



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS

DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTICULAS DE XILANA
UTILIZANDO RETICULANTE NÃO TÓXICO VISANDO A
LIBERAÇÃO CÓLON-ESPECÍFICA

SILVANA CARTAXO DA COSTA

CAMPINA GRANDE- PB

2014

SILVANA CARTAXO DA COSTA

**DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTICULAS DE XILANA
UTILIZANDO RETICULANTE NÃO TÓXICO VISANDO A
LIBERAÇÃO CÓLON-ESPECÍFICA**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba - UEPB, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Elquio Eleamen Oliveira

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Elisângela Afonso de Moura Mendonça

CAMPINA GRANDE - PB

2014

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

C837d Costa, Silvana Cartaxo da.

Desenvolvimento de micropartículas de xilana utilizando reticulante não tóxico visando a liberação cólon-específica [manuscrito] / Silvana Cartaxo da Costa. - 2014.

75 p. : il. color.

Digitado.

Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2014.

"Orientação: Prof. Dr. Elquio Eleamen, Departamento de Farmácia".

1. Trimetafosfato de sódio. 2. Xilana. 3. Reticulação polimérica interfacial. 4. Artêmia salina. 5. Micropartículas. I. Título.

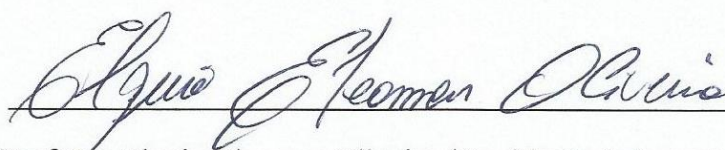
21. ed. CDD 615.9

SILVANA CARTAXO DA COSTA

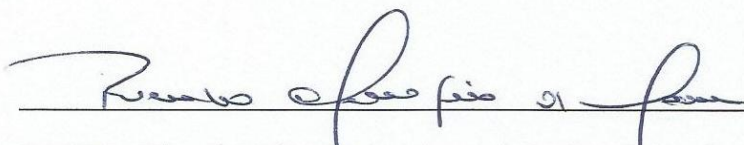
**DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTICULAS DE XILANA
UTILIZANDO RETICULANTE NÃO TÓXICO VISANDO A
LIBERAÇÃO CÓLON-ESPECÍFICA**

Data Da Aprovação 23/05/2014

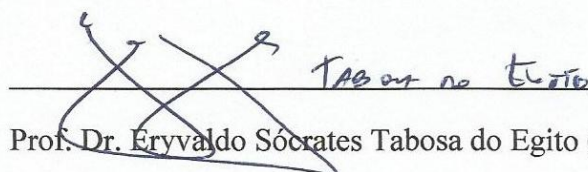
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Elquio Eleamen Oliveira (Presidente da banca)



Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura (Membro interno)



Prof. Dr. Eryvaldo Sócrates Tabosa do Egito (Membro externo)

Aos meus pais, Maria Neuma e Autinoel Costa, por todo amor e confiança em mim. Por sempre acreditarem em meus sonhos e ajudarem a torná-los realidade; e ao meu namorado, Anderson Urtiga, por todos os conselhos e conforto nas horas em que mais precisei, eu dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida e por todas as graças que alcancei e venho alcançando.

Ao meu orientador, Elquio Eleamen, por ter me aceitado como orientanda e por todos os ensinamentos, dedicação e compreensão.

A minha coorientadora, Elisângela Mendonça, por todo apoio e ensinamento e por ter sido fundamental na realização desse trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêutica por todo ensinamento e dedicação e aos meus colegas de sala por todo apoio e amizade.

Ao professor Pablo Queiroz da UFPB por ter disponibilizado seu laboratório para análises.

Aos professores do LSVM, Francisco Jaime, pelas análises de FT-IR, Ricardo Olímpio e Rodrigo Santos, por sempre estarem disponíveis nos momentos de dúvidas.

Ao professor Sócrates do Egito e Henrique Marcelino do Laboratório de Sistemas Dispersos - UFRN, pelas análises dos diâmetros das micropartículas.

Ao CETENE e a Giovanna Eleamen pelas análises de DRX.

Ao CTPETRO-INFRA I e FINEP/LIEM UFRN pelas análises de MEV.

Aos meus amados pais, Autinoel e Maria Neuma, por todo amor e dedicação. Por sempre me apoiarem nas minhas decisões, mesmo diante das dificuldades, e por serem minha fonte inspiradora.

Ao meu namorado, Anderson Urtiga, por todo o companheirismo, carinho, amor, dedicação e por sempre estar comigo em todos os momentos de angústia e de felicidade.

A todos do LSVM, em especial Camilla Aquino, Jaismary Gonzaