura 11**. Estrutura da goma xantana (autoria própria)

### 4.2.8 Gelatina

A gelatina (Figura 12) é um polímero protéico, obtido por meio da hidrólise parcial do colágeno, originado da pele e do tecido conjuntivo de bovinos. Biodegradável, biocompatível, não tóxico e fácil de reticular e modificar quimicamente (JAHANSHAHI; BABAEI, 2008).

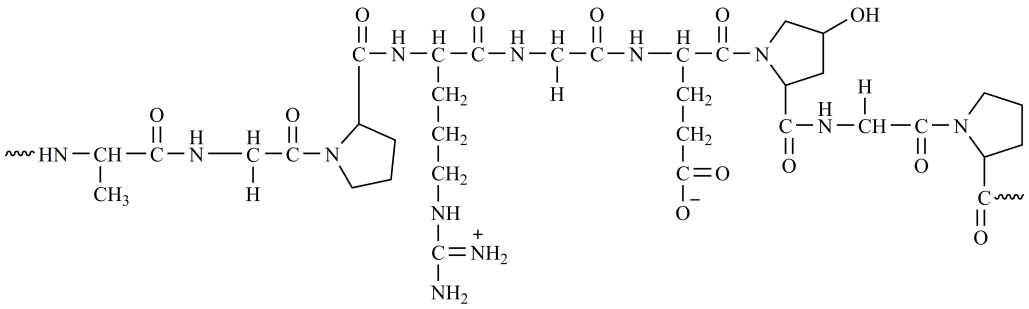


Figura 12. Estrutura da gelatina (autoria própria)

Nanopartículas de gelatina são degradadas por enzimas intestinais, incluindo a lipase. Uma vez liberadas, as nanopartículas podem ser endocitadas pelas células do lúmen intestinal para fornecer a liberação adequada do fármaco. Bhavsar and Amiji (BHAVSAR; AMIJI, 2008) demonstraram o uso de sistema oral de nanopartículas em microesferas (NiMOS) para liberação terapêutica de DNA codificador de IL-10 em nanopartículas de gelatina tipo B

encapsuladas em uma matriz de microesferas de poli epsilon-caprolactona em um modelo de colite aguda induzida por TNBS em camundongos.

### 4.2.9 Albumina

A albumina sérica humana (HSA) é a proteína mais abundante no plasma e contribui para a manutenção da pressão osmótica, do pH plasmático e do efeito donnan nas capilaridades. É também uma molécula atraente e promissora para a entrega de medicamentos por ser biodegradável, não tóxica e não imunogênica (FANALI et al., 2012). Zhang et al (ZHANG; LANGER; TRAVERSO, 2017) relataram que a sensibilidade de HSA à proteólise por várias enzimas diferentes foi suprimida por nanopartículas de HSA preparadas por uma dessolvatação técnica na qual o sítio ativo para degradação enzimática de HSA foi internalizado. Assim, o NP-HSA pode ser útil para a administração de fármacos a locais inflamados no cólon. Foram desenvolvidas nanopartículas de albumina sérica humana para transportar 5-ASA (NP-HSA-5-ASA) tratando colite induzida por sulfato de sódio de dextrano (DSS) em camundongos por via oral e demonstrado que o grupo tratado por via oral com NP-HSA-5-ASA contendo um milésimo da dose de 5-ASA (75μg/kg) mostrou uma redução no índice de atividade da doença e a relação peso/comprimento do cólon foi semelhante ao do grupo 5-ASA (75mg/kg), devido a maior especificidade para MPO superexpresso no cólon inflamado, indicando que o efeito terapêutico da formulação foi otimizado (IWAO et al., 2018).

Neste estudo observamos que, com exceção da gelatina e da albumina, que são polímeros protéicos, todos os polímeros naturais desenvolvidos nos sistemas nanoestruturados analisados neste estudo são polissacarídeos (carboidratos). Eles têm propriedades que impedem a liberação prematura de drogas no intestino delgado e estômago e favorecem a degradação seletiva no cólon (KHARE et al., 2020). Isso se deve principalmente às propriedades biodegradáveis, biocompatíveis e mucoadesivas, ideais para direcionar fármacos para o cólon inflamado nas DII (SABOKTAKIN et al., 2011; VAFAEI et al., 2016).

Os polissacarídeos possuem aglomerados hidrofílicos em suas cadeias, como hidroxilas, carboxilas e amino que podem formar ligações não covalentes com tecidos

biológicos, especialmente o epitélio e as membranas mucosas, proporcionando mucoadesão, que prolonga o tempo de permanência no cólon levando à liberação controlada do fármaco e aumentar a absorção (LIU; JIAO, 2008). Devido a uma camada de muco mais espessa e motilidade reduzida, o cólon é geralmente mais adequado para mucoadesão de sistemas de vetorização de fármacos em comparação com o estômago e o intestino delgado (SABRA; CLIVE; BILLA, 2019). A quantidade significativa de polissacaridases no cólon humano também favorece a liberação seletiva de fármacos revestidos com polissacarídeo naquele local (FREIRE et al., 2006b).

O cólon é colonizado por um grande número de microrganismos: *Bacteroides fecalis* e *bifidobactérias* são predominantes, enquanto *Clostridia, enterobactérias e lactobacilos* anaeróbios são comparativamente menos significativos. Este metabolismo bacteriano é útil para promover a liberação específica de fármacos no cólon por revestimento com polímeros biodegradáveis e é preferível para prevenir complicações com deposição de longo prazo de nanopartículas ou qualquer componente residual dentro do tecido inflamado (FREIRE et al., 2006c; GARG et al., 2018).

## 5. Considerações Finais

Todos os polímeros naturais utilizados na produção dos sistemas nanoestruturados analisados neste estudo são polissacarídeos, com exceção da gelatina e da albumina, que são polímeros de proteínas. Isso se deve ao fato dos polissacarídeos possuírem propriedades que impedem a liberação prematura dos fármacos no estômago e intestino delgado e favorecem a degradação seletiva no cólon. Os polissacarídeos também são biodegradáveis e biocompatíveis, ideais para direcionar fármacos para o cólon inflamado nas DII.

Além disso, os polissacarídeos possuem aglomerados hidrofílicos em suas cadeias, como hidroxilas, carboxilas e amino que podem formar ligações não covalentes com tecidos biológicos, principalmente com o epitélio e membranas mucosas, proporcionando mucoadesão, o que prolonga o tempo de residência no cólon, levando para liberação

controlada e maior absorção de drogas. A quantidade significativa de polissacaridases no cólon humano também favorece a liberação seletiva de fármacos revestidos com polissacarídeos, tornando os nanossistemas obtidos com polissacarídeos uma boa opção para otimizar o tratamento da DII por via oral.

Os polímeros naturais mais citados na produção de nanocarreadores para o tratamento de DII foram a quitosana e o alginato. A quitosana é resistente à degradação no intestino delgado, o alginato é gastrorresistente e, juntos, formam hidrogéis que resistem a vários obstáculos gastrointestinais para levar drogas ao cólon. Embora os polímeros citados sejam os mais encontrados em trabalhos publicados, outros polímeros naturais, como a zeína e a goma do caju, têm sido amplamente utilizados na produção de nanossistemas para liberação oral de fármacos e apresentam excelente potencial para serem testados no tratamento da DII.

Este estudo mostrou que existe um grande interesse científico em relação aos polímeros naturais nanoestruturados usados para otimizar o tratamento de doenças inflamatórias intestinais, e um interesse tecnológico pequeno e recente dado o número muito pequeno de patentes relatadas neste estudo. Vale ressaltar que devido aos novos avanços da nanotecnologia, as publicações no campo científico e tecnológico ainda são recentes.

**Financiamento:** CAPES e CnPQ
**Materiais Suplementares:** Estratégia de Pesquisa (S1)
**Conflitos de interesse:** "Os autores declaram não haver conflito de interesses"

**Referências**

AHMAD, M. et al. Chitosan centered bionanocomposites for medical specialty and curative applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 529, p. 200–217, 2017.

ALMEIDA, P. . et al. Amine-modified hyaluronic acid-functionalized porous silicon nanoparticles for targeting breast cancer tumors. **Nanoscale**, v. 6, p. 10377–10387, 2014.

BAHADORI, F. et al. Synthesis and engineering of sodium alginate/inulin core-shell nano-

hydrogels for controlled-release oral delivery of 5-ASA. **Organic Communications**, v. 12, n. 3, p. 132–142, 2019.

BAJKA, B. .; RIGBY, K. . Macierzanka, A.R. Mackie, The influence of small intestinal mucus structure on particle transport ex vivo. **Colloids Surf. B. Biointerfaces**, v. 135, p. 73–80, 2015.

BENABID, F. Z.; ZOUAI, F. Natural polymers: Cellulose, chitin, chitosan, gelatin, starch, carrageenan, xylan and dextran. **Alger. J. Nat. Prod**, v. 4, p. 348–357, 2016.

BHAVSAR, M. D.; AMIJI, M. M. Oral IL-10 gene delivery in a microsphere-based formulation for local transfection and therapeutic efficacy in inflammatory bowel disease. **Gene Therapy**, v. 15, n. 17, p. 1200–1209, 2008.

BONI, F. I. et al. Mucoadhesive nanostructured polyelectrolytes complexes modulate the intestinal permeability of methotrexate. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 111, n. June 2017, p. 73–82, 2018.

CASTANGIA, I. et al. Therapeutic efficacy of quercetin enzyme-responsive nanovesicles for the treatment of experimental colitis in rats. **Acta Biomaterialia**, v. 13, p. 216–227, 2015.

CHENG, W.; TANG, C.; YIN, C. Effects of particle size and binding affinity for small interfering RNA on the cellular processing, intestinal permeation and anti-inflammatory efficacy of polymeric nanoparticles. **The journal of gene medicine**, v. 17, p. 244–256, 2015.

CHU, X. et al. Overexpression of microRNA-495 improves the intestinal mucosal barrier function by targeting STAT3 via inhibition of the JAK/STAT3 signaling pathway in a mouse model of ulcerative colitis,. **Path- Res and Practice**, v. 214, p. 151–162, 2018.

COCO, R. et al. Drug delivery to inflamed colon by nanoparticles: Comparison of different strategies. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 440, n. 1, p. 3–12, 2013.

COLLNOT, E. M.; ALI, H.; LEHR, C. M. Nano- and microparticulate drug carriers for targeting of the inflamed intestinal mucosa. **Journal of Controlled Release**, v. 161, n. 2, p. 235–246, 2012.

CRYAN SA, A. et al. Transfection of cells with polycationic cyclodextrin vectors. **EUR. J.**

**Pharm. Sci**, v. 21, p. 625 – 633, 2004a.

CRYAN SA, R. et al. Cationic amphiphilic cyclodextrin as gene delivery vectors. **J. Drug Del. Sei. Technol**, v. 14, p. 57 – 62, 2004b.

DAS, S.; DESHMUKH, R.; JHA, A. K. Role of Natural Polymers in the Development of Multiparticulate Systems for Colon Drug Targeting. **Systematic Reviews in pharmacy**, v. 1, 2010.

DAVIS, M. . The first targeted delivery of siRNA in humans via a self-assembling, cyclodextrin polymer-based nanoparticle: from concept to clinic. **Mol. Pharm**, v. 6, p. 659–668, 2009.

FANALI, G. A. et al. Human serum albumin: From bench to bedside. **Mol. Aspects Med**, v. 33, p. 209–290, 2012.

FONG, D.; HOEMANN, C. D. Chitosan immunomodulatory properties: perspectives on the impact of structural properties and dosage. **Future Sci OA**, v. 4, 2017.

FREIRE, A. C. et al. Liberação específica de fármacos no cólon por via oral. II - Tipos de sistemas utilizados. **Revista Brasileira de Ciencias Farmaceuticas/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 3, p. 337–355, 2006a.

FREIRE, A. C. et al. Liberação específica de fármacos para administração no cólon por via oral. I - O cólon como local de liberação de fármacos. **Revista Brasileira de Ciencias Farmaceuticas/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 3, p. 319–335, 2006b.

GAMBOA, A. et al. Spray Freeze-Drying as an Alternative to the Ionic Gelation Method to Produce Chitosan and Alginate Nano-Particles Targeted to the Colon. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 104, n. 12, p. 4373–4385, 2015.

GARG, L. K. et al. Review on natural polymers : A carrier for colon-targeted drug delivery approach. v. 12, n. 5, 2018.

GAUDIO, C. et al. Natural polymeric microspheres for modulated drug delivery. **Materials Science and Engineering C**, v. 75, p. 408–417, 2017.

GONSALVES, A. A.; ARAÚJO, C. R. M. Diferentes estratégias para a reticulação de quitosana. **Química Nova**, v. 34, p. 1215–1223, 2011.

GUO, J.; JIANG, X.; GUI, S. RNA interference-based nanosystems for inflammatory bowel disease therapy. **Int. J. Nanomedicine**, v. 11, p. 5287–5310, 2016.

HUANBUTTA, K. et al. Application of multiple stepwise spinning disk processing for the synthesis of poly(methyl acrylates) coated chitosan-diclofenac sodium nanoparticles for colonic drug delivery. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 3–4, p. 303–311, 2013.

HUANG, Y.; GUO, J.; GUI, S. Orally targeted galactosylated chitosan poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticles loaded with TNF-α siRNA provide a novel strategy for the experimental treatment of ulcerative colitis. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 125, n. October, p. 232–243, 2018.

IGLESIAS, N. et al. Nanostructured Chitosan-based biomaterials for sustained and colon-specific resveratrol release. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 2, 2019.

IRACHE, J. . et al. Nanomedicine: Novel approaches in human and veterinary therapeutics. Veterinary. **Veterinary Parasitology**, v. 180, p. 47–71, 2011.

IRAHA, A.; CHINEN, H.; HOKAMA, A. Fucoidan enhances intestinal barrier function by upregulating the expression of claudin-1. **World J Gastroenterol**, v. 19, p. 5500–5507, 2013.

IWAO, Y. et al. Inflamed site-specific drug delivery system based on the interaction of human serum albumin nanoparticles with myeloperoxidase in a murine model of experimental colitis. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 125, n. January, p. 141–147, 2018.

JAHANSHAHI, M.; BABAEI, Z. Nanopartículas de proteínas: Um sistema único como veículo de entrega de drogas. **Afr J Biotechnol.**, v. 7, p. 4926–34, 2008.

JAIN, A. et al. Beta carotene-loaded zein nanoparticles to improve the biopharmaceutical attributes and to abolish the toxicity of methotrexate: a preclinical study for breast cancer. **Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology**, v. 46, n. sup1, p. 402–412, 2018.

JEONG, D. Y. et al. Induction and maintenance treatment of inflammatory bowel disease: A comprehensive review. **Autoimmunity Reviews**, v. 18, n. 5, p. 439–454, 2019.

KHAN, I.; SAEED, K.; KHAN, I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 12, n. 7, p. 908–931, 2019.

KHANDELWAL, M.; AHLAWAT, A.; SINGH, R. Polysaccharides and natural gums for colon drug delivery. **The Pharma Innovation**, v. 1, p. 8–12, 2012.

KHARE, T. et al. Natural product-based nanomedicine in treatment of inflammatory bowel disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 11, 2020.

KRIEGEL, C.; AMIJI, M. Oral TNF-α gene silencing using a polymeric microsphere-based delivery system for the treatment of inflammatory bowel disease. **Journal of Controlled Release**, v. 150, n. 1, p. 77–86, 2011.

KULKARNI, V.; BUTTE, K.; RATHOD, S. Natural Polymers – A Comprehensive Review. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v. 3, n. 4, p. 1597–1613, 2012.

KUMAR, J.; NEWTON, A. M. J. Rifaximin - Chitosan Nanoparticles for Inflammatory Bowel Disease (IBD). **Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery**, v. 11, n. 1, 2017.

KUSHWAHA, P. Natural polymers in colonic drug delivery. **International Journal of Natural Product Science**, v. 4, p. 1–7, 2014.

LABIB, G. Overview on zein protein: a promising pharmaceutical excipient in drug delivery systems and tissue engineering. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 15, n. 1, p. 65–75, 2018.

LAI, S. .; WANG, Y.; HANES, J. Mucus-penetrating nanoparticles for drug and gene delivery to mucosal tissues. **Adv. Drug Deliv. Rev**, v. 61, p. 158–171, 2009.

LAROUI, H. et al. Drug-Loaded Nanoparticles Targeted to the Colon With Polysaccharide Hydrogel Reduce Colitis in a Mouse Model. **Gastroenterology**, v. 138, n. 3, 2010a.

LAROUI, H. et al. Drug-Loaded Nanoparticles Targeted to the Colon With Polysaccharide Hydrogel Reduce Colitis in a Mouse Model. **Gastroenterology**, v. 138, n. 3, p. 843- 853.e2, 2010b.

LAROUI, H. et al. Functional TNFα gene silencing mediated by polyethyleneimine/TNFα siRNA nanocomplexes in inflamed colon. **Biomaterials**, v. 32, n. 4, p. 1218–1228, 2011.

LAROUI, H. et al. Fab'-bearing siRNA TNFα-loaded nanoparticles targeted to colonic macrophages offer an effective therapy for experimental colitis. **Journal of Controlled Release**, v. 186, p. 41–53, 2014.

LAROUI, H.; SITARAMAN, S. V.; MERLIN, D. **Gastrointestinal delivery of anti-inflammatory nanoparticles**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2012. v. 509

LAUTENSCHLÄGER, C. et al. PEG-functionalized microparticles selectively target inflamed mucosa in inflammatory bowel disease. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 85, n. 3 PART A, p. 578–586, 2013.

LAUTENSCHLÄGER, C. et al. Drug delivery strategies in the therapy of inflammatory bowel disease. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 71, p. 58–76, 2014.

LEE, K. .; MOONEY, D. J. Alginato: propriedades e aplicações biomédicas. **Polym Sci.**, v. 37, p. 106–126, 2012.

LEE, M. C.; HUANG, Y. C. Soluble eggshell membrane protein-loaded chitosan/fucoidan nanoparticles for treatment of defective intestinal epithelial cells. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 131, p. 949–958, 2019.

LI, W. et al. Hierarchical structured and programmed vehicles deliver drugs locally to inflamed sites of intestine. **Biomaterials**, v. 185, n. September, p. 322–332, 2018.

LIU, J. et al. Ectopic expression of SIGIRR in the colon ameliorates colitis in mice by downregulating TLR4/NF-κB overactivation. **Immunology Letters**, v. 183, p. 52–61, 2017.

LIU, Z.; JIAO, Y. ET AL. Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, p. 1650–1662, 2008.

MAYYAS, M.; REMAWI, A.-. Properties of chitosan nanoparticles formed using sulphate anions as crosslinking bridges. **Am J Appl Sci**, v. 9, p. 1091–1098, 2012.

MCMAHON A, E. et al. Cyclodextrin gene vectors: cell trafficking and the influence of lipophilic chain length. **J. Drug Del. Sei. Technol.**, v. 18, p. 303–307, 2008.

MEISSNER, Y.; LAMPRECHT, A. Alternative drug delivery approaches for thetherapy of inflammation bowel disease. **J. Pharm. Sci**, v. 97, p. 2878–2891, 2008.

MUTALIK, S. et al. Development and performance evaluation of novel nanoparticles of a grafted copolymer loaded with curcumin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 86, p. 709–720, 2016.

O'MAHONY AM, J. et al. A chemical click route for PEGylated and cationic 2-functionalized β-cyclodextrins: co-formulation opportunities for siRNA delivery. **Org. Biomol. Chem**, v. 10, p. 4954 – 4960, 2012.

O'NEILL, M. J. et al. Mechanistic studies on the uptake and intracellular trafficking of novel cyclodextrin transfection complexes by intestinal epithelial cells. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 413, n. 1–2, p. 174–183, 2011.

O'NEILL, M. J. et al. Gastrointestinal gene delivery by cyclodextrins - In vitro quantification of extracellular barriers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 456, n. 2, p. 390–399, 2013.

PALMA, E. et al. Improvement of the therapeutic treatment of inflammatory bowel diseases following rectal administration of mesalazine-loaded chitosan microparticles vs Asamax ®. **Carbohydrate Polymers**, v. 212, n. July 2018, p. 430–438, 2019.

PARIHAR, A. K. et al. Novel catalase loaded nanocores for the treatment of inflammatory bowel diseases. **Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology**, v. 45, p. 981–989, 2017.

PARK, K. T. et al. The cost of inflammatory bowel disease: an initiative from the Crohn's & Colitis Foundation. **Inflammatory bowel diseases**, v. 26, p. 1- 10., 2020.

PICHAI, M. V. .; FERGUSON, L. R. Potential prospects of nanomedicine for targeted therapeutics in inflammatory bowel disease. **World J Gastroenterol**, v. 18, p. 2895–901,

2012.

PRAJAPATI, T. K. .; PATEL, K. S. .; S., S. Natural and synthetic polymers used in Bioadhesive delivery system. **International Journal for Innovative Research in multidisciplinary field.**, v. 3, 2017.

RIBEIRO, A. J. et al. Gums' based delivery systems: Review on cashew gum and its derivatives**Carbohydrate Polymers**Elsevier Ltd, , 20 ago. 2016.

RIVA, E. R. et al. PMMA/polysaccharides nanofilm loaded with adenosine deaminase inhibitor for targeted anti-inflammatory drug delivery. **Langmuir**, v. 29, n. 43, p. 13190–13197, 2013.

RIVERA, M. C. et al. Hollow chitosan/alginate nanocapsules for bioactive compound delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 79, p. 95–102, 2015.

SAADATZADEH, A. et al. Biochemical and pathological evidences on the benefit of a new biodegradable nanoparticles of probiotic extract in murine colitis. **Fundamental and Clinical Pharmacology**, v. 26, n. 5, p. 589–598, 2012.

SABOKTAKIN, M. R. et al. Synthesis and in vitro evaluation of carboxymethyl starch-chitosan nanoparticles as drug delivery system to the colon. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 48, n. 3, p. 381–385, 2011.

SABRA, R.; CLIVE, J. R.; BILLA, N. Courier properties of modified citrus pectinate-chitosan nanoparticles in colon delivery of curcumin. **Colloid and Interface Science Communications**, v. 32, p. 100–122, 2019.

SAMPAIO, P. A. et al. Technological prospection of Morus nigra L. **Revista GEINTEC-Gestão, Inovação e Tecnologias**, v. 8, 2018.

SCHMIDT, C. et al. Nano- and microscaled particles for drug targeting to inflamed intestinal mucosa - A first in vivo study in human patients. **Journal of Controlled Release**, v. 165, n. 2, p. 139–145, 2013.

SHAHDADI SARDO, H. et al. A review on 5-aminosalicylic acid colon-targeted oral drug delivery systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 558, p. 367–379, 2019.

SHAHIWALA, A. Cyclodextrin conjugates for colon drug delivery. **Journal of Drug Delivery Science and Technology,** v. 10, p. 14–48, 2019.

SHIVHARE, K. et al. Enzyme sensitive smart inulin-dehydropeptide conjugate self-assembles into nanostructures useful for targeted delivery of ornidazole. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 106, p. 775–783, 2018.

SUN, Q. et al. Redox-sensitive nanoparticles based on 4-aminothiophenol-carboxymethyl inulin conjugate for budesonide delivery in inflammatory bowel diseases. **Carbohydrate polymers**, v. 189, p. 352–359, 2018.

TAHARA, K. et al. Oral nuclear factor-κB decoy oligonucleotides delivery system with chitosan modified poly(d,l-lactide-co-glycolide) nanospheres for inflammatory bowel disease. **Biomaterials**, v. 32, n. 3, p. 870–878, 2011.

TANG, P. et al. Dimethyl-β-cyclodextrin/salazosulfapyridine inclusion complex-loaded chitosan nanoparticles for sustained release. **Carbohydrate Polymers**, v. 156, p. 215–222, 2017.

TANG, P. et al. Mesalazine/hydroxypropyl-β-cyclodextrin/chitosan nanoparticles with sustained release and enhanced anti-inflammation activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 198, n. June, p. 418–425, 2018a.

TANG, P. et al. Mesalazine/hydroxypropyl-β-cyclodextrin/chitosan nanoparticles with sustained release and enhanced anti-inflammation activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 198, n. May, p. 418–425, 2018b.

TANOUE, T. et al. In vitro model to estimate gut inflammation using co-cultured Caco-2 and RAW264.7 cells. **Biochem. Biophys. Res. Commun**, v. 374, p. 565–569, 2008.

TU, J. et al. Chitosan nanoparticles reduce LPS-induced inflammatory reaction via inhibition of NF-κB pathway in Caco-2 cells. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 86, p. 848–856, 2016.

UBEYITOGULLARI, A.; CIFTCI, O. N. Generating phytosterol nanoparticles in nanoporous bioaerogels via supercritical carbon dioxide impregnation: Effect of impregnation conditions.

**Journal of Food Engineering**, v. 207, p. 99–107, 2017.

ULBRICH, K. et al. Targeted Drug Delivery with Polymers and Magnetic Nanoparticles: Covalent and Noncovalent Approaches, Release Control, and Clinical Studies. **Chemical Reviews**, v. 116, n. 9, p. 5338–5431, 2016.

URBANSKA, M. .; KARAGIANNIS, E. .; AU, A. . What's Next for Gastrointestinal Disorders: No Needles? **Journal of Controlled Release**, v. 221, p. 48–61, 2016.

VAFAEI, S. Y. et al. Self assembled hyaluronic acid nanoparticles as a potential carrier for targeting the inflamed intestinal mucosa. **Carbohydrate Polymers**, v. 144, p. 371–381, 2016.

VISCIDO, A. et al. Nanotechnology in the treatment of inflammatory bowel diseases. **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 8, n. 9, p. 903–918, 2014.

WANG, Y. et al. Current Hydrogel Solutions for Repairing and Regeneration of Complex Tissues. **Current medicinal chemistry**, 2013.

WU, S. J. et al. Delivery of berberine using chitosan/fucoidan-taurine conjugate nanoparticles for treatment of defective intestinal epithelial tight junction barrier. **Marine Drugs**, v. 12, n. 11, p. 5677–5697, 2014.

WU, Y. et al. A PepT1 mediated medicinal nano-system for targeted delivery of cyclosporine A to alleviate acute severe ulcerative colitis. **Biomaterials Science**, v. 7, n. 10, p. 4299–4309, 2019.

XIAO, B. et al. Nanoparticles with surface antibody against CD98 and carrying CD98 small interfering RNA reduce colitis in mice. **Gastroenterology**, v. 146, n. 5, p. 1289- 1300.e19, 2014.

XIAO, B. et al. Combination therapy for ulcerative colitis: Orally targeted nanoparticles prevent mucosal damage and relieve inflammation. **Theranostics**, v. 6, n. 12, p. 2250–2266, 2016.

XIAO, B. et al. Orally Targeted Delivery of Tripeptide KPV via Hyaluronic Acid-Functionalized Nanoparticles Efficiently Alleviates Ulcerative Colitis. **Molecular Therapy**, v. 25, n. 7, p. 1628–1640, 2017.

YOUSHIA, J.; LAMPRECHT, A. Size-dependent nanoparticulate drug delivery in inflammatory bowel diseases. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 13, n. 2, p. 281–294, 2016.

ZHANG, J.; TANG, C.; YIN, C. Galactosylated trimethyl chitosan-cysteine nanoparticles loaded with Map4k4 siRNA for targeting activated macrophages. **Biomaterials**, v. 34, n. 14, p. 3667–3677, 2013.

ZHANG, L. et al. Polysaccharide-based micro / nanocarriers for oral colon-targeted drug delivery. v. 24, n. 7, p. 579–589, 2016.

ZHANG, M. et al. Oral delivery of nanoparticles loaded with ginger active compound, 6-Shogaol, attenuates ulcerative colitis and promotes wound healing in a murine model of ulcerative colitis. **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 12, n. 2, p. 217–229, 2018.

ZHANG, S.; LANGER, R.; TRAVERSO, G. Nanoparticulate drug delivery systems targeting inflammation for treatment of inflammatory bowel disease. **Nano Today**, v. 16, p. 82–96, 2017.

ZHANG X, Y. et al. Preparation,characterization and antibacterial activity of octenyl succinic anhydridemodified inulin,. **Int. J. Biol. Macromol.**, v. 78, p. 79–868, 2015.

ZHENG, H. et al. Preparation, characterization, and in vitro drug release behavior of 6-mercaptopurine-carboxymethyl chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 4, p. 1952–1958, 2011.

ZOHRI, M. et al. Polymeric nanoparticles: Production, applications and advantage. **IJNT**, v. 3, p. 1–14, 2009.

ZUO, L. et al. Targeting delivery of anti-TNFα oligonucleotide into activated colonic macrophages protects against experimental colitis. **Gut**, v. 59, n. 4, p. 470–479, 2010.

**Supplementary material (S1)**

**Search strategy –** PICo: Problem, Intervention, Context.

**Development of nanostructured systems using natural polymers to optimize the treatment of inflammatory bowel diseases: A prospective study**

***Articles***

| Search | Keywords | PubMed | Science | BVS | Scopus |
|---|---|---|---|---|---|
| #1 | "Inflammatory Bowel | 41593 | 93562 | 93078 | 63258 |
| #2 | "Ulcerative colitis" | 37485 | 68758 | 44203 | 64737 |
| #3 | "Crohn Disease" | 38933 | 75618 | 52697 | 77379 |
| #4 | "natural polymer" | 745 | 20656 | 10272 | 7898 |
| #5 | *Albumin* | 254001 | 663559 | 17260 | 279000 |
| #6 | *Alginate* | 18127 | 53516 | 17862 | 35741 |
| #7 | *Amylose* | 4868 | 25751 | 24303 | 14274 |
| #8 | *Carrageenan* | 11439 | 24988 | 11587 | 21121 |
| #9 | *"Cashew gum"* | 52 | 279 | 68 | 138 |
| #10 | *Cellulose* | 93549 | 388156 | 83757 | 212989 |
| #11 | *Cyclodextrin* | 20107 | 50175 | 19610 | 47709 |
| #12 | *Collagen* | 219328 | 372796 | 23583 | 286417 |
| #13 | *Chitosan* | 25595 | 72343 | 25998 | 67740 |
| #14 | *Chondroitin* | 20014 | 33202 | 29002 | 25123 |
| #15 | *Dextran* | 47098 | 148670 | 44861 | 67795 |
| #16 | *"Guar gum"* | 1667 | 9227 | 1762 | 5524 |
| #17 | *Gelatin* | 31092 | 165756 | 27667 | 53997 |
| #18 | *"Hyaluronic acid"* | 27005 | 41551 | 33457 | 44592 |
| #19 | *Inulin* | 11098 | 25155 | 10688 | 18154 |
| #20 | *Pectin* | 9773 | 42286 | 9848 | 23097 |
| #21 | *Starch* | 65310 | 199068 | 46808 | 121582 |
| #22 | *"Xanthan Gum"* | 1417 | 8389 | 1515 | 4749 |
| #23 | *Zein* | 2134 | 10048 | 1453 | 3226 |
| #24 | Nano | 66456 | 452196 | 48370 | 395355 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| #25 | #1 AND #4 | 0 | 156 | 16 | 6 |
| #26 | #2 OR #3 AND #4 | 1 | 206 | 8 | 8 |
| #27 | #1 AND #4 AND #24 | 0 | 78 | 5 | 1 |
| #28 | #2 AND #4 AND #24 | 0 | 59 | 3 | 0 |
| #29 | #3 AND #4 AND #24 | 0 | 84 | 2 | 0 |
| #30 | #2 OR #3 AND #4 AND #24 | 0 | 104 | 3 | 0 |
| #31 | #2 OR #3 AND #24 | 24 | 1337 | 134 | 50 |
| #32 | #2 AND #24 | 22 | 918 | 153 | 41 |
| #33 | #3 AND #24 | 5 | 980 | 127 | 26 |
| #34 | #2 OR #3 AND #5 AND #24 | 0 | 497 | 4 | 1 |
| #35 | #2 OR #3 AND #6 AND #24 | 0 | 200 | 3 | 0 |
| #36 | #2 OR #3 AND #7 AND #24 | 0 | 42 | 0 | 0 |
| #37 | #2 OR #3 AND #8 AND #24 | 0 | 78 | 0 | 0 |
| #38 | #2 OR #3 AND #9 AND #24 | 0 | 4 | 0 | 0 |
| #39 | #2 OR #3 AND #10 AND #24 | 0 | 220 | 0 | 0 |
| #40 | #2 OR #3 AND #11 AND #24 | 0 | 161 | 2 | 0 |
| #41 | #2 OR #3 AND #12 AND #24 | 0 | 282 | 1 | 0 |
| #42 | #2 OR #3 AND #13 AND #24 | 1 | 324 | 12 | 5 |
| #43 | #2 OR #3 AND #14 AND #24 | 0 | 66 | 0 | 0 |
| #44 | #2 OR #3 AND #15 AND #24 | 9 | 356 | 33 | 16 |
| #45 | #2 OR #3 AND #16 AND #24 | 0 | 54 | 0 | 0 |
| #46 | #2 OR #3 AND #17 AND #24 | 0 | 197 | 0 | 1 |
| #47 | #2 OR #3 AND #18 AND #24 | 0 | 131 | 2 | 0 |
| #48 | #2 OR #3 AND #19 AND #24 | 0 | 64 | 0 | 3 |
| #49 | #2 OR #3 AND #20 AND #24 | 0 | 106 | 1 | 0 |
| #50 | #2 OR #3 AND #21 AND #24 | 0 | 172 | 0 | 0 |
| #51 | #2 OR #3 AND #22 AND #24 | 0 | 36 | 0 | 0 |
| #52 | #2 OR #3 AND #23 AND #24 | 0 | 35 | 0 | 0 |

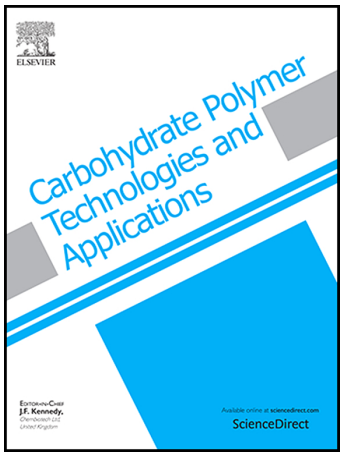
| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| #53 | #2 OR #3 AND #4 OR #5 OR #6 OR #7 OR #8 OR #9 OR #10 OR #11 OR #12 OR #13 OR #14 OR #15 OR #16 OR #17 OR #18 OR #19 OR #20 OR #21 OR #22 OR #23 | 0 | - | - | 0 |

***Patents***

| **Keywords** | **EPO** | **USPTO** | **WIPO** | **INPI** |
|---|---|---|---|---|
| *"Inflammatory bowel disease" OR "colitis" OR "Crohn disease"AND "natural polymers"* | 6293 | 951 | 8959 | - |
| *"Doença Inflamatória Intestinal"* | - | - | - | 62 |
| *"Inflammatory bowel disease" OR "colitis" OR "Crohn disease"AND "natural polymers" AND* | 0 | 0 | 0 | - |
| *""Inflammatory bowel disease" OR "colitis" OR "Crohn disease"AND "natural polymers" AND* | 0 | 0 | 0 | - |
| *"Inflammatory bowel disease" OR "colitis" OR "Crohn disease"AND "natural polymers" AND* | 15 | 10 | 66 | - |
| *"Inflammatory bowel disease" OR "colitis" OR "Crohn disease"AND "natural polymers" AND* | 5 | 4 | 11 | - |
| *"Inflammatory bowel disease" OR "colitis" OR "Crohn disease"AND "natural polymers" AND nano* | 4 | 0 | 5 | - |
| *"Inflammatory bowel disease" OR "colitis" OR "Crohn disease"AND dextran AND nano* | 0 | 0 | 0 | - |
| *"Inflammatory bowel disease" OR "colitis" OR "Crohn disease"AND Alginate AND nano* | 0 | 0 | 0 | - |
| *"Inflammatory bowel disease" OR "colitis" OR "Crohn disease"AND chitosan AND nano* | 0 | 0 | 0 | - |
| *"Inflammatory bowel disease" OR "colitis" OR "Crohn disease"AND Zein AND nano* | 0 | 0 | 0 | - |
| *"Inflammatory bowel disease" OR "colitis" OR "Crohn disease"AND Cashew gum AND nano* | 0 | 0 | 0 | - |
| *"Inflammatory bowel disease" OR "colitis" OR "Crohn disease"AND Albumin AND nano* | 0 | 0 | 0 | - |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| *"Inflammatory bowel disease" OR "colitis" OR "Crohn disease"AND Chondroitin AND nano* | 0 | 0 | 0 | - |
| *"Inflammatory bowel disease" OR "colitis" OR "Crohn disease"AND Carrageenan AND nano* | 0 | 0 | 0 | - |
| *"Inflammatory bowel disease" OR "colitis" OR "Crohn disease"AND "Cashew gum" AND nano* | 0 | 0 | 0 | - |
| *"Inflammatory bowel disease" OR "colitis" OR "Crohn disease"AND "Guar gum" AND nano* | 0 | 0 | 0 | - |
| *"Inflammatory bowel disease" OR "colitis" OR "Crohn disease"AND "Hyaluronic acid" AND nano* | 0 | 1 | 0 | - |
| *"Inflammatory bowel disease" OR "colitis" OR "Crohn disease"AND Collagen AND nano* | 0 | 0 | 0 | - |
| *"Inflammatory bowel disease" OR "colitis" OR "Crohn disease"AND Gelatin AND nano* | 0 | 0 | 0 | - |
| *"Inflammatory bowel disease" OR "colitis" OR "Crohn disease"AND Cyclodextrin AND nano* | 0 | 0 | 0 | - |
| *"Inflammatory bowel disease" OR "colitis" OR "Crohn disease"AND Pectin AND nano* | 0 | 0 | 0 | - |
| *"Inflammatory bowel disease" OR "colitis" OR "Crohn disease"AND amylose AND nano* | 0 | 0 | 0 | - |
| *"Inflammatory bowel disease" OR "colitis" OR "Crohn disease"AND Inulin AND nano* | 0 | 0 | 0 | - |
| *"Inflammatory bowel disease" OR "colitis" OR "Crohn disease"AND "Xanthan Gum" AND nano* | 0 | 0 | 0 | - |

# *Capítulo III*




# *Artigo 2*

Publicado na ***Carbohydrate Polymer Technologies and Application***

*(R*evista complementar a ***Carbohydrate Polymer*** Qualis **A1** Fator de Impacto: **10.72)**

https://doi.org/10.1016/j.carpta.2022.100265

# Nanopartículas de Goma do Cajueiro Acetilada para liberação de Mesalazina

Izabela Lima[1,2*]; Lina Moreno[2]; Sávia Dias[3]; Durcilene Silva[3]; Antônia Carla Oliveira[4]; Lamartine Soares[4]; Rayran Sousa[5]; Dalton Dittz[5]; Hercília Rolim[2]; Lívio Nunes[1]

[1] Laboratório de Inovação Tecnológica, Empreendedorismo, Medicamentos e Correlatos (LITE), Núcleo de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil; izabela.borges@hotmail.com (I.L.); liviocesar@hotmail.com (L.N.)
[2] Laboratório de Nanossistemas Farmacêuticos (NANOSFAR), Núcleo de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil; linaclaramoreno@gmail.com (L.M.); hercilia.rolim@gmail.com (H.R.)
[3] Centro de Pesquisa em Biodiversidade e Biotecnologia, Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, Piauí, Brasil; saviafld@hotmail.com (S.D.); durcileneas@gmail.com (D.S.)
[4] Núcleo de Controle de Qualidade de Medicamentos e Correlatos (NCQMC), Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil; joselamartine@hotmail.com (L.S.)
[5] Laboratório de Cancerologia Experimental (LabCâncer), Núcleo de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brasil; daltondittz@gmail.com (D.D.)

**Abstract:** Encapsulamos a mesalazina (MSZ) em nanopartículas (NP) de goma de cajueiro acetilada (GCA) a fim de melhorar sua absorção no cólon. As NPs foram sintetizados pelo método de diálise e diferentes razões polímero:fármaco (10:1, 10:2 e 10:5) foram investigadas. O NP-GCA-MSZ tinha um tamanho de 273±6,76 nm, PDI 0,10±0,02 e potencial zeta -43,2±8,15 mV. SEM demonstrou morfologia esférica. A análise de DRX mostrou que a incorporação do fármaco em estado cristalino em nanopartículas poliméricas o tornou mais estável. Estudos de liberação in vitro mostraram que a mudança para pH 6,8 aumentou a liberação para 62,08 ± 6,03%, que permaneceu em pH 7,4 e foi observada liberação sustentada de 95,61 ± 3,25%. O teste de citotoxicidade *in vitro* demonstrou que NP-GCA (com ou sem MSZ) não apresentou citotoxicidade basal em cel CT26 até uma concentração de 131 µg/mL. O NP-GCA mostrou ser um vetor promissor para a liberação sustentada de MSZ no cólon por via oral.

**Keywords:** 5-ASA; Polímeros Naturais; Polissacarídeos; Nanoencapsulação; Colon.

## 1. Introdução

A Mesalazina (MSZ) também conhecida como ácido 5-aminossalicílico (5-ASA) (Figura 1a) é um aminossalicilato utilizado nas Doenças Inflamatórias Intestinais (DII) desde a década de 1960 para induzir remissão e manutenção, principalmente na colite ulcerativa (CU). Seu mecanismo de ação não é totalmente compreendido, mas envolve supressão de NF-kB, proteção da barreira epitelial das células T84 contra peroxinitritos, redução de radicais livres,

inibição de leucotrienos, prostaglandinas e de citocinas pró-inflamatórias (JEONG et al., 2019; PARK et al., 2020; SARDO et al., 2019; AHMAD et al., 2021).

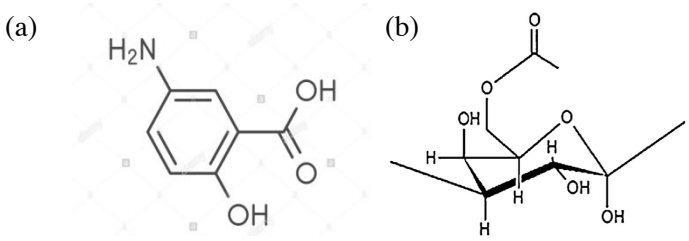



**Figura 1.** (a) Mesalazina ou 5-ASA (SARDO et al., 2019); (b) Goma do Cajueiro Acetilada (DIAS et al., 2016)

Além do alto custo, este fármaco tem como fatores limitantes ao seu uso a baixa absortividade no cólon inflamado, alta absorção sistêmica que favorece aos efeitos adversos e o alto regime de dosagem que chega a 4,8gramas/dia e dificultam a adesão ao tratamento pelos pacientes (BERENDS et al., 2019; LAU et al., 2013). Diferentes abordagens, incluindo sistemas de entrega de fármacos usando materiais dependentes de pH, dependentes do tempo e dependentes de carga e/ou biodegradáveis, foram empregadas para otimizar a entrega de 5-ASA ao cólon (HENS et al., 2017; SARDO et al., 2019).

O tamanho da formulação é inversamente proporcional à especificidade para o tecido inflamado devido a maior reatividade e a área superficial das nanoestruturas (VISCIDO et al., 2014). As nanopartículas poliméricas (NPPs) de polímeros naturais são atóxicas, biodegradáveis, possuem alta estabilidade à degradação e maior seletividade em relação ao órgão alvo quando comparadas aos sistemas de liberação convencionais (AGÜEROS et al., 2010; RAJGURU et al., 2011; INCHAURRAGA et al. ., 2015; ULBRICH et al., 2016).

A acetilação da goma do cajueiro (ACG, Figura 1b), um polissacarídeo natural extraído do exsudato da árvore *Anacardium occidentale* amplamente distribuída no nordeste do Brasil, melhora sua estrutura molecular para aplicação em sistemas nanoestruturados buscando uma liberação mais controlada do fármaco e proteção gastrointestinal (RIBEIRO et al., 2016; ARAÚJO et al., 2018). Estudos anteriores demonstram a importância do ACG na liberação controlada de fármacos como: insulina (VASCONCELOS et al., 2019), indometacina (LIMA et al., 2019), anfotericina B (LIMA et al., 2018), diclofenaco dietilamônio (DIAS et al., 2016), epiisopiloturina (RODRIGUES et al., 2019), licopeno (ANDRADES et al., 2021). O objetivo

deste estudo foi encapsular mesalazina (MSZ) em nanopartículas de goma de caju acetilada (NP-ACG), para direcioná-la ao cólon.

## 2. Metodologia

### Materiais

A mesalazina (MSZ) foi adquirida da Henri-farma, Teresina, lote 10100025. A acetona foi adquirida da Vetec; A goma de caju acetilada (ACG) foi obtida de acordo com o método de DIAS et al., 2016. A membrana de acetato de celulose [corte de peso molecular (MWCO) 12000 Da] foi adquirida da Sigma–Aldrich.

### Preparação das NP-GCA-MSZ

A síntese das nanopartículas de GCA foi realizada utilizando o método Diálise (DIAS et al., 2016). O processo de formação das NP se dá através da realização de troca de meios, e por isso esse método também pode ser chamado de deslocamento de solvente. A passagem do solvente do interior da membrana é precedida por uma perda da solubilidade do polímero, levando a formação de uma suspensão coloidal homogênea (PITOMBEIRA et al., 2015).

10mg de GCA foi dissolvida em 20 ml de acetona (Vetec) durante 15 minutos, sob agitação magnética. Para as nanopartículas de GCA carregadas com Mesalazina (NP-GCA-MSZ), a mesalazina (MSZ - adquirida na Henri-farma, Teresina, lote 10100025) foi incorporada no momento da síntese. Três proporções polímero:fármaco foram investigadas (10:1, 10:2 e 10:5).

As soluções foram dialisadas contra água ultra-pura, utilizando uma membrana de acetato de celulose (MWCO 12000 Da, Sigma Aldrich), durante 48 horas, havendo troca de água a cada 24h. A água externa foi monitorada (24 e 48h antes das trocas de água) quanto a condutividade (até que a acetona volatilize, tendo como referência a condutividade inicial da água ultra-pura) e quanto a presença de polímero ou fármaco (para certificação de que a GCA e/ou MSZ não saem da diálise durante o processo de síntese das NP) através de espectrofotômetro. A solução resultante foi liofilizada para posterior caracterização.

**Caracterização das nanopartículas**

**Tamanho, distribuição de partículas e índice de polidispersão:** Foram determinados o diâmetro médio e a distribuição das partículas realizada através de espectroscopia de Espalhamanto dinâmico da Luz (DLS), utilizando um contador de partículas a laser calibrado com suspensões padrões de látex com tamanho de partículas determinado. A amostra foi diluída com água ultrapura e a leitura foi efetuada a temperatura ambiente (20°C ± 1°C) e com um ângulo fixo de 90◦, utilizando um Zeta-Sizer SZ90 (Malvern® Instruments, Reino Unido).

**Potencial zeta:**

Para a determinação da carga superficial das nanopartículas, as amostras foram diluídas (1:10) em água ultra-pura e analisadas mediante anemometria com laser Doppler, em um analisador Zetamaster SZ90 por espalhamento eletroforético (Malvern® Instruments, UK). O potencial zeta foi expresso em Milivoltios (mV).

**Doseamento do fármaco nas nanopartículas:**

Para o doseamento do fármaco encapsulado a solução coloidal de nanopartículas de GCA contendo fármaco foram centrifugadas a 13000 rpm por 20 minutos formando um sobrenadante (fármaco livre) e um precipitado (fármaco encapsulado). O sobrenadante foi quantificado em HPLC.

**Quantificação da Mesalazina por HPLC**

A quantificação da mesalazina foi realizada de acordo com (PALMA et al., 2019) usando um aparelho de HPLC (Shimadzo A20). Uma coluna C18 (4,6 × 250 mm, partícula de 5 μm Shim-pack) para a separação cromatográfica e determinação do fármaco. Água ultra-pura (pH 5,5 modificado com tampão citrato 0,1 M) e acetonitrila (grau de HPLC) 85:15 (v/v) foram as fase móvel, previamente filtrada, fluxo de 1 ml/min, fração de injeção 20 μl e pressão de trabalho em 200gf. O detector UV/Vis foi ajustado em 300 nm. A mesalazina mostrou um tempo de retenção de 3,4 min. A curva padrão foi utilizada para quantificação da mesalazina nos diferentes meios, conforme as seguintes equações:

(1) $y = 15067x + 48855$ ($R^2$=0,9986) em HCl 0,1M pH 1.2

(2) $y = 6174,5x + 10430$ ($R^2$=0,992) em tampão pH 6.8

(3) $y = 13657x – 49653$ ($R^2$=0,9965) em tampão pH 7.4

Onde, x é a concentração de MSZ (μg/ml) e y é a área do pico. Foi observada correlação linear na concentração intervalo entre 4 e 256 μg/ml. Soluções padrão de mesalazina (400 μg/ mL nos diferentes meios [HCl 0,1M pH 1,2, solução tampão pH 6.8, e solução tampão pH 7.4 (PHARMACOPEIA, 2009)] foram utilizadas para curva padrão.

**Eficiência de Encapsulação (EE%)**

Para o cálculo da EE%, utilizou-se as seguintes equações:

(4) $Q_{total} = Q_{sobrenadante} + Q_{encapsulado}$

(5) $EE\ (\%) = (Q_{encapsulado}/Q_{total}) \times 100$

$Q_{total}$ é a quantidade total de fármaco incorporado à formulação;

$Q_{encapsulado}$ é a quantidade de fármaco encapsulado nas nanopartículas;

$Q_{sobrenadante}$ é a quantidade de fármaco livre, que não foi encapsulado nas nanopartículas.

**Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada para determinar a morfologia e as características da superfície polimérica usando o equipamento de fonte de elétrons de emissão de campo da FEI (SEM-EC), modelo FEG-250. Polímeros são sensíveis ao feixe eletrônico por isso as amostras foram previamente metalizadas com alumínio (SCHAFFAZICK et al, 2003).

**Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)**

A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) das nanopartículas em pó foram obtidas usando o espectrofotômetro Perkin Elmer Spectrum 100 GTX em pastilhas de KBr. As análises foram realizadas na região wavenumber de 4000 a 400 $cm^{-1}$, com uma resolução de 4 $cm^{-1}$ e 16 varreduras no modo de transmitância.

**Difração de raios-X (DRX)**

As amostras obtidas foram caracterizadas por difração de raios X (DRX) usando um Shimadzu Labx-XRD 600 com radiação Cu-Kα (λ = 1,5406 Å), 2θ no intervalo entre 5° e 75°, com taxa de varredura de 2° $min^{-1}$.

**Estudo da cinética de liberação *in vitro***

O perfil de liberação da MSZ a partir das Nanopartículas de GCA (NP-GCA-MSZ) foi avaliado pelo método de diálise dinâmica (DIAS et al., 2016). Resumidamente foram utilizadas membranas de diálise de acetato de celulose do tipo Cassettes® em condições *sink,* onde a concentração do fármaco é < 20% de sua solubilidade em meio solução HCl 0.1M pH 1.2 (>18mg/mL), solução tampão fosfato pH 6,8 (~3,5 mg/ml) e solução tampão fosfato pH 7.4 (~5,5mg/mL) a 37°C para evitar saturação do meio (FOPPOLI et al., 2019).

A amostra das NP-GCA-MSZ (1,5mL a 27µg/mL de fármaco) foi introduzida na membrana de acetato de celulose com MWCO 12.000 Da e dialisada contra 250 mL de meio de acordo com tempo de trânsito intestinal. Fisiologicamente: em meio gástrico (pH 1,2) nas primeiras 2 h, e posteriormente passar para meio intestinal (pH 6,8) onde permaneceu por 2-6 h e mudou para meio ileocolônico simulado (pH 7,4) (PHARMACOPEIA, 2009)] a 37°C em agitação orbital por 24h. Alíquotas de 1,5 mL foram retirados do meio em tempos determinados e a concentração da MSZ foi quantificada por HPLC como descrito anteriormente. O buffer foi reabastecido para manter o volume constante.

As quantificações a 300 nm foram convertidas na porcentagem de fármaco liberada de acordo com a curva padrão de cada meio previamente estabelecida para as quais a linearidade foi confirmada. O experimento foi realizado em triplicata e as concentrações do fármaco foram corrigidas considerando o fator de diluição.

Os parâmetros para determinar a cinética de liberação das nanopartículas foram analisados estatisticamente pelo suplemento Excel DDSolver. O modelo foi selecionado de acordo com o coeficiente de correlação ajustado ($R^2adj$).

**Estudo de citotoxicidade *in vitro* pelo método MTT**

O ensaio de MTT (Brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil tetrazolium]) procedeu conforme descrição feita por (MOSMANN, 1983). Para tanto, a linhagem celular empregada (CT26.WT, carcinoma de cólon murino) foi incubada com concentrações usuais variadas de NP-GCA e NP-GCA-MSZ foram testadas em placas de 96 poços por 72 h, a 37°C e 5% de $CO_2$ em uma densidade de 5 x $10^3$ células/poço. O controle positivo foi realizado com doxorrubicina (10 μM). Após o período de incubação, adicionaram-se às culturas, 20 mL da solução de MTT (5 mg/mL) e reincubaram-se as placas durante 4 h em estufa a 37°C e a 5% $CO_2$. Após esse período, descartou-se o sobrenadante com o meio de cultura e o precipitado foi ressuspendido em 100 mL DMSO, por 5 min, sob agitação. Em seguida, as placas foram lidas em um espectrofotômetro do tipo ELISA a 560 nm.

**Análise estatística**

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o ANOVA e o teste de Tukey. Todos os dados foram realizados em triplicata e expressos como a média ± desvio padrão, em tabelas e figuras. A significância estatística para este estudo foi considerado $p < 0,05$.

## 3. Resultados e Discussão

**Caracterização das NP-GCA-MSZ**

Foram sintetizadas nanopartículas da Goma do Cajueiro Acetilada carreando Mesalazina (NP-GCA-MSZ) através do método de diálise ou deslocamento do solvente. A confirmação da formação de nanopartículas foi dada pela presença do efeito de Tyndall (DIAS et al., 2016), caracterizada pela visualização da suspensão opalescente (Figura 2).

**Tabela 1 –** Caracterização das NP-GCA-MSZ em diversas proporções polímero-fármaco

| Formulation | **NP-ACG** | **NP-ACG-MSZ 10:1** | **NP-ACG-MSZ 10:2** | **NP-ACG-MSZ 10:5** |
|---|---|---|---|---|
| Size (nm) | 195±12.9 | 273±6.76 | 307±21.39 | 315±48.8 |
| Polydispersion Index | 0.15±0.03 | 0.10±0.02 | 0.17±0.02 | 0.3±0.02 |
| ζ Potential (mV) | -40±0.85 | -43.2±8.15 | -43.5±4.25 | -10.2±16.1 |
| Drug loaded | - | 24 µg/mL | 47 µg/mL | 120 µg/mL |
| Encapsulation Efficiency | - | 99% | 90% | 87% |

Um tamanho de partícula de 195±12,9 nm foi observado para a nanopartícula loser fármaco e a sua incorporação aumentou o tamanho para 273±6,76 nm (proporção 10:1). Resultados semelhantes foram observados por Dias et al., 2016 para NPs de Goma de Caju Acetilado contendo Diclofenaco Dietilamina. NPs apresentam cargas negativas com valores de potencial zeta fora do intervalo de instabilidade. O cólon inflamado produz grandes quantidades de proteínas carregadas positivamente, portanto, um vetor carregado negativamente favorece a entrega e absorção de fármacos no cólon inflamado (LI et al., 2018).

As relações polímero:fármaco 10:1 e 10:2 mostraram estabilidade, mas a relação 10:5 apresentou menor eficiência de encapsulamento, índice de polidispersidade aumentado para 0,3 e potencial zeta no módulo de 30 mV (-10,2), o que sugere heterogeneidade de dispersão e instabilidade coloidal . Isso provavelmente se deve à grande quantidade de carga positiva do fármaco que foi para a superfície da matriz polimérica. Procedemos a novos estudos com proporção de 10:1, pois apresentou maior eficiência de encapsulamento. A representação gráfica do tamanho e distribuição de carga é mostrada na Figura 2.

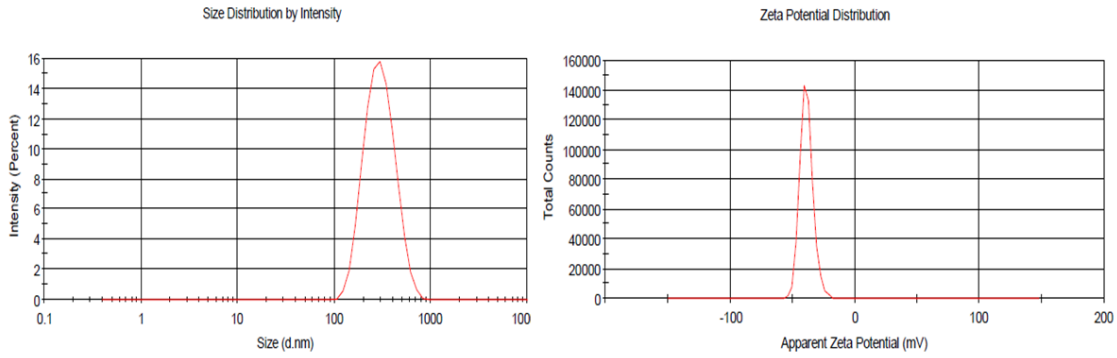



**Figura 2.** Distribuição de tamanho de partícula e potencial zeta de NP-GCA-MSZ

### Microscopia Eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma técnica eficiente no estudo da morfologia (textura, forma e tamanho) de um material. As NP-GCA-MSZ demonstraram morfologia esférica e maciça com variação de tamanho de 220 a 500nm.

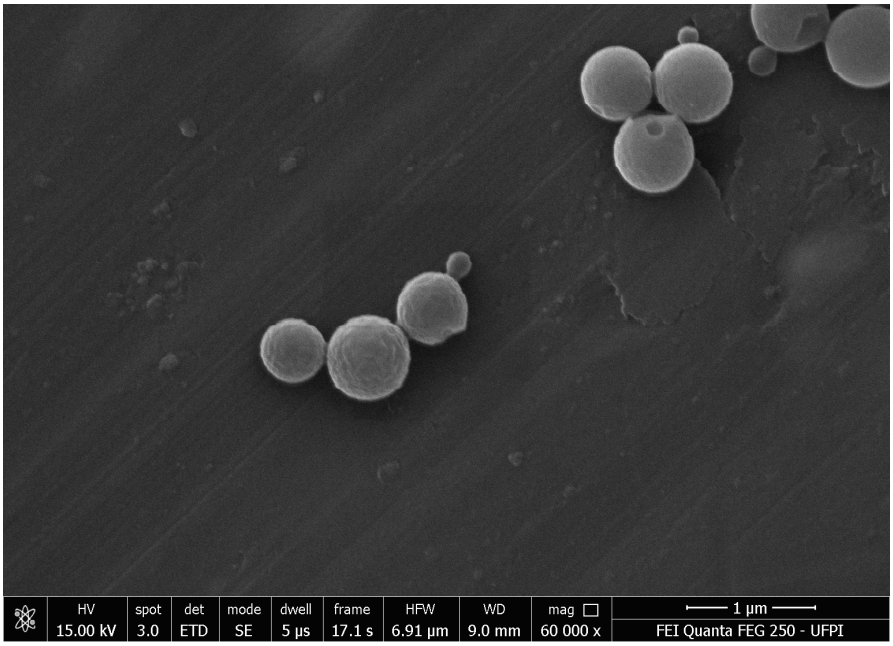



**Figura 3.** Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das NP-GCA-MSZ

**Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourrier (FTIR)**

No espectro de infravermelho da Mesalazina (MSZ) foi observada a presença das bandas que identificam os seus grupos funcionais: 3471 $cm^{-1}$ (estiramento N-H), 2557 $cm^{-1}$ (deformação $NH_2$), 1620 – 1590 $cm^{-1}$ (Deformação de N-H primária e estiramento C-N), 1246 $cm^{-1}$ (estiramento C-N), 3085 e 2978 $cm^{-1}$ (estiramento C-H aromático), 2784 $cm^{-1}$ (estiramento de OH de ácido Carboxílico), 1647 $cm^{-1}$ (estiramento C=O de ácido Carboxílico), 1192 $cm^{-1}$ (estiramento C-O de fenol), 810, 773 e 686 $cm^{-1}$ (deformação de C-H fora do plano em anéis aromáticos). Esses dados corroboram com a literatura (ALAM et al., 2019; MUTHUA & PAULRAJB, 2011; PAVIA et al., 2010; TANG et al., 2018).

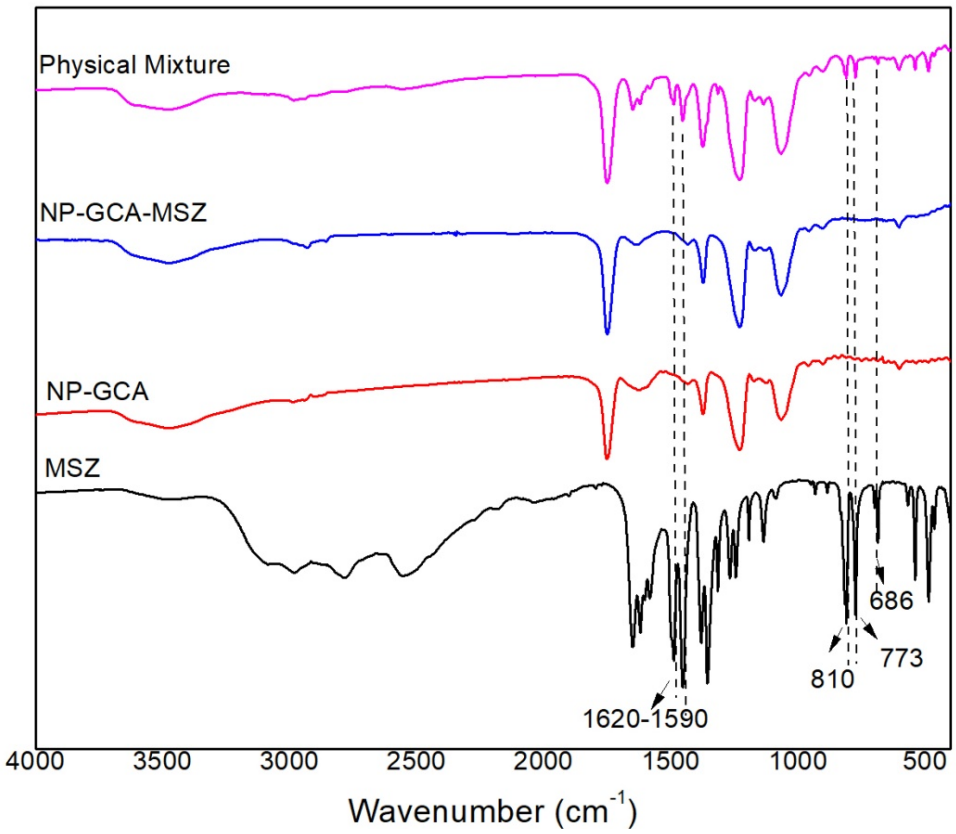



**Figura 4.** Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourrier (FTIR) da Mesalazina (MSZ), NP-GCA, NP-GCA-MSZ e Mistura Física

O espectro das NP-GCA apresentou bandas em 3640-3347 $cm^{-1}$ (estiramento OH) e 1068 $cm^{-1}$ (deformação OH) (DIAS et al., 2016; PAVIA et al., 2010). As bandas de vibração nas regiões 1752 $cm^{-1}$ (estiramento C=O de éster), 1372 e 1225 (estiramento C-O) são atribuídas ao grupo acetil da GCA (Ribeiro et al., 2016). Faz-se necessário analisar a mistura física homogeneizando o polímero com o fármaco em pó na mesma proporção de preparação das NP (10:1) para usar como controle observando a integridade dos grupos funcionais do fármaco e do polímero sem a formação de nanopartículas (CAMPOS et al., 2013). Nela foram observadas bandas vibracionais em 810, 773 e 686 $cm^{-1}$ e no intervalo 1620 – 1590 $cm^{-1}$ que indicam deformação de C-H fora do plano em anéis aromáticos e deformação de N-H primária/estiramento C-N, respectivamente, característicos da Mesalazina. Estas bandas são observadas em baixa intensidade devido a baixa proporção usada para a formulação e não foram identificadas em NP-GCA-MSZ, que não tem diferença significativa da NP-GCA, sugerindo encapsulação do fármaco (confirmada pela quantificação em HPLC) (Figura 5).

As hidroxilas presentes na estrutura desse polissacarídeo podem formar ligações não covalentes com o epitélio e as membranas mucosas, o que proporciona mucoadesividade prolongando o tempo de permanência no cólon levando à liberação controlada do fármaco e maior absorção (LIU; JIAO, 2008).

**Difração de raios-X (DRX)**

A análise DRX foi realizada para investigar o padrão de alteração da estrutura cristalina do fármaco após sua incorporação nas nanopartículas. Os padrões de DRX de MSZ, GCA, mistura física MSZ-GCA e nanopartículas NP-GCA e NP-GCA-MSZ são mostrados na Figura 5.

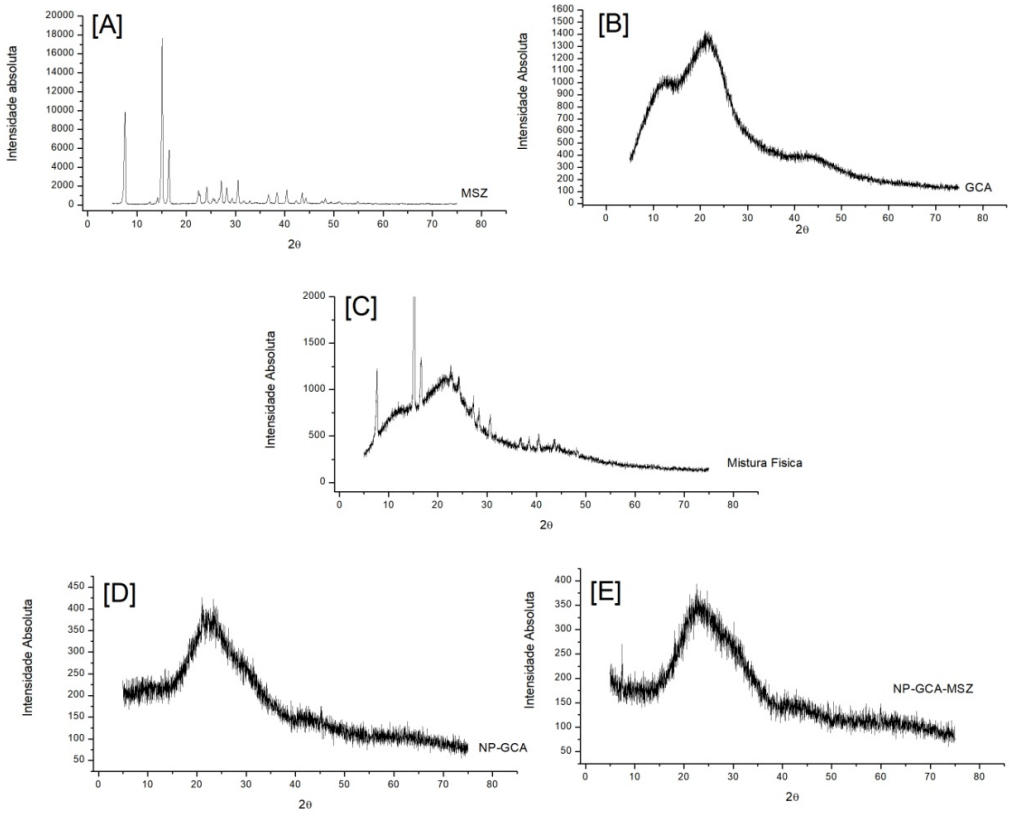



**Figura 5.** Difração de raios-X (DRX) de NP-GCA-MSZ. [A] Mesalazina, [B] GCA, [C] Mistura Física, [D] NP-GCA, [D] NP-GCA-MSZ

A mistura física foi preparada pela mistura direta do fármaco com o polímero, na mesma proporção utilizada para síntese das Nanopartículas. Como mostrado na Figura 8A, os ângulos de difração de 2θ = 7.54°, 15.12°, 16.5° podem ser considerados como os picos cristalinos característicos de MSZ. O padrão da mistura física mostrou-se como sobreposição dos padrões das duas matérias-primas (Fig. 8C), enquanto o padrão das nanopartículas mostrou apenas um pico de difração de MSZ em 7.54° (Fig. 8E), o que sugere redução na cristalinidade de MSZ (HU et al., 2012). Foi possível observar características amorfas do polímero e a incorporação do fármaco em estado cristalino em nanopartículas poliméricas torna o fármaco mais estável. A redução da cristalinidade melhora a solubilidade em água e as taxas de dissolução in vitro devido à maior energia interna, o que melhora a biodisponibilidade do fármaco (KHAN; SAEED; KHAN, 2019; UBEYITOGULLARI; CIFTCI, 2017).

**Estudo do perfil de liberação *in vitro* do fármaco**

Estudos de liberação *in vitro* das NP-GCA-MSZ foram realizados em pH 1,2, pH 6,8 epH 7,4 a 37°C para simular condições fisiológicas para ser administrada por via oral (Fig. 7). No pH 1,2, nas primeiras 2h de teste houve discreta liberação de MSZ das nanopartículas (8,4 ± 2,45%). A mudança para pH 6,8 aumentou a liberação para 62,08 ± 6,03% que se manteve em pH 7,4, onde observa-se liberação sustentada 95,61 ± 3,25%.

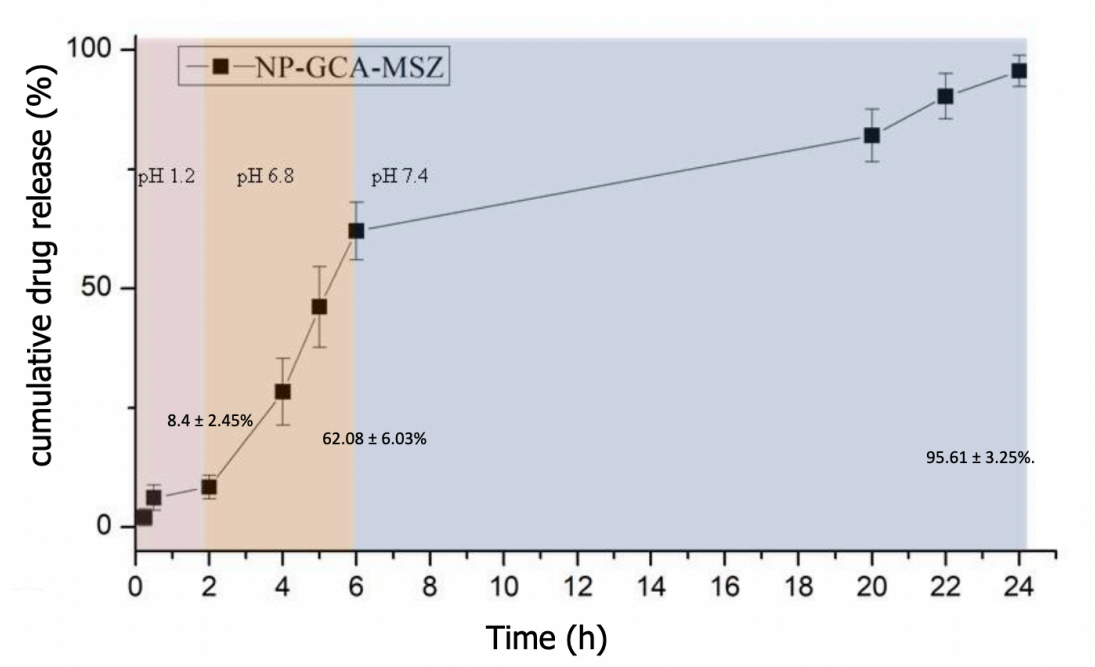



**Figura 6.** Perfil de Liberação da MSZ a partir das NP-GCA em pH 1,2, pH 6.8 e pH 7.4

As nanopartículas foram analisadas em pH 1,2, pH 6,8 e pH 7,4 e nenhuma alteração significativa na carga superficial, homogeneidade e tamanho foi observada (dados não publicados). Isso implica que quando atraídas pela carga positiva do cólon inflamado, as nanopartículas biodegradáveis carregadas negativamente liberam seu conteúdo contra as bactérias do cólon. Os sistemas convencionais de liberação entregam baixas concentrações do fármaco ao cólon quando administrados por via oral porque são primariamente degradados e absorvidos no trato GI superior. Tal perfil de liberação do NP-ACG é atraente, pois permite que o fármaco atinja o cólon em vez de ser liberada na parte superior do trato GI (MALVIYA et al., 2018).

**Cinética e Mecanismo de liberação *in vitro* do fármaco**

O estudo da cinética de liberação permite entender como o fármaco é liberado da matriz polimérica (ARGIN, KOFINAS & LO, 2014). Para cada meio, os dados foram aplicados aos modelos matemáticos de Ordem zero, Primeira ordem, Higuchi, Korsmeyer Peppas e Peppas-Sahlin. Para os meios pH 1,2, pH 6,8 e pH 7,4 o modelo Peppas-Sahlin (Eq. 6) foi o que apresentou maior coeficiente de correlação $R^2$ adj (Tabela 2), pois quanto mais próximo de 1 melhor a amostra se ajusta ao modelo (ZHANG et al., 2010).

$$F = K_1 t^{0,5} + K_2 t \qquad \text{(Eq. 6)}$$

$K_1$: constante que representa a contribuição da difusão Fickiana

$K_2$: constante que representa a contribuição do relaxamento polimérico

**Tabela 2:** Representação dos dados experimentais do modelo cinético *Peppas-Sahlin* que mostrou maior valor de $R^2$adj e seus parâmetros $K_1$ e $K_2$

| Meio | $R^2$adj | $K_1$ | $K_2$ |
|---|---|---|---|
| pH 1.2 | 0.99 | 0.92 | 0.60 |
| pH 6.8 | 0.98 | 9.57 | -0.53 |
| pH 7.4 | 0.85 | 43.41 | -8.68 |

O modelo Peppas-Sahlin assume que é possível calcular os mecanismos de difusão e o mecanismo de relaxamento, como visto na equação 6 (SIEPMANN & PEPPAS, 2012). Ao se analisar os parâmetros $K_1$ e $K_2$ observa-se que $K_1$ é maior do que $K_2$ em todos os meios (Tabela 2), porque a taxa de difusão é muito mais lenta que o tempo de relaxamento da cadeia polimérica e portanto a etapa limitante da liberação, por isso sugere-se que o sistema segue o mecanismo controlado por difusão Fickiana (STERN, 1983).

**Estudo de citotoxicidade in vitro pelo método MTT**

A Figura 7 mostra o estudo de citotoxicidade *in vitro* de NP-GCA e NP-GCA-MSZ usando a linha de células CT26 previamente cultivada como descrito acima. Nanopartículas

em diferentes concentrações foram adicionadas à suspensão de células e deixadas por 72h a 37°C. A viabilidade celular foi subsequentemente medida usando o ensaio MTT.

[A] [B]

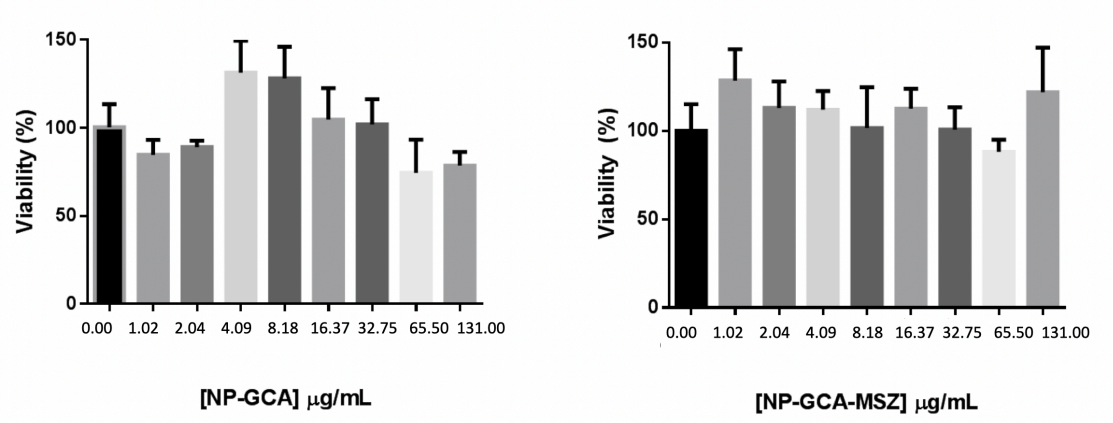



**Figura 7.** Ensaio de Citotoxicidade *in vitro* pelo método MTT em células CT26 com 72 horas de exposição (A) NP-GCA (B) NP-GCA-MSZ.

**Estabilidade coloidal de NPs**

A estabilidade coloidal das NPs foi monitorada por 120 dias após a síntese em temperatura ambiente (24°C) em tubos falcon. Não foi observada diferença significativa em termos de tamanho, PDI e potencial zeta, sugerindo estabilidade do material contendo partículas com menor tendência a formar agregados, o que é um parâmetro importante na interação e penetração de barreiras biológicas (KUMARI & YADAV, 2010 ).

**Tabela 3:** Estabilidade coloidal de NP-GCA-MSZ em 120 dias

| Tempo (Dias) | Tamanho (nm) | PDI | Potencial zeta (mV) |
|---|---|---|---|
| 0 | 273±6.76 | 0.10±0.02 | -43.2±8.15 |
| 30 | 258.5±10.1 | 0.13±0.70 | -41±11.1 |
| 60 | 299.3±9.3 | 0.112±0.51 | -38±7.2 |
| 90 | 260.22±5.4 | 0.143±0.02 | -42±10.6 |
| 120 | 284.5±11.65 | 0.152±0.08 | -31±9.7 |

As nanopartículas (com ou sem MSZ) não apresentaram citotoxicidade basal até uma concentração de 131μg/mL. Achados semelhantes foram obtidos para nanopartículas de goma do cajueiro acetiladas (NP-GCA) com e sem Diclofenaco Dietilamônio (DDA) em linhagem celular de carcinoma escamosa oral (OSCC) expostas por 24h a 37°C (Dias et al., 2016).

Nanopartículas poliméricas à base de polissacarídeos tendem a aumentar a solubilidade e a permeabilidade de fármacos de difícil absorção por via oral. Tais sistemas aumentam a possibilidade de penetração profunda dos fármacos nos tecidos através de finos capilares e, portanto, apresentam maior eficácia (MALVIYA et al., 2018). Além do mais, a quantidade significativa de polissacaridases no cólon humano também favorece a liberação seletiva de fármacos revestidos com polissacarídeo naquele local (FREIRE et al., 2006).

**Conclusão**

Neste estudo o Fármaco Mesalazina foi incorporado em nanopartículas de Goma de Cajueiro Acetiladas (NP-GCA-MSZ) que foram sintetizadas com sucesso pelo método de diálise demonstrando alta eficiência de encapsulação e estabilidade coloidal. A imagem MEV confirma o tamanho das NP-GCA-MSZ como sendo 220 a 500nm. Os altos índices de viabilidade celular indicam que as nanopartículas oferecem boa biocompatibilidade em células colônicas CT26, com e sem o fármaco incorporado. FTIR confirmam a acetilação do polissacarídeo e a encapsulação do fármaco. O espectro de DRX indica o estado amorfo do fármaco ao ser incorporado nas nanopartículas do polissacarídeo. O perfil de liberação *in vitro* mostrou gastrorresistência das nanopartículas e liberação sustentada em meio íleo-colônico simulado pH 7,4 em 24h onde o modelo Peppas-Sahlin mostrou cinética de liberação Fickiana.

Nós sugerimos que NP-GCA, um polímero natural polissacarídico biocompatível e biodegradável, caracteriza-se como promissor vetorizador de Mesalazina (5-ASA) diretamente ao cólon reduzindo a degradação no trato gastrointestinal superior. e assim otimizar o tratamento das doenças inflamatórias intestinais.

**REFERENCIAS**

AGÜEROS, M. et al. Increased oral bioavailability of paclitaxel by its encapsulation through complex formation with cyclodextrins in poly(anhydride) nanoparticles. **Journal of Controlled Release**, v. 145, n. 1, p. 2–8, 2010.

AHMAD, A. et al. Enteric-coated gelatin nanoparticles mediated oral delivery of 5-aminosalicylic acid alleviates severity of DSS-induced ulcerative colitis. **Materials Science and Engineering C**, v. 119, n. July 2020, p. 111582, 2021.

ALAM, M. M.; TASNEEM, F.; KABIR, A. L.; ROUF, A. S. S. Study of Drug-Drug and Drug-Food Interactions of Mesalazine Through FTIR and DSC. **Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences.**, v. 18, n. 2, p. 257–269, 2019.

ARAÚJO, S. et al. APLICAÇÕES FARMACOLÓGICAS E TECNOLÓGICAS DA GOMA DO CAJUEIRO (Anacardium occidentale L.) – UM PRODUTO OBTIDO DA FLORA BRASILEIRA. **Revista Gestão Inovação e Tecnologias**, v. 8, n. 1, p. 4292–4305, 2018.

ARAÚJO, T. S. L. . et al. Antidiarrheal activity of cashew GUM, a complex heteropolysaccharide extracted from exudate of Anacardium occidentale L. in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 174, p. 299–307, 2015.

ARGIN, S., KOFINAS, P., & LO, Y. M. The cell release kinetics and the swelling behavior of physically crosslinked xanthan–chitosan hydrogels in simulated gastrointestinal conditions. **Food Hydrocolloids**, v. 40, p. 138–144, 2014.

BERENDS, S. E. et al. Clinical pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations in the treatment of ulcerative colitis. **Clinical pharmacokinetics**, v. 58, p. 15–37, 2019.

CAMPOS, F. D. S.; CASSIMIRO, D. L.; CRESPI, M. S.; ALMEIDA, A. E.; GREMIÃO, M. P. D. Preparation and characterisation of Dextran-70 hydrogel for controlled release of praziquantel. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n. 1, p. 75–83, 2013.

CAMPOS, D. A. et al. Study of antimicrobial activity and atomic force microscopy imaging of the action mechanism of cashew tree gum. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, p. 270– 274,

2012.

CARVALHO, N. S. . et al. Gastroprotective properties of cashew gum, a complex heteropolysaccharide of Anacardium occidentale, in naproxen-induced gastrointestinal damage in rats. **Drug Development Research**, v. 76, p. 143–151, 2015.

CHU, X. et al. Overexpression of microRNA-495 improves the intestinal mucosal barrier function by targeting STAT3 via inhibition of the JAK/STAT3 signaling pathway in a mouse model of ulcerative colitis,. **Path- Res and Practice**, v. 214, p. 151–162, 2018.

DE ANDRADES, E. O. et al. Acetylated cashew gum and fucan for incorporation of lycopene rich extract from red guava (Psidium guajava L.) in nanostructured systems: Antioxidant and antitumor capacity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 191, n. September, p. 1026–1037, 2021.

DIAS, S. F. L. et al. Acetylated cashew gum-based nanoparticles for transdermal delivery of diclofenac diethyl amine. **Carbohydrate Polymers**, v. 143, p. 254–261, 2016a.

DIAS, S. F. L. et al. Acetylated cashew gum-based nanoparticles for transdermal delivery of diclofenac diethyl amine. **Carbohydrate polymers**, v. 143, p. 254–61, 5 jun. 2016b.

DO AMARAL RODRIGUES, J. et al. Acetylated cashew gum-based nanoparticles for the incorporation of alkaloid epiisopiloturine. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 128, p. 965–972, 2019.

FOPPOLI, A. et al. In vitro and human pharmacoscintigraphic evaluation of an oral 5-ASA delivery system for colonic release. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 572, n. August, p. 118723, 2019.

FREIRE, A. C. et al. Liberação específica de fármacos no cólon por via oral. II - Tipos de sistemas utilizados. **Revista Brasileira de Ciencias Farmaceuticas/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 3, p. 337–355, 2006.

GAMBOA, A. et al. Spray Freeze-Drying as an Alternative to the Ionic Gelation Method to Produce Chitosan and Alginate Nano-Particles Targeted to the Colon. **Journal of**

**Pharmaceutical Sciences**, v. 104, n. 12, p. 4373–4385, 2015.

GARG, L. K. et al. Review on natural polymers : A carrier for colon-targeted drug delivery approach. v. 12, n. 5, 2018.

HU, D. et al. A novel preparation method for 5-aminosalicylic acid loaded eudragit S100 nanoparticles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 5, p. 6454–6468, 2012.

INCHAURRAGA, L. et al. In vivo study of the mucus-permeating properties of PEG-coated nanoparticles following oral administration. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 97, n. December, p. 280–289, 2015.

JEONG, D. Y. et al. Induction and maintenance treatment of inflammatory bowel disease: A comprehensive review. **Autoimmunity Reviews**, v. 18, n. 5, p. 439–454, 2019.

KHAN, I.; SAEED, K.; KHAN, I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 12, n. 7, p. 908–931, 2019.

KULKARNI, V.; BUTTE, K.; RATHOD, S. Natural Polymers – A Comprehensive Review. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v. 3, n. 4, p. 1597–1613, 2012.

LAU, E. T. L. et al. Encapsulation of hydrocortisone and mesalazine in zein microparticles. **Pharmaceutics**, v. 5, p. 277–293, 2013.

LI, W. et al. Hierarchical structured and programmed vehicles deliver drugs locally to inflamed sites of intestine. **Biomaterials**, v. 185, n. September, p. 322–332, 2018.

LIMA CARDIAL, M. R. et al. Pickering emulsions stabilized with cashew gum nanoparticles as indomethacin carrier. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 132, p. 534–540, 2019.

LIMA, M. R. et al. Hydrophobization of cashew gum by acetylation mechanism and amphotericin B encapsulation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 108, p. 523–530, 2018.

LIU, Z.; JIAO, Y. ET AL. Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, p. 1650–1662, 2008.

MALVIYA, T. et al. Synthesis of Aloevera/Acrylonitrile based Nanoparticles for targeted drug delivery of 5-Aminosalicylic acid. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 106, p. 930–939, 2018.

MOHANRAJ, V. J., & CHEN, Y. Nanoparticles – A review. **Tropical Journal ofPharmaceutical Research**, v. 5, n. 1, p. 561–573, 2006.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of immunological methods**, v. 65, n. 1–2, p. 55–63, 1983.

MUTHUA, S.; PAULRAJB, E. I. Molecular structure, spectroscopic (FT-IR, FT-Raman, NMR) studies and first-order molecular hyperpolarizabilities of 5-amino-2 hydroxybenzoic acid (5A2HBA) by ab initio HF and density functional method. **Journal of Chemical Pharmaceutical Research**, v. 5, p. 323–339, 2011.

NICOLAU, L. A. D. et al. Cashew gum, a biopolymer, topically protects oesophageal mucosa in non erosive reflux disease: A promising translational study. **Carbohydrate Polymers**, v. 226, n. August, 2019.

PALMA, E. et al. Improvement of the therapeutic treatment of inflammatory bowel diseases following rectal administration of mesalazine-loaded chitosan microparticles vs Asamax ®. **Carbohydrate Polymers**, v. 212, n. July 2018, p. 430–438, 2019.

PARK, K. T. et al. The cost of inflammatory bowel disease: an initiative from the Crohn's & Colitis Foundation. **Inflammatory bowel diseases**, v. 26, p. 1- 10., 2020.

PAVIA, D.L., LAMPMAN, G.M., KRIZ, G.S., VYVYAN, J. R. **Introdução à Espectroscopia**. [s.l: s.n.].

PHARMACOPEIA, U. Solutions: Buffer solutions. **US Pharmacopeia 32 NF27**, n. 3, p. 861–862, 2009.

PITOMBEIRA, N. A. O. et al. Self-assembled nanoparticles of acetylated cashew gum: Characterization and evaluation as potential drug carrier. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 610–615, 2015.

PRAJAPATI, T. K. .; PATEL, K. S. .; S., S. Natural and synthetic polymers used in Bioadhesive delivery system. **International Journal for Innovative Research in multidisciplinary field.**, v. 3, 2017.

RAJGURU, V. V. . et al. An overview on colonic drug delivery system. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 6, p. 197–204, 2011.

RIBEIRO, A. J. et al. **Gums' based delivery systems: Review on cashew gum and its derivativesCarbohydrate Polymers**Elsevier Ltd, , 20 ago. 2016.

SCHIRATO, G. V.; MONTEIRO, F. M. F. . et al. O polissacarídeo do Anacardium occidentale L. na fase inflamatória do processo cicatricial de lesões cutâneas. **Ciência Rural**, v. 36, p. 149–154, 2006.

SHAHDADI SARDO, H. et al. A review on 5-aminosalicylic acid colon-targeted oral drug delivery systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 558, p. 367–379, 2019.

SIEPMANN, J., & PEPPAS, N. A. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). **Advanced drug delivery reviews**, v. 64, p. 163–174, 2012.

STERN, H. L. F. D. A. Critical Reviews in Solid State and Materials Science. **Materials Science**, v. 11, p. 123–187, 1983.

TANG, P. et al. Mesalazine/hydroxypropyl-β-cyclodextrin/chitosan nanoparticles with sustained release and enhanced anti-inflammation activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 198, n. June, p. 418–425, 2018.

UBEYITOGULLARI, A.; CIFTCI, O. N. Generating phytosterol nanoparticles in nanoporous bioaerogels via supercritical carbon dioxide impregnation: Effect of impregnation conditions. **Journal of Food Engineering**, v. 207, p. 99–107, 2017.

ULBRICH, K. et al. Targeted Drug Delivery with Polymers and Magnetic Nanoparticles: Covalent and Noncovalent Approaches, Release Control, and Clinical Studies. **Chemical Reviews**, v. 116, n. 9, p. 5338–5431, 2016.

VASCONCELOS SILVA, E. DE L. et al. Solvent-free synthesis of acetylated cashew gum for oral delivery system of insulin. **Carbohydrate Polymers**, v. 207, n. August 2018, p. 601–608, 2019.

VISCIDO, A. et al. Nanotechnology in the treatment of inflammatory bowel diseases. **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 8, n. 9, p. 903–918, 2014.

WANG, H. . et al. Facile encapsulation of hydroxycamptothecin nanocrystals into zein-based nanocomplexes for active targeting in drug delivery and cell imaging. **Acta Biomater.**, v. 61, p. 88–100, [s.d.].

ZHANG, Y. et al. DDSolver: An add-in program for modeling and comparison of drug dissolution profiles. **AAPS Journal**, v. 12, n. 3, p. 263–271, 2010.

# *Capítulo IV*



*pharmaceutics*

# *Artigo 3*

Publicado na ***Pharmaceutics***
Qualis **A1** Fator de Impacto**: 6.52**

https://www.mdpi.com/1999-4923/14/12/2830/htm

# Nanoparticulas obtidas da Zeína para encapsulação de Mesalazina

Izabela Lima[1,2*]; Lina Moreno[2]; Ana Victória Peres[1,2]; Adonias Carvalho[4]; Mariana Helena Chaves[4]; Lorena Lima[1,2], Rayran Sousa[3]; Dalton Dittz[3]; Hercília Rolim[2]; Lívio Nunes[1]

[1] Laboratório de Inovação Tecnológica, Empreendedorismo, Medicamentos e Correlatos (LITE), Núcleo de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil; izabela.borges@hotmail.com (I.L.); 4n4vick@gmail.com (A.V.P.); liviocesar@hotmail.com (L.N.)
[2] Laboratório de Nanossistemas Farmacêuticos (NANOSFAR), Núcleo de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil; lima.lorealmeida@gmail.com (L.L.); linaclaramoreno@gmail.com (L.M.); hercilia.rolim@gmail.com (H.R.)
[3] Laboratório de Cancerologia Experimental (LabCâncer), Núcleo de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brasil; rayran.ramos@hotmail.com (R.S.); daltondittz@gmail.com (D.D.)
[4] Laboratório de Produtos Naturais (LPN), Departamento de Química, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil; adoniasac@hotmail.com (A.C.); mariana@ufpi.edu.br (M.H.C.)

**Abstract:**

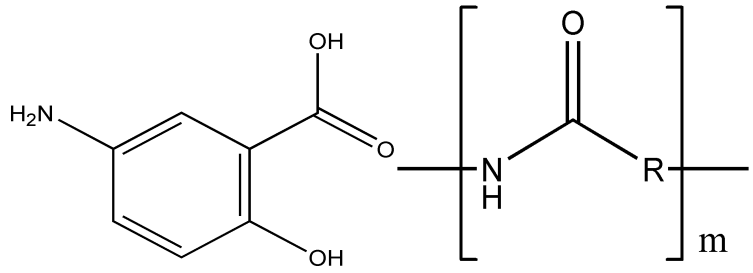
Nós encapsulamos MSZ em nanopartículas de zeína (NP-ZN) usando um método de dessolvatação seguido de secagem em um mini spray-dryer. Estas nanopartículas exibiram um tamanho de 266,6 ± 52 nm, IPD 0,14 ± 1,1 e potencial zeta -36,4 ± 1,5 mV sugerindo estabilidade coloidal. A quantificação por HPLC mostrou carga de droga de 43,8 µg/mg. SEM demonstrou morfologia esférica com variação de tamanho de 220 a 400nm. A análise de FTIR não mostrou espectros de drogas nas NPs em relação à mistura física, o que sugere encapsulamento de drogas sem alterar sua estrutura química. A análise de TGA mostrou estabilidade térmica até 300°C. Estudos de liberação in vitro demonstraram gastrorresistência e liberação sustentada do fármaco em pH 7,4 (97,67 ± 0,32%) em 120h. O modelo cinético utilizado para liberação de MSZ de NP-ZN em meio pH 1,2 foi a difusão Fickiana, em meio pH 6,8 foi o modelo Peppas-Sahlin com mecanismo de relaxamento polimérico e em meio pH 7,4 foi o modelo Korsmeyer-Peppas com mecanismo de liberação Fickian ou " Caso I". O estudo de citotoxicidade in vitro na linhagem celular CT26.WT não mostrou citotoxicidade basal até 500µg/mL. O NP-ZN tem se mostrado um vetor promissor para a liberação sustentada de MSZ no cólon por via oral.

**Palaras-chave:** Polímero Natural; Zeína; 5-ASA; Nanopartículas; Cólon

## 1. Introdução

A Mesalazina (MSZ) também conhecida como Mesalamina, ou ácido 5-aminossalicílico (5-ASA) (Figura 1A) é um aminossalicilato amplamente utilizado nas DII para induzir a remissão e manutenção principalmente na Colite Ulcerativa leve a moderada. Seu mecanismo de ação não está completamente elucidado, mas envolve supressão de NF-kB, proteção da barreira epitelial de células T84 contra peroxinitritos, redução de radicais livre, inibição de leucotrienos, prostaglandinas e de citocinas pró-inflamatórias (AHMAD et al., 2021; SARDO et al., 2019).

Além do alto custo, este fármaco tem como fatores limitantes ao seu uso o regime de dosagem que chega a 4,8gramas/dia, a baixa absortividade no cólon inflamado e maior absorção sistêmica, o que favorece aos efeitos adversos e dificulta a adesão ao tratamento pelos pacientes (BERENDS et al., 2019; LAU et al., 2013).




A B

**Figura 1:** Estrutura química da Mesalazina (A) e da Zeína (B)

O tamanho da formulação é inversamente proporcional a especificidade para o tecido inflamado (VISCIDO et al., 2014). As nanopartículas poliméricas (NPPs) oferecem maior seletividade do fármaco ao órgão-alvo, resultando em concentrações mais altas, eficazes e de longa duração em relação aos sistemas de liberação convencionais além de oferecer proteção adequada contra a degradação, elevada capacidade de encapsulamento e maior estabilidade quando em contato com fluidos biológicos (AGÜEROS et al., 2010; INCHAURRAGA et al., 2015; ULBRICH et al., 2016).

Zeína é um polímero natural proteico, principal proteína de armazenamento de sementes de milho (*Zea mays L.*) classificada como prolamina (Figura 1B) é rica em

aminoácidos não polares (por exemplo, leucina, alanina e prolina) e também contém alguns resíduos de aminoácidos polares (por exemplo, glutamina), resultando em sua alta solubilidade em solução aquosa de etanol 60-90%, mas baixa solubilidade somente em água (ALI et al., 2014; FENG et al., 2020; LIU et al., 2020).

Devido sua obtenção ser por meio natural, apresenta vantagens como biodegradabilidade, biocompatibilidade, desenvolve interações mucoadesivas, que permanece mais tempo em contato com a superfície absortiva dos enterócitos e promovendo a liberação controlada do fármaco (MORENO et al., 2017; PEÑALVA et al., 2015). Além disso, esse polímero natural foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) como um dos biomateriais mais seguros (LAI; GUO, 2011; ZU, 2011).

Devido ao seu caráter anfifílico único, a zeína pode facilmente se automontar para formar nanopartículas para a liberação de bioativos hidrofóbicos. As NP de Zeína podem melhorar significativamente a solubilidade e estabilidade do fármaco, e estender o seu tempo de ação, promovendo a entrega direcionada do fármaco, melhorando a eficácia e reduzindo a toxicidade e reações adversas (TRAN; TRAN; VO, 2014; TRAN et al., 2019; LIU et al., 2020).

Suas nanopartículas já foram estudadas para carrear diversos fármacos: Quercetina (MORENO et al., 2017; PENALVA et al., 2017), Paclitaxel (LI et al., 2016), Beta-caroteno (JAIN et al., 2018a), eugenol (VENERANDA et al., 2018), Terpinen-4-ol (MARINI et al., 2014), α-tocoferol (LUO et al., 2011), canabidiol (WANG et al., 2022), 5-Fluorouracil (LAI; GUO, 2011), vitamina D3 (LUO; TENG; WANG, 2012), Curcumina (CHANG et al., 2017; FENG et al., 2020), Luteína (CHENG; FERRUZZI; JONES, 2019), Óleo de menta (CHEN; ZHONG, 2015), Timol (ZHANG et al., 2014), Daidzina (ZOU; GU, 2013), Pterostilbeno (LIU et al., 2020) dentre outros. O presente trabalho visa desenvolver e caracterizar nanopartículas a partir da Zeína para vetorização do fármaco Mesalazina por via oral.

## 2. Metodologia

### Materiais

Zeína, lisina, manitol, foram adquiridos da Sigma-Aldrich. A Mesalazina foi adquirida a Henri-farma, Teresina, lote 10100025. O etanol foi obtido a partir da Merck (Darmstadt, Alemanha). Todos os reagentes e produtos químicos usados são de grau analítico.

**Preparação das Nanopartículas de Zeína carreando Mesalazina (NP-ZN-MSZ)**

As Nanopartículas de zeína (NP-ZN) foram preparadas pelo método de dessolvatação com subsequente secagem por spray dryer (MORENO et al., 2017). Para isso, 600mg de zeína e 60mg de lisina foram dissolvidos em 63mL de etanol a 70%. A lisina foi utilizada para melhorar a estabilidade coloidal e redispersibilidade (ZHANG et al., 2016). Em paralelo, 30mg de Mesalazina (MSZ) foi solubilizada em 25mL de etanol a 70% (totalizando 88ml de etanol 70%) sob agitação aquecida a 37°C por 30 minutos e adicionados à solução de zeína com lisina sob agitação magnética. Após a incubação de 30 minutos, as nanopartículas foram formadas pela adição de 88 mL de água purificada. Em seguida, 12 mL de uma solução aquosa de manitol a 10% foram adicionados. A representação resumida encontra-se na Fig. 2.

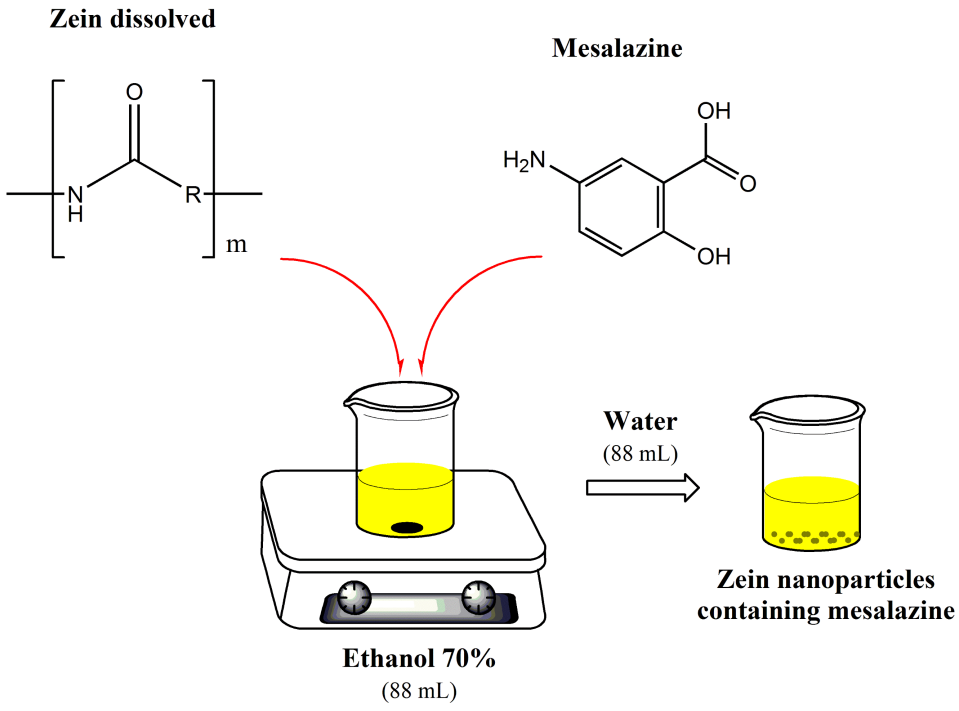



**Figura 2.** Representação esquemática da preparação das NP-ZN-MSZ

A suspensão de nanopartículas passou por processo de secagem em Spray Dryer (Buchi Mini Spray Dryer B-290, Buchi Labortechnik AG, Suíça) sob as seguintes condições experimentais: (i) temperatura de entrada, 90ºC; (ii) temperatura de saída, 45-50ºC; (iii) pressão de ar, 2-5 bar; (iv) taxa de bombeamento, 5 mL/min; (v) aspirador, 100%; e (vi) vazão de ar, 900 L/h.

**Caracterização das nanopartículas**

**Tamanho, distribuição de partículas e índice de polidispersão:** Foram determinados o diâmetro médio e a distribuição das partículas realizada através de Espalhamanto dinâmico da Luz (DLS), utilizando um contador de partículas a laser calibrado com suspensões padrões de látex com tamanho de partículas determinado. A amostra foi diluída com água ultrapura e a leitura foi efetuada a temperatura ambiente (20°C ± 1°C) e com um ângulo fixo de 90◦, utilizando um Zeta-Sizer SZ90 (Malvern® Instruments, Reino Unido).

**Potencial zeta:**

Para a determinação da carga superficial das nanopartículas, as amostras foram diluídas (1:10) em água ultra-pura e analisadas mediante anemometria com laser Doppler, em um analisador Zetamaster SZ90 por espalhamento eletroforético (Malvern® Instruments, UK). O potencial zeta será expresso em Milivoltios (mV).

**Doseamento do fármaco nas nanopartículas:**

Para o doseamento do fármaco encapsulado as NP foram centrifugadas a 5000 rpm por 20 minutos formando um sobrenadante (fármaco livre) e um precipitado (fármaco encapsulado). O sobrenadante foi quantificado em HPLC. Para quantificação total de fármaco na formulação as NP foram lisadas em etanol PA tornando-se límpidas e em seguida quantificadas em HPLC.

**Quantificação da Mesalazina por HPLC**

A quantificação da mesalazina foi realizada de acordo com (PALMA et al., 2019) usando um aparelho de HPLC (Shimadzo A20). Uma coluna C18 (4,6 × 250 mm, partícula de 5 µm Shim-pack) para a separação cromatográfica e determinação do fármaco. Água ultra-pura (pH 5,5 modificado com tampão citrato 0,1 M) e acetonitrila (grau de HPLC) 85:15 (v/v) foram as fase móvel, previamente filtrada, fluxo de 1 ml/min, fração de injeção 20 µl e pressão de trabalho em 200gf. O detector UV/Vis foi ajustado em 300 nm. A mesalazina mostrou um tempo de retenção de 3,4 min. A curva padrão foi utilizada para quantificação da mesalazina nos diferentes meios, conforme as seguintes equações:

(6) $y = 15067x + 48855$ ($R^2$=0,9986) em HCl 0.1M pH 1.2

(7) $y = 6174.5x + 10430$ ($R^2$=0,992) em tampão pH 6.8

(8) $y = 13657x – 49653$ ($R^2$=0,9965) em tampão pH 7.4

Onde, x é a concentração de MSZ (µg/ml) e y é a área do pico. Foi observada correlação linear na concentração intervalo entre 4 e 256 µg/ml. Soluções padrão de mesalazina (400 µg/ mL nos diferentes meios [HCl 0,1M pH 1,2, solução tampão pH 6.8, e solução tampão pH 7.4 (PHARMACOPEIA, 2009)] foram utilizadas para curva padrão.

**Eficiência de Encapsulação (EE%)**

Para o cálculo da EE%, utilizou-se as seguintes equações:

(9) $$Q_{total} = Q_{sobrenadante} + Q_{encapsulado}$$

$$EE\ (\%) = (Q_{encapsulado}/Q_{total}) \times 100$$

$Q_{total}$ é a quantidade total de fármaco incorporado à formulação;

$Q_{encapsulado}$ é a quantidade de fármaco encapsulado nas nanopartículas;

$Q_{sobrenadante}$ é a quantidade de fármaco livre, que não foi encapsulado nas nanopartículas.

**Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada para determinar a morfologia e as características da superfície polimérica usando o equipamento de fonte de elétrons de emissão de campo da FEI (SEM-EC), modelo FEG-250. Polímeros são sensíveis ao feixe eletrônico por isso as amostras foram previamente metalizadas com alumínio (SCHAFFAZICK et al, 2003).

**Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)**

A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) das nanopartículas em pó foram obtidas usando o espectrofotômetro Perkin Elmer Spectrum 100 GTX em pastilhas de KBr. As análises foram realizadas na região de 4000 a 400 $cm^{-1}$, com uma resolução de 4 $cm^{-1}$ e 16 varreduras no modo de transmitância, na região de 4000-500 $cm^{-1}$.

**Análise termogravimétrica (TGA)**

A análise termogravimétrica foi realizada com o equipamento SDT Q600 da TA Instruments. Para cada teste, 6,00 ± 1,00 mg da amostra foi aquecida em temperatura ambiente a 700 ° C com uma taxa de aquecimento de 10° C/min, sob atmosfera de argônio, com uma taxa de fluxo de 50,00 mL/min e amostras tratadas com aluminio.

**Difração de raios-X (DRX)**

As amostras obtidas foram caracterizadas por difração de raios X (DRX) usando um Shimadzu Labx-XRD 600 com radiação Cu-Kα ($\lambda$ = 1,5406 Å), 2$\theta$ no intervalo entre 5° e 75°, com taxa de varredura de 2° $min^{-1}$.

**Estudo da cinética de liberação *in vitro***

O perfil de liberação do fármaco a partir das Nanopartículas de Zeína (NP-ZN-MSZ) foi avaliado pelo método de diálise dinâmica (DIAS et al., 2016). Resumidamente foram utilizadas membranas de diálise de acetato de celulose do tipo cassettes® em condições *sink,* onde a concentração do fármaco é < 20% de sua solubilidade em meio solução HCl 0.1M pH 1.2 (>18mg/mL), solução tampão fosfato pH 6,8 (~3,5 mg/ml) e solução tampão fosfato pH 7.4 (~5,5mg/mL) a 37°C para evitar saturação do meio (FOPPOLI et al., 2019).

A amostra das NP-ZN-MSZ (1,5mL a 262µg/mL de fármaco) foi introduzida na membrana de acetato de celulose com poros de exclusão molecular de 10.000 Da e dialisada contra 250 mL de meio gástrico (pH 1,2), intestinal (pH 6,8) e da região íleo-colônica simulado (pH 7.4) (PHARMACOPEIA, 2009)] a 37°C em agitação orbital por 120h. Alíquotas de 1,5 mL foram retirados do meio em tempos determinados e a concentração da MSZ foi quantificada por HPLC como descrito anteriormente. O buffer foi reabastecido para manter o volume constante.

As quantificações a 300 nm serão convertidas na porcentagem de fármaco liberada de acordo com a curva padrão de cada meio previamente estabelecida para as quais a linearidade foi confirmada. O experimento foi realizado em triplicata e as concentrações do fármaco foram corrigidas considerando o fator de diluição.

Os parâmetros para determinar a cinética de liberação das nanopartículas foram analisados estatisticamente pelo suplemento Excel DDSolver. O modelo foi selecionado de acordo com o coeficiente de correlação ajustado ($R^2adj$).

**Estudo da Citotoxicidade *in vitro***

O ensaio de MTT (Brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil tetrazolium]) procedeu conforme descrição feita por (MOSMANN, 1983). Para tanto, a linhagem celular empregada (CT26.WT, carcinoma de cólon murino) foi incubada com concentrações usuais variadas de NP-ZN e NP-ZN-MSZ foram testadas em placas de 96 poços por 72 horas, a 37°C e 5% de $CO_2$ em uma densidade de 5 x $10^3$ células/poço. O controle positivo foi realizado com doxorrubicina (10 µM). Após o período de incubação, adicionaram-se às culturas, 20 mL da solução de MTT (5 mg/mL) e reincubaram-se as placas durante 4 horas em estufa a 37°C e a 5% $CO_2$. Após esse período, descartou-se o sobrenadante com o meio de cultura e o precipitado

foi ressuspendido em 100 mL DMSO, por 5 min, sob agitação. Em seguida, as placas foram lidas em um espectrofotômetro do tipo ELISA a 560 nm.

### Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software ANOVA e o teste de Tukey. Todos os dados foram realizados em triplicata e expressos como a média ± desvio padrão. A significância estatística para este estudo foi considerado $p < 0,05$.

## 3. Resultados e Discussão

### Caracterização das Nanopartículas

Inicialmente foram testadas maiores proporções fármaco:polímero (1:10; 1:12; 1:15 e 1:20), no entanto, houve precipitação devido saturação do fármaco em relação ao polímero não havendo formação das nanopartículas (dados não mostrados). Por isso, seguiu-se com a proporção 1:20 (600mg de zeína e 30mg de fármaco). A confirmação da formação de nanopartículas foi dada pela presença do efeito de Tyndall (DIAS et al., 2016), caracterizada pela visualização da suspensão opalescente, com aspecto leitoso (Figura 3A).

**Figura 3:** Formação das Nanopartículas (A) e após a secagem em spray-dyer (B)



(**A**) (**B**)

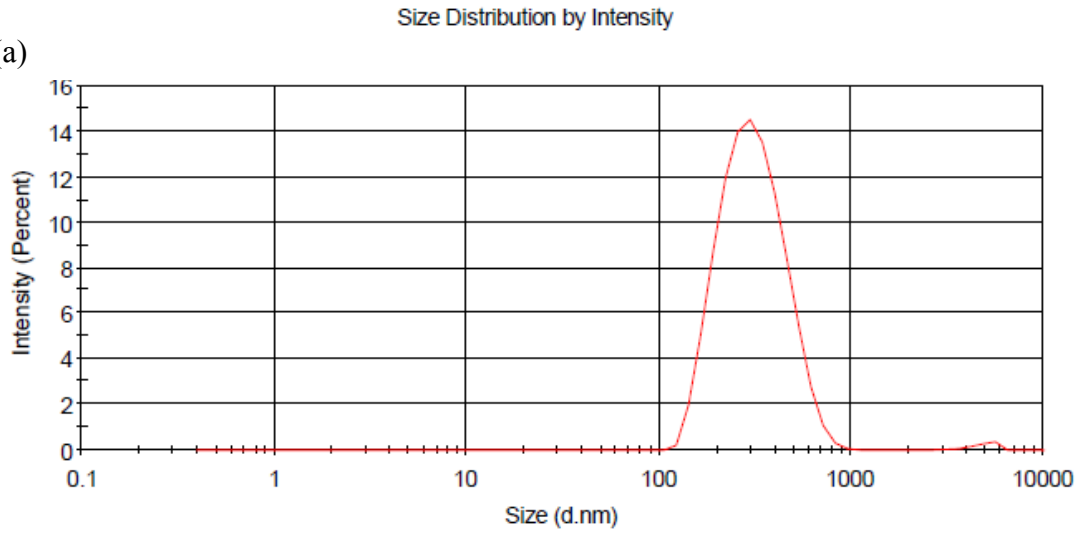
**Tabela 1:** Caracterização das Nanopartículas de Zeína com e sem Fármaco

| **Formulação** | **NP-ZN** | **NP-ZN-MSZ** (1:20) |
|---|---|---|
| Tamanho | 218±23nm | 266.6±52 nm |
| Índice de polidispersão | 0.20±0.1 | 0.14±0.1 |
| Potencial ζ | -39.3±2mV | -42.4±5.31 mV |
| Drug loaded | - | 43.8 µg/mg de NP |
| Eficiência de encapsulação | - | 45% |
| Rendimento | 70% | 65% |

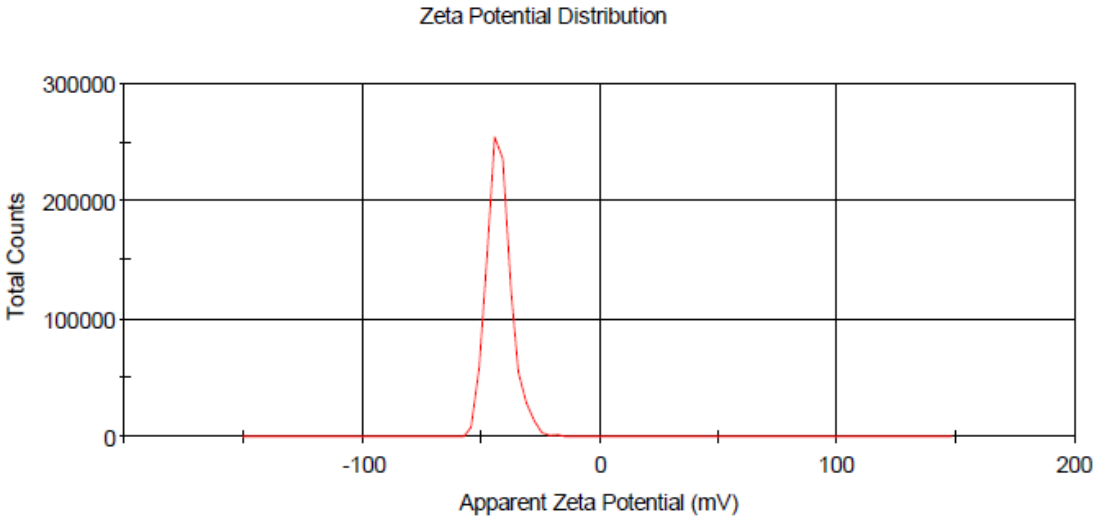
Através do método de espalhamento dinâmico da luz (DLS) as NP-ZN-MSZ demonstraram tamanho de 266,6±52nm, a nanopartícula vazia (NP-ZN) apresenta tamanho menor (218±23nm), devido a não incorporação do fármaco às nanopartículas. As NP-ZN-MSZ possuem tamanhos que são os principais determinantes da capacidade das partículas de atingir passivamente mucosa intestinal inflamada e atingir tempos máximos de retenção no tecido devido a maior área de superfície e, portanto, maior reatividade (GAMBOA et al., 2015; VISCIDO et al., 2014). O índice de polidispersão que fornece informações sobre a homogeneidade da distribuição dos tamanhos foi 0,14±0.1. As NP apresentam cargas negativas com valores de potencial zeta -42,4±5.31 mV (Tabela 1; Figura 4). Valores menores que 0,2 para a polidispersidade e acima de 30 mV para o potencial zeta (em módulo) indicam boa estabilidade coloidal em solução evitando agregação das NP (MOHANRAJ & CHEN, 2006). Esses dados corroboram com os achados de MORENO et al., 2017 e PENALVA et al., 2017 que sintetizaram Nanopartículas de Zeína para encapsular Quercetina. A Eficiência de Encapsulação (EE%) foi de 45%, JAIN et al., 2018 sintetizou NP-ZN pelo método de separação de fases para encapsular Beta Caroteno, e obtiveram 55% de EE.

**Figura 4.** Distribuição de tamanho de partícula (a) e potencial zeta de NP-ZN-MSZ (b)

(a)




(b)



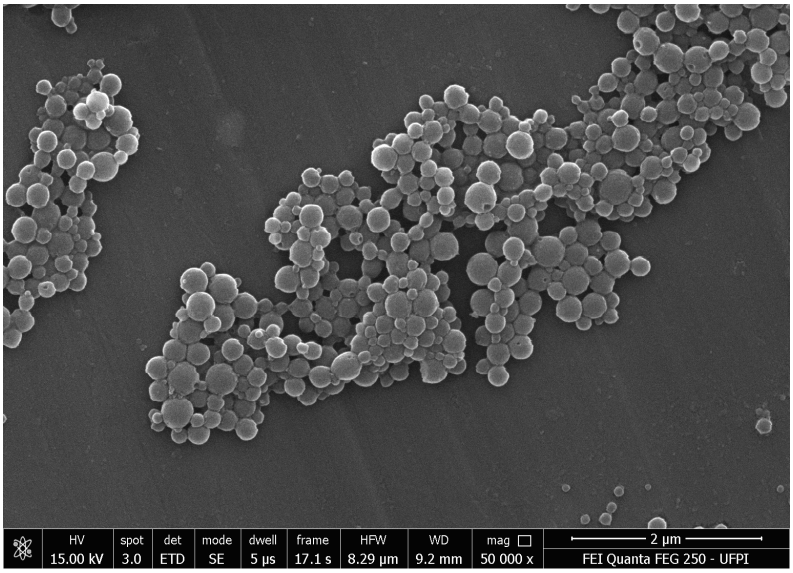

O cólon inflamado produz proteínas carregadas positivamente (por exemplo transferrina, proteína catiônica eosinofílica) (TIROSH et al., 2009; C.PETERSON et al., 2002). As cargas positivas acumuladas na superfície do epitélio danificado oferecem um alvo para veículos de liberação de fármacos com carga superficial negativa, como é o caso das NP-ZN-MSZ. As nanopartículas com carga negativa visam seletivamente os locais inflamados do intestino e gradualmente liberam o fármaco em resposta ao microambiente do intestino inflamado, através de suas atrações eletrostáticas (LI et al.,2018). As nanopartículas

poliméricas são biodegradáveis e atóxicas e não há resíduo de solvente orgânico gerado durante o processo de produção, pois o etanol 70% utilizado para síntese é evaporado na secagem em spray-dryer (FENG et al., 2020).

**Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

A Figura 5 mostra a morfologia e a forma das nanopartículas de Zeína carregadas com Mesalazina, onde observa-se populações homogêneas de nanopartículas esféricas com uma superfície lisa com variação de tamanho de 240 a 400nm, aparentemente semelhante ao calculado por DLS (Tabela 1).

**Figura 5:** Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das NP-ZN-MSZ



**Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourrier (FTIR)**

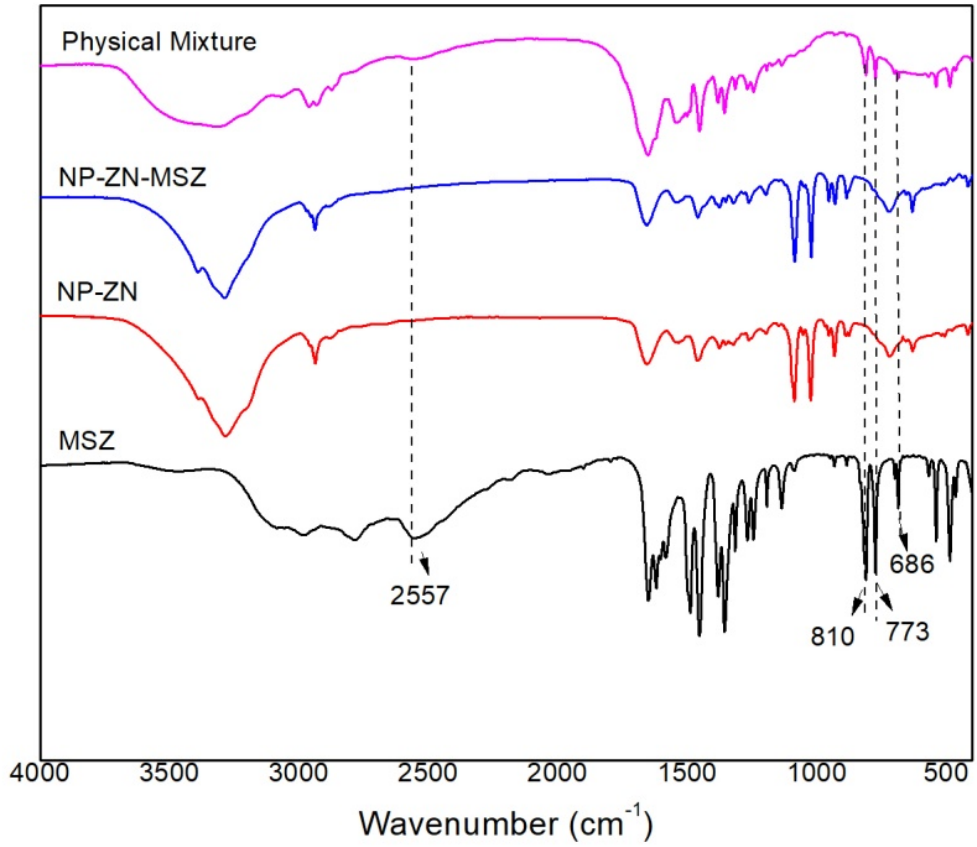


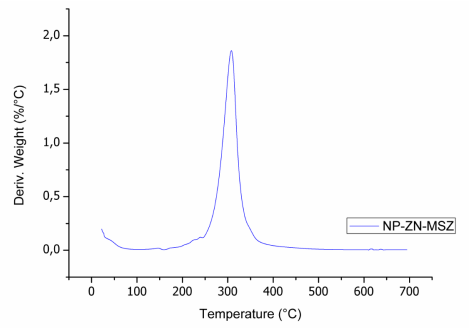

**Figura 6**. Espectro de FTIR (pastilha de KBr) da Mistura Física, Nanopartículas de zeína com e sem o fármaco e da Mesalazina

No espectro de infravermelho da Mesalazina (MSZ) foi observada a presença das bandas que identificam os seus grupos funcionais: 3471 $cm^{-1}$ (estiramento N-H), 2557 $cm^{-1}$ (deformação $NH_2$), 1620 – 1590 $cm^{-1}$ (Deformação de N-H primária e estiramento C-N), 1246 $cm^{-1}$ (estiramento C-N), 3085 e 2978 $cm^{-1}$ (estiramento C-H aromático), 2784 $cm^{-1}$ (estiramento de OH de ácido Carboxílico), 1647 $cm^{-1}$ (estiramento C=O de ácido Carboxílico), 1192 $cm^{-1}$ (estiramento C-O de fenol), 810, 773 e 686 $cm^{-1}$ (deformação de C-H fora do plano em anéis aromáticos). Esses dados corroboram com a literatura (ALAM et al., 2019; BARBOSA, 2007; MUTHUA & PAULRAJB, 2011; PAVIA et al., 2010; TANG et al., 2018). Em NP-ZN observa-se bandas em 3381 $cm^{-1}$ (estiramento N-H), 2935 $cm^{-1}$ (estiramento C-H), 1660 $cm^{-1}$ (estiramento C=O), 1530 $cm^{-1}$ (deformação N-H), 1259 (estiramento C-N) (ALI et al., 2014; DHANYA et al., 2012; LI et al., 2018; MÜLLER et al., 2011). mistura física observa-se a banda de deformação N-H em 2557 $cm^{-1}$ indicativo do

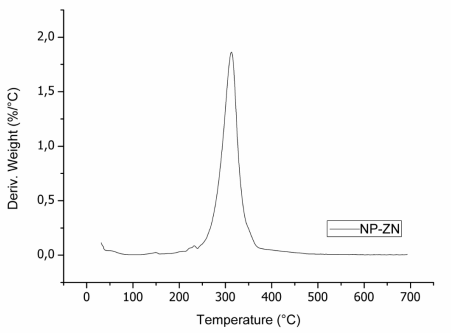
grupo amino da mesalazina (TANG et al., 2018) e bandas em 810, 773 e 686 $cm^{-1}$ referentes as deformações C-H fora do plano também pertencentes a mesalazina (ALAM et al., 2019) essas bandas aparecem em baixa intensidade devido a baixa proporção entre polímero:fármaco (10:0,5) e não são identificadas em NP-ZN-MSZ, que não tem diferença significativa da NP-ZN, o que supõe encapsulamento do fármaco pelo núcleo prolamina sem alteração estrutural e com ausência de impurezas.

**Análise Termogravimétrica (TG) e Calorimetria diferencial exploratória (DSC)**

A análise térmica fornece informações sobre a estabilidade térmica das nanopartículas sintetizadas que é um aspecto importante para aplicações de liberação *in vivo* de fármacos e para a identificação de alterações na conformação das cadeias poliméricas em função das modificações químicas sofridas durante o processo de polimerização, síntese das NPs ou encapsulamento de ativos (SCHAFFAZICK et al., 2003). E no teste foi observada estabilidade térmica pois só houve perda de massa a partir de 250°C até 350°C (Figura 7A, 7B, 7E, 7F), que é consistente com os dados de ALI et al., 2014 e que evidencia que os nanocarreadores podem permanecer termicamente estáveis em temperatura do corpo humano (37 °C) (MARKAM et al., 2020; MARKAM et al., 2019).




(**A**)




(**B**)

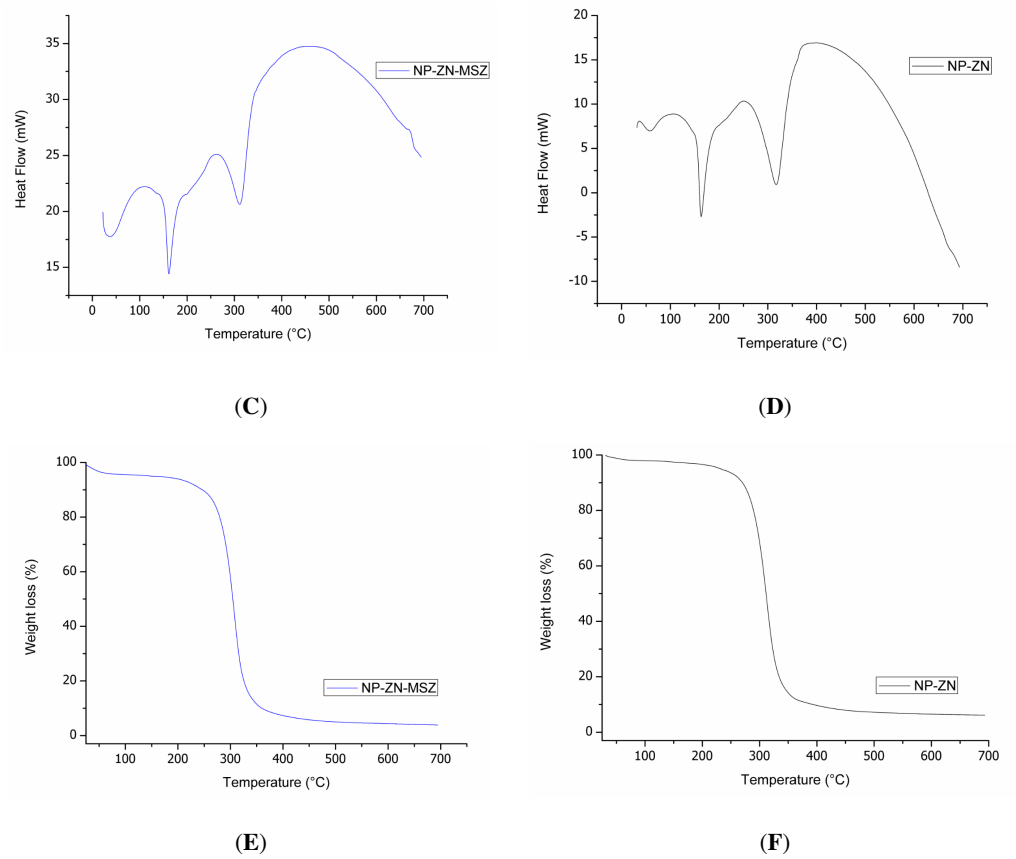



**Figura 7:** Análise Térmica de NP-ZN-MSZ (A, C e E) e NP-ZN (B, D e F)

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é comumente usada para estudar o estado físico-químico e as possíveis interações do fármaco carregado em Nanossistemas. O DSC é capaz de detectar transições de fase, como transição vítrea, cristalização e fusão. Observa-se picos de fusão endotérmicos (MARKAM et al., 2019) localizado a 170°C e 320°C (Fig. 7C e 7D) (LAI; GUO, 2011). A incorporação do fármaco manteve a estabilidade térmica do polímero, conferindo interação polímero-fármaco satisfatória.

## Estudo do perfil de liberação *in vitro*

Estudos de liberação *in vitro* foram realizados em pH 1,2, pH 6,8 epH 7,4 a 37°C para simular condições fisiológicas para ser administrada por via oral (Fig. 8). No pH 1,2, nas primeiras 2h de teste houve discreta liberação de MSZ das nanopartículas (5,24 ± 1,39%), o que sugere gastrorresistência. A mudança para pH 6,8 durante 4h aumentou para 54,83 ± 1,30% que se manteve em pH 7,4, onde observa-se liberação sustentada de 97,67 ± 0,32%.

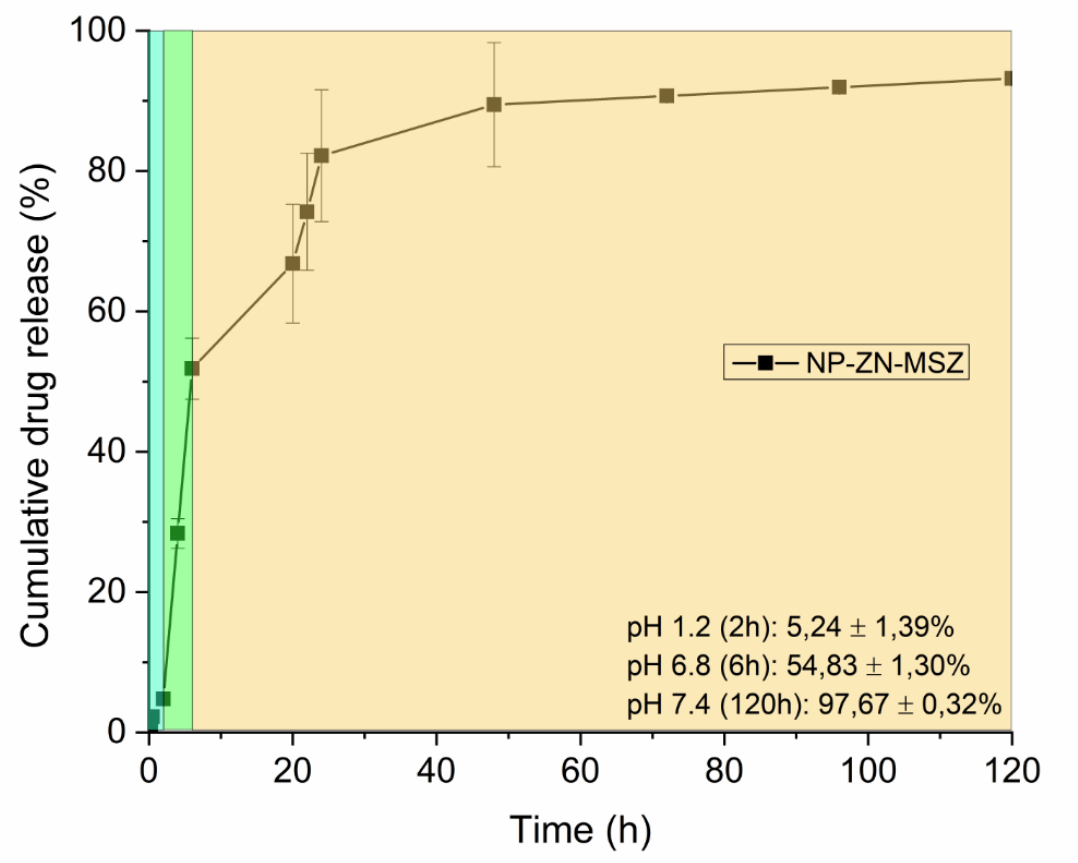



**Figura 8:** Perfil de Liberação da MSZ a partir das NP-ZN em pH 1,2, pH 6.8 e pH 7.4

JAIN et al., 2018 também observaram perfil de liberação lenta e sustentada de beta-caroteno a partir de Nanopartículas de Zeína por quatro dias (96h). WANG et al., 2020 também observaram perfil de liberação sustentada por 8 dias (480h) ao nanoencapsular hiperosida em NP-ZN.Tal perfil de liberação partir das NP-ZN é atraente, pois pode permitir que o fármaco atinja o cólon em vez de ser liberado na parte superior do trato gastrointestinal (MALVIYA et al., 2018)

**Cinética e Mecanismo de liberação *in vitro* do fármaco**

O estudo da cinética de liberação permite entender como o fármaco é liberado da matriz polimérica (ARGIN, KOFINAS & LO, 2014). Para cada meio, os dados foram aplicados aos modelos matemáticos de Ordem zero, Primeira ordem, Higuchi, Korsmeyer

Peppas e Peppas-Sal..... Para os meios pH 1,2, pH 6,8 o modelo Peppas-Sahlin (Eq. 6) foi o que apresentou maior coeficiente de correlação ($R^2adj$) e para o meio pH 7,4 o modelo Korsmeyer-Peppas (Eq. 7) foi o que melhor se ajustou (Tabela 2) (ZHANG et al., 2010)

B

$$F = K_1 t^{0,5} + K_2 t \qquad \text{(Eq. 6)}$$

$K_1$: constante que representa a contribuição da difusão Fickiana

$K_2$: constante que representa a contribuição do relaxamento polimérico

$$F = K_{KP} \cdot t^{n} \qquad \text{(Eq. 7)}$$

*K*: constante cinética *n*: Expoente de liberação

**Tabela 2:** Representação dos dados experimentais dos modelos cinéticos que melhor se ajustaram aos diferentes meios de liberação

A

| | Modelo Peppas-Sahlin | | |
|---|---|---|---|
| **Meio** | **$R^2adj$** | **$K_1$** | **$K_2$** |
| pH 1.2 | 0,99 | 1,62 | 0,36 |
| pH 6.8 | 0,92 | -5,72 | 6,12 |

| | Modelo Korsmeyer-Peppas | | |
|---|---|---|---|
| **Meio** | **$R^2adj$** | **K** | ***n*** |
| pH 7,4 | 0,82 | 99,3 | -0,79 |

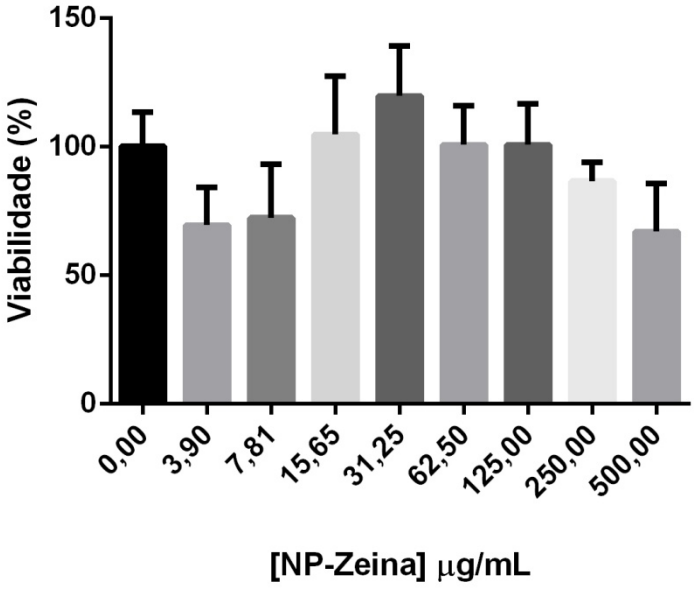
O modelo Peppas-Sahlin assume que é possível calcular os mecanismos de difusão e o mecanismo de relaxamento, como visto na equação 6 (SIEPMANN & PEPPAS, 2012). Em pH 1,2 observa-se que $K_1$ (1,62) é maior do que $K_2$ (0,36) sugerindo contribuição de difusão Fickiana na liberação. Em pH 6,8 o valor K1 negativo (-5,72) e o valor K2 positivo (6,12) indicam que a liberação por difusão Fickiana foi inibida, e o mecanismo de liberação foi por contribuição do relaxamento polimérico (STERN, 1983). O modelo Korsmeyer-Peppas é usado para analisar a liberação de formas farmacêuticas poliméricas quando o mecanismo não é bem conhecido ou quando possa estar envolvido mais de um tipo de liberação. Em pH 7,4, o

valor de *n* foi -0,79, e para a cinética de liberação de fármacos a partir de sistemas poliméricos intumescíveis com morfologia esférica (Figura 5), um valor do expoente de liberação n ≤ 0,43 indica que o mecanismo de liberação é difusão do fármaco através de camadas da matriz, também conhecido como mecanismo de liberação Fickiano ou "Caso I" (BIZERRA; SILVA, 2016)

**Estudo de citotoxicidade *in vitro***

A Figura 9 mostra o estudo de citotoxicidade *in vitro* das NP-ZN usando a linhagem de células CT26 (Adenoma de cólon murino) previamente cultivada. Nanopartículas em diferentes concentrações foram adicionadas à suspensão de células e deixadas por 72h a 37°C. A viabilidade celular foi medida usando o ensaio MTT onde as nanopartículas não apresentaram citotoxicidade basal até uma concentração de 500μg/mL, a concentração usual de zeína utilizada para síntese das NP é 296μg/mL, por isso constatamos a biocompatibilidade das NP.

**Figura. 9:** Ensaio de MTT em células CT26 com 72 horas de exposição



Achados semelhantes foram obtidos por LIU et al., 2020, que utilizaram nanopartículas compostas à base de zeína para a encapsulação de pterostilbeno e avaliaram viabilidade celular em células Caco-2, L-02 e HK-2.

**Estabilidade Coloidal das NPs**

A estabilidade coloidal das NPs foi monitorada por 120 dias após a síntese em temperatura ambiente. Não foi observada diferença significativa em termos de tamanho, IPD e potencial zeta, o que confirma a estabilidade do material e indica a presença de partículas com menor tendência a formar agregados, parâmetro importante para interação e penetração de barreiras biológicas.

**Tabela 3:** Estabilidade coloidal de NP-ZN-MSZ em 120 dias à temperatura ambiente

| Time (days) | Size (nm) | Polydispersion Index | Zeta Potential (mV) |
|---|---|---|---|
| 0 | 266,6±52 nm | 0,14±0.1 | -42,4±5.31 mV |
| 30 | 296,2±25 nm | 0,11±0.02 | -40,4±6 mV |
| 60 | 300,6±81 nm | 0,12±0.1 | -41,6±9,3 mV |
| 90 | 269±31 nm | 0,14±0.1 | -37,4±8.24 mV |
| 120 | 291,6±32 nm | 0,13±0.03 | -32,4±6,7 mV |

## Conclusões

Neste estudo a mesalazina foi incorporada com sucesso em nanopartículas de zeína pelo método de dessolvatação demonstrando estabilidade coloidal. A análise da imagem SEM confirma o tamanho do NP (220 a 400nm). Os altos níveis de viabilidade celular indicam que as nanopartículas oferecem boa biocompatibilidade em células colônicas CT26. O perfil de liberação in vitro mostrou gastrorresistência das nanopartículas e liberação sustentada em meio ileocolônico simulado pH 7,4 por 120h. Sugerimos que o NP-ZN, um polímero de proteína natural biocompatível e biodegradável, mostrou propriedades promissoras para a liberação de Mesalazina (5-ASA) ao cólon e otimizar o tratamento de doenças inflamatórias intestinais, porém mais estudos in vivo são necessários.

**Referências**


AHMAD, A. et al. Enteric-coated gelatin nanoparticles mediated oral delivery of 5-aminosalicylic acid alleviates severity of DSS-induced ulcerative colitis. **Materials Science and Engineering C**, v. 119, n. July 2020, p. 111582, 2021.

ALAM, M. M.; TASNEEM, F.; KABIR, A. L.; ROUF, A. S. S. Study of Drug-Drug and Drug-Food Interactions of Mesalazine Through FTIR and DSC. **Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences.**, v. 18, n. 2, p. 257–269, 2019.

ALI, S.; KHATRI, Z.; OH, K. W.; KIM, I. S.; KIM, S. H. Zein/cellulose acetate hybrid nanofibers: Electrospinning and characterization. **Macromolecular Research**, v. 22, n. 9, p. 971–977, 2014.

ALI, S. et al. Zein/cellulose acetate hybrid nanofibers: Electrospinning and characterization. **Macromolecular Research**, v. 22, n. 9, p. 971–977, 2014.

ARGIN, S., KOFINAS, P., & LO, Y. M. The cell release kinetics and the swelling behavior of physically crosslinked xanthan–chitosan hydrogels in simulated gastrointestinal conditions. **Food Hydrocolloids**, v. 40, p. 138–144, 2014.

BARBOSA,. LCA. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos** , 2007

B. TIROSH, N. KHATIB, Y. BARENHOLZ, A. NISSAN, A. RUBINSTEIN. Transferrin as a luminal target for negatively charged liposomes in the inflamed colonic mucosa. **Mol. Pharm.**, v. 6, p. 1083–1091, 2009.

BERENDS, S. E. et al. Clinical pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations in the treatment of ulcerative colitis. **Clinical pharmacokinetics**, v. 58, p. 15–37, 2019.
BIZERRA, A.; SILVA, V. SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA: Mecanismos e aplicações. **Revista Saúde e Meio Ambiente-RESMA**, n. 2, p. 1–12, 2016.

C.G.B. PETERSON, E. EKLUND, Y. TAHA, Y. RAAB, M. C. A new method for the quantification of neutrophil and eosinophil cationic proteins in feces: establishment of normal levels and clinical application in patients with inflammatory bowel disease. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 97, p. 1755–1762, 2002.

CHANG, C. et al. Caseinate-zein-polysaccharide complex nanoparticles as potential oral delivery vehicles for curcumin: Effect of polysaccharide type and chemical cross-linking. **Food Hydrocolloids**, v. 72, p. 254–262, 2017.

CHEN, H.; ZHONG, Q. A novel method of preparing stable zein nanoparticle dispersions for encapsulation of peppermint oil. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 593e602-602, 2015.

CHENG, C. J.; FERRUZZI, M.; JONES, O. G. Fate of lutein-containing zein nanoparticles following simulated gastric and intestinal digestion. **Food Hydrocolloids**, v. 87, n. January 2018, p. 229–236, 2019.

CUI, B. et al. Emamectin benzoate-loaded zein nanoparticles produced by antisolvent precipitation method. **Polymer Testing**, v. 94, p. 107020, 2021.

DHANYA, A. T.; HARIDAS, K.R.; DIVIA, N.; SUDHEESH, S. Development of Zein-Pectin nanoparticle as drug carrier. **International Journal of Drug Delivery**, v. 4, n. 2, p. 147, 2012.

DIAS, S. F. L. et al. Acetylated cashew gum-based nanoparticles for transdermal delivery of diclofenac diethyl amine. **Carbohydrate Polymers**, v. 143, p. 254–261, 2016a.

DIAS, S. F. L. et al. Acetylated cashew gum-based nanoparticles for transdermal delivery of diclofenac diethyl amine. **Carbohydrate polymers**, v. 143, p. 254–61, 5 jun. 2016b.

FENG, S. et al. Effect of adjusting pH and chondroitin sulfate on the formation of curcumin-zein nanoparticles: Synthesis, characterization and morphology. **Carbohydrate Polymers**, v. 250, n. June, p. 116970, 2020.

FOPPOLI, A. et al. In vitro and human pharmacoscintigraphic evaluation of an oral 5-ASA delivery system for colonic release. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 572, n. August, p. 118723, 2019.

GAMBOA, A. et al. Spray Freeze-Drying as an Alternative to the Ionic Gelation Method to Produce Chitosan and Alginate Nano-Particles Targeted to the Colon. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 104, n. 12, p. 4373–4385, 2015.

HU, D. et al. A novel preparation method for 5-aminosalicylic acid loaded eudragit S100 nanoparticles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 5, p. 6454–6468, 2012.

JAIN, A. et al. Beta carotene-loaded zein nanoparticles to improve the biopharmaceutical attributes and to abolish the toxicity of methotrexate: a preclinical study for breast cancer. **Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology**, v. 46, n. sup1, p. 402–412, 2018.

KHAN, I.; SAEED, K.; KHAN, I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 12, n. 7, p. 908–931, 2019.

LAI, L. F.; GUO, H. X. Preparation of new 5-fluorouracil-loaded zein nanoparticles for liver targeting. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 404, n. 1–2, p. 317–323, 2011.

LAU, E. T. L. et al. Encapsulation of hydrocortisone and mesalazine in zein microparticles. **Pharmaceutics**, v. 5, p. 277–293, 2013.

LI, M. F.; CHEN, L.; XU, M. Z.; ZHANG, J. L.; WANG, Q.; ZENG, Q. Z.; WEI, X. C; YUAN, Y. The formation of zein-chitosan complex coacervated particles: Relationship to encapsulation and controlled release properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 116, p. 1232–1239, 2018.

LI, S. et al. Preparation and characterization of a novel conformed bipolymer paclitaxel-nanoparticle using tea polysaccharides and zein. **Carbohydrate Polymers**, v. 146, p. 52–57, 2016.

LIU, Q. et al. Zein/fucoidan-based composite nanoparticles for the encapsulation of pterostilbene: Preparation, characterization, physicochemical stability, and formation mechanism. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 158, p. 461–470, 2020.

LUO, Y. et al. Preparation and characterization of zein/chitosan complex for encapsulation of α-tocopherol, and its in vitro controlled release study. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 85, n. 2, p. 145–152, 2011.

LUO, Y.; TENG, Z.; WANG, Q. Development of zein nanoparticles coated with carboxymethyl chitosan for encapsulation and controlled release of vitamin D3. **J Agric Food Chem.**, v. 60, n. 3, p. 836–43, 2012.

MALVIYA, T. et al. Synthesis of Aloevera/Acrylonitrile based Nanoparticles for targeted drug delivery of 5-Aminosalicylic acid. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 106, p. 930–939, 2018.

MARINI, V. G. et al. Biodegradable nanoparticles obtained from zein as a drug delivery system for terpinen-4-ol. **Quimica Nova**, v. 37, n. 5, p. 839–843, 2014.

MARKAM, R.; BAJPAI, A. K. Functionalization of ginger derived nanoparticles with chitosan to design drug delivery system for controlled release of 5-amino salicylic acid (5-ASA) in treatment of inflammatory bowel diseases: An in vitro study. **Reactive and Functional Polymers**, v. 149, n. August 2019, p. 104520, 2020.

MARKAM, R.; BAJPAI, J.; BAJPAI, A. K. Synthesis of ginger derived nanocarriers (GDNC) and study of in vitro release of 5-amino salicylic acid (5-ASA) as an anti inflammatory drug. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 50, n. July 2018, p. 355–364, 2019.

MOHANRAJ, V. J., & CHEN, Y. Nanoparticles – A review. **Tropical Journal ofPharmaceutical Research**, v. 5, n. 1, p. 561–573, 2006.

MORENO, L. C. G. E. I. et al. Effect of the oral administration of nanoencapsulated quercetin on a mouse model of Alzheimer's disease. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 517, n. 1–2, p. 50–57, 2017.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to

proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of immunological methods**, v. 65, n. 1–2, p. 55–63, 1983.

MÜLLER, V.; PIAI, J. F.; FAJARDO, A. R.; FÁVARO, S. L.; RUBIRA, A. F.; MUNIZ, E. C. Preparation and characterization of zein and zein-chitosan microspheres with great prospective of application in controlled drug release. **Journal of nanomaterials**, 2011.

MUTHUA, S.; PAULRAJB, E. I. Molecular structure, spectroscopic (FT-IR, FT-Raman, NMR) studies and first-order molecular hyperpolarizabilities of 5-amino-2 hydroxybenzoic acid (5A2HBA) by ab initio HF and density functional method. **Journal of Chemical Pharmaceutical Research**, v. 5, p. 323–339, 2011.

PALMA, E. et al. Improvement of the therapeutic treatment of inflammatory bowel diseases following rectal administration of mesalazine-loaded chitosan microparticles vs Asamax ®. **Carbohydrate Polymers**, v. 212, n. July 2018, p. 430–438, 2019.

PAVIA, D.L., LAMPMAN, G.M., KRIZ, G.S., VYVYAN, J. R. **Introdução à Espectroscopia**., 2010.

PENALVA, R. et al. Zein nanoparticles for oral delivery of quercetin: Pharmacokinetic studies and preventive anti-inflammatory effects in a mouse model of endotoxemia. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 13, n. 1, p. 103–110, 2017.

PEÑALVA, R. et al. Zein nanoparticles for oral folic acid delivery. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 30, p. 450–457, 2015.

PHARMACOPEIA, U. Solutions: Buffer solutions. **US Pharmacopeia 32 NF27**, n. 3, p. 861–862, 2009.

SCHAFFAZICK, S. R. et al. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Quimica Nova**, v. 26, n. 5, p. 726–737, 2003.

SHAHDADI SARDO, H. et al. A review on 5-aminosalicylic acid colon-targeted oral drug delivery systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 558, p. 367–379, 2019.
SIEPMANN, J., & PEPPAS, N. A. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). **Advanced drug delivery reviews**, v. 64, p. 163–174, 2012.

STERN, H. L. F. D. A. Critical Reviews in Solid State and Materials Science. **Materials Science**, v. 11, p. 123–187, 1983.

TANG, P. et al. Mesalazine/hydroxypropyl-β-cyclodextrin/chitosan nanoparticles with sustained release and enhanced anti-inflammation activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 198, n. June, p. 418–425, 2018.

TRAN, P. H. L. et al. Drug stabilization in the gastrointestinal tract and potential applications in the colonic delivery of oral zein-based formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 569, n. June, p. 118614, 2019.

TRAN, P.; TRAN, T.; VO, T. Nanomateriais à base de conjugado de polímero para distribuição de drogas. **Journal of nanoscience and nanotechnology**, v. 14, n. 1, p. 815–827, 2014.

UBEYITOGULLARI, A.; CIFTCI, O. N. Generating phytosterol nanoparticles in nanoporous bioaerogels via supercritical carbon dioxide impregnation: Effect of impregnation conditions. **Journal of Food Engineering**, v. 207, p. 99–107, 2017.

VENERANDA, M. et al. Formation and characterization of zein-caseinate-pectin complex nanoparticles for encapsulation of eugenol. **LWT - Food Science and Technology**, v. 89, n. September 2017, p. 596–603, 2018.

VISCIDO, A. et al. Nanotechnology in the treatment of inflammatory bowel diseases. **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 8, n. 9, p. 903–918, 2014.

WANG, X. et al. Zein-pectin composite nanoparticles as an efficient hyperoside delivery system: Fabrication, characterization, and in vitro release property. **Lwt**, v. 133, n. July, p. 109869, 2020.

ZHANG, Y. et al. DDSolver: An add-in program for modeling and comparison of drug dissolution profiles. **AAPS Journal**, v. 12, n. 3, p. 263–271, 2010.

ZHANG, Y. et al. Fabrication, characterization and antimicrobial activities of thymol-loaded zein nanoparticles stabilized by sodium caseinate–chitosan hydrochloride double layers. **Food Chemistry**, v. 142, n. 1, p. 269–275, 2014.

ZHANG, Y. et al. Design, fabrication and biomedical applications of zein-based nano/micro-carrier systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 513, n. 1–2, p. 191–210, 2016.

ZOU, T.; GU, L. TPGS Emulsified Zein Nanoparticles Enhanced Oral Bioavailability of Daidzin: In Vitro Characteristics and In Vivo Performance. **Mol Pharm**, v. 10, n. 5, p. 2062–2070, 2013.

ZU, Y.-G. Preparation, characterization and targeting of micronized 10-hydroxycamptothecin-loaded folate-conjugated human serum albumin nanoparticles to cancer cells. **International Journal of Nanomedicine**, p. 397, 2011.

## CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Neste estudo demonstramos que as nanopartículas obtidas a partir de ambos os polímeros naturais têm tamanho, forma, carga, estabilidade coloidal e biocompatibilidade semelhante, e interação fármaco-polímero satisfatória, no entanto a NP-GCA tem maior eficiência de encapsulação, além da obtenção das NP se dar de forma mais simples e econômica.

O perfil de liberação mostrou gastrorresistência das nanopartículas e liberação sustentada em meio íleo-colônico simulado pH 7.4, portanto viáveis para via oral.

Assim, nós sugerimos que nanopartículas obtidas a partir de ambos os polímeros naturais biodegradáveis Goma do Cajueiro Acetilada (NP-GCA) ou Zeína (NP-ZN), tem alto potencial de entregar Mesalazina (MSZ) diretamente ao cólon por via oral reduzindo a degradação no trato gastrointestinal superior e assim otimizar o tratamento das doenças inflamatórias intestinais (IBD).

Como perspectiva futura pretende-se Realizar estudos de biodistribuição em parceria com a Universidad Navarra em Pamplona/Espanha – Parceria com Prof. Dr. Juan Irache.

Além disso, pretende-se realizar estudos *in vivo* a fim de demonstrar a eficácia do fármaco nanoencapsulado comparando ao fármaco livre, tendo como parâmetro os marcadores principais marcadores inflamatórios em modelo animal de colite ulcerativa induzida por ácido acético, em parceria com a UFDPar.

# ANEXOS

## Artigos Publicados

1. LIMA, I. B. C.; MORENO, L. C. G. A. I.; SILVA-FILHO, E. C.; IRACHE, J. I; VEIGA, F. J. B.; ROLIM, H. M. L.; NUNES, L.C C. Development of nanostructured systems using natural polymers to optimize the treatment of inflammatory bowel diseases: A prospective study. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 64, n. 102590, 2021.

Journal of Drug Delivery Science and Technology 64 (2021) 102590

Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Drug Delivery Science and Technology

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




Review article

# Development of nanostructured systems using natural polymers to optimize the treatment of inflammatory bowel diseases: A prospective study

Izabela B.C. Lima [a,b,*], Lina Clara.G.A.I. Moreno [a,b], Edson C. Silva-Filho [c], Juan M. Irache [d], Francisco J.B. Veiga [e], Hercília M.L. Rolim [b], Lívio C.C. Nunes [a]

[a] Laboratory of Technological Innovation and Entrepreneurship Drugs and Related Products (LITE), Federal University of Piauí, Teresina, PI, Brazil
[b] Laboratory of Pharmaceutical Nanosystems (NANOSFAR), Federal University of Piauí, Teresina, PI, Brazil
[c] Interdisciplinary Laboratory of Advanced Materials (LIMAV), Federal University of Piauí, Teresina, PI, Brazil
[d] NANO-VAC Research Group, Department of Chemistry and Pharmaceutical Technology, University of Navarra, Spain
[e] Pharmaceutical Studies Center - University of Coimbra, Portugal

**2.** LIMA, I.B.C.; MORENO, L.C.G.A.I.; PERES, A.V.; SANTANA, A.C.G.; CARVALHO, A.; CHAVES, M.H.; LIMA, L.; SOUSA, R.W.; DITTZ, D.; ROLIM, H. M. L.; NUNES, L.C C. Nanoparticles obtained from zein for encapsulation od mesalazine. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 12, 2022.



*pharmaceutics*



an Open Access Journal by MDPI

## Nanoparticles Obtained from Zein for Encapsulation of Mesalazine

Izabela Borges C. Lima; Lina Clara G. A. I. Moreno; Ana Victória Peres; Ana Cristina Gramoza Santana; Adonias Carvalho; Mariana H. Chaves; Lorena Lima; Rayran Walter Sousa; Dalton Dittz; Hercília M. L. Rolim; Lívio César Cunha Nunes

*Pharmaceutics* **2022**, Volume 14, Issue 12, 2830

**3.** LIMA, I.; MORENO, L.; DIAS, S.; SILVA, D.; OLIVEIRA, A.C.; SOARES, L.; SOUSA, R.; DITTZ, D.; ROLIM, H. M. L.; NUNES, L. Acetylated Cashew gum nanoparticles for mesalazine delivery. **Carbohydrate Polymer Technologies and Applications,** v. 5, n. 100265, 2023.

Carbohydrate Polymer Technologies and Applications 5 (2023) 100265

Contents lists available at ScienceDirect

Carbohydrate Polymer Technologies and Applications

journal homepage: www.sciencedirect.com/journal/carbohydrate-polymer-technologies-and-applications

# Acetylated cashew gum nanoparticles for mesalazine delivery

Izabela Lima [a,b,*], Lina Moreno [b], Sávia Dias [c], Durcilene Silva [c], Antônia Carla Oliveira [d], Lamartine Soares [d], Rayran Sousa [e], Dalton Dittz [e], Hercília Rolim [b], Lívio Nunes [a]

[a] *Laboratory of Technological Innovation, Entrepreneurship, Drugs and Related (LITE), Nucleus of Pharmaceutical Technology, Federal University of Piauí, Teresina, PI, Brazil*
[b] *Pharmaceutical Nanosystems Laboratory (NANOSFAR), Nucleus of Pharmaceutical Technology, Federal University of Piauí, Teresina, PI, Brazil*
[c] *Biodiversity and Biotechnology Research Center, Federal University of Piauí, Parnaíba, Piauí, Brazil*
[d] *Nucleus for Quality Control of Drugs and Related Products (NCQMC), Department of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Pernambuco, Recife, PE, Brazil*
[e] *Laboratory of Experimental Cancerology (LabCâncer), Nucleus of Pharmaceutical Technology, Federal University of Piauí, Teresina, Piauí, Brazil*

# Participações em eventos científicos e apresentação de trabalhos

## CERTIFICADO

Certificamos que **Izabela Borges de Carvalho Lima** apresentou o trabalho intitulado de **NANOPARTÍCULAS DE ZEÍNA PARA INCORPORAÇÃO DE 5-ASA** de autoria de Izabela Borges de Carvalho Lima; Lina Clara Gayoso e Almendra Ibiapina Moreno; Ana Cristina Sousa Gramoza Vilarinho Santana; Ana Victoria Alves Peres; Lorena Almeida Lima; Leide Maria Soares de Sousa; João Paulo da Silva Gomes; Hercília Maria Lins Rolim; Lívio César Cunha Nunes, na forma de *e-Pôster* no I Congresso Digital de Nanobiotecnologia e Bioengenharia (I CDNB) organizado pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e pela *startup* NanoDiversity no período de 01 a 04 de junho de 2020.

**Luciano Paulino da Silva**
Coordenador do I CDNB
Pesquisador Embrapa

**Cínthia Caetano Bonatto**
Vice Coordenadora do I CDNB
Pesquisadora NanoDiversity

Embrapa Laboratório de Nanobiotecnologia NANODIVERSITY TECSINAPSE

## CERTIFICADO

Certificamos que **Lorena Almeida Lima** apresentou o trabalho intitulado de **ENCAPSULAÇÃO DA MESALAZINA EM NANOPARTICULAS DE GOMA DO CAJUEIRO ACETILADA** de autoria de Lorena Almeida Lima; Izabela Borges de Carvalho Lima; Lina Clara Gayoso e Almendra Ibiapina Moreno; Ana Cristina Sousa Gramoza Vilarinho Santana; Sávia Francisca Lopes Dias; Durcilene Alves da Silva; Antonia Carla de Jesus Oliveira; José Lamartine Soares, João Paulo da Silva Gomes; Roger Wallacy Guimarães Oliveira; Hercília Maria Lins Rolim; Lívio César Cunha Nunes na forma de *e-Pôster* no I Congresso Digital de Nanobiotecnologia e Bioengenharia (I CDNB) organizado pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e pela *startup* NanoDiversity no período de 01 a 04 de junho de 2020.

**Luciano Paulino da Silva**
Coordenador do I CDNB
Pesquisador Embrapa

**Cínthia Caetano Bonatto**
Vice Coordenadora do I CDNB
Pesquisadora NanoDiversity

Embrapa Laboratório de Nanobiotecnologia NANODIVERSITY TECSINAPSE

# CERTIFICADO

Certificamos que **Ana Victoria Alves Peres** apresentou o trabalho intitulado de **NANOSISTEMAS A PARTIR DE POLÍMEROS NATURAIS PARA A OTIMIZAÇÃO DO TRATAMENTO DE DOENÇAS INFLAMATÓRIAS INTESTINAIS** de autoria de Ana Victoria Alves Peres; Izabela Borges de Carvalho Lima; Lina Clara Gayoso e Almendra Ibiapina Moreno; Leide Maria Soares de Sousa; Brenda Nayranne Gomes dos Santos; Hercília Maria Lins Rolim; Lívio César Cunha Nunes, na forma de *e-Pôster* no I Congresso Digital de Nanobiotecnologia e Bioengenharia (I CDNB) organizado pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e pela *startup* NanoDiversity no período de 01 a 04 de junho de 2020.

**Luciano Paulino da Silva**
Coordenador do I CDNB
Pesquisador Embrapa

**Cínthia Caetano Bonatto**
Vice Coordenadora do I CDNB
Pesquisadora NanoDiversity

Embrapa | Laboratório de Nanobiotecnologia | NANODIVERSITY | TECSINAPSE

15 anos renorbio rede nordeste de biotecnologia ON-LINE

# CERTIFICADO

29 de junho a 2 de julho de 2021

Certificamos que **IZABELA BORGES DE CARVALHO LIMA** apresentou o trabalho intitulado **Delineamento de nanopartículas a partir de polímeros naturais para encapsulação de mesalazina.**, de autoria de *IZABELA BORGES DE CARVALHO LIMA; Hercília Maria Lins Rolim; Lívio César Cunha Nunes*, no RENORBIO, de **29 de Junho a 02 de Julho de 2021**, em formato online.

Lucymara Fassarella Agnez Lima
Coordenadora Geral do Programa RENORBIO

SBG SOCIEDADE BRASILEIRA DE GENÉTICA

# Publicações de Capítulos de Livro

- ROLIM, H. M. L.; LIMA, I. B. C.; MORENO, L. C. G. A. I.; RAMALHO, T.C.; CAVALCANTI, I. M. F.; NUNES, L.C C. Nanotecnologia Farmacêutica: Conceitos e metodologias In: **Nanotecnologia e saúde.** 1ed. Campinas – São Paulo: Átomo, 2020, v.1, p. 35-62

- ROLIM, H. M. L.; LIMA-NETO, J. S.; LIMA, I. B. C.; MORENO, L. C. G. A. I.; NUNES, L.C C. MEDEIROS, M. G. F.; SILVA, A. P. S. C. L. GUTIERREZ, S. J. C.; LIMA, S. G. Métodos de caracterização em nanotecnologia farmacêutica In: **Nanotecnologia e saúde.** 1ed. Campinas – São Paulo: Átomo, 2020, v.1, p. 64-74



capítulo 3

Nanotecnologia Farmacêutica

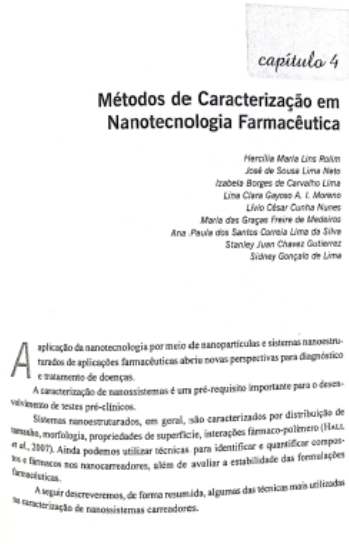
Conceitos e metodologias

Hercília Maria Lins Rolim
Lina Clara Gayoso A. I. Moreno
Izabela Borges de Carvalho Lima
Thaís Cruz Ramalho
Isabella Macário Ferro Cavalcanti
Lívio César Cunha Nunes

Diferentes sistemas nanotecnológicos são desenvolvidos com variadas composições, morfologias, propriedades de superfície e métodos de preparação. A intenção deste capítulo não é descrever todos os nanossistemas estudados e suas metodologias de obtenção, mas, sim, abordar os aspectos mais importantes sobre alguns dos mais conhecidos nanocarreadores de fármacos, moléculas bioativas e agentes de diagnósticos. Nestes termos, descreveremos de forma simplificada, principalmente sobre os lipossomas, nanopartículas lipídicas sólidas, nanopartículas poliméricas, nanoemulsões, dendrímeros, nanogéis e nanossensores.

## Lipossomas

Há pouco mais de 100 anos, o cientista visionário Paul Ehrlich sonhou com compostos que pudessem entregar os fármacos diretamente nas células doentes ou células-alvo, usando pela primeira vez a expressão "balas mágicas". Várias décadas depois, seu sonho se tornou realidade com a criação de uma nova ciência chamada



capítulo 4

Métodos de Caracterização em Nanotecnologia Farmacêutica

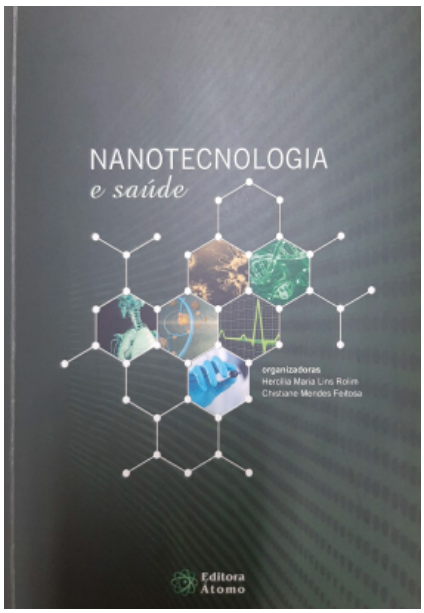
Hercília Maria Lins Rolim
José de Sousa Lima Neto
Izabela Borges de Carvalho Lima
Lina Clara Gayoso A. I. Moreno
Lívio César Cunha Nunes
Maria das Graças Freire de Medeiros
Ana Paula dos Santos Correia Lima da Silva
Stanley Juan Chavez Gutierrez
Sidney Gonçalo de Lima

A aplicação da nanotecnologia por meio de nanopartículas e sistemas nanoestruturados de aplicações farmacêuticas abriu novas perspectivas para diagnóstico e tratamento de doenças.

A caracterização de nanossistemas é um pré-requisito importante para o desenvolvimento de testes pré-clínicos.

Sistemas nanoestruturados, em geral, são caracterizados por distribuição de tamanho, morfologia, propriedades de superfície, interações fármaco-polímero (Hall et al., 2007). Ainda podemos utilizar técnicas para identificar e quantificar compostos e fármacos nos nanocarreadores, além de avaliar a estabilidade das formulações farmacêuticas.

A seguir descreveremos, de forma resumida, algumas das técnicas mais utilizadas na caracterização de nanossistemas carreadores.



# Comprovante de Aprovação no Comitê de Ética em Estudos Animais

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E INOVAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bairro Ininga, Teresina, Piauí, Brasil; CEP: 64049-550
Telefone (86) 3215-5734 _e-mail: ceeapi@ufpi.edu.br

## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "***Desenvolvimento de nanopartículas poliméricas para vetorização da Mesalazina***", registrada nº **604/19**, sob a responsabilidade do **Prof. Dr. LÍVIO CÉSAR CUNHA NUNES do Departamento de Farmácia/CCS/UFPI** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de Pesquisa Científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **Aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFPI) da Universidade Federal do Piauí, em Reunião na presente data **16/12/2019**.

| Finalidade | **( ) Ensino (X) Pesquisa Científica** |
|---|---|
| Vigência da Autorização | **10/01/2020 à 30/08/2020** |
| Espécie/Linhagem/raça | **Camundongo heterogênico/ C57BL/6** |
| Nº de Animais | **163** |
| Peso/ Idade | **25-30g/ 3 meses** |
| Sexo | **Machos** |
| Origem | **Biotério Central da UFPI.** |
| Local de alojamento dos animais durante o experimento | **Biotério Setorial da UFPI - Centro de Ciências da Saúde/CCS** |
| Grau de Invasividade | **1** |

Teresina, 16 de Dezembro de 2019.

Profª. Ivete L. de Mendonça
Comitê de Ética em Experimentação Animal-UFPI
Coordenadora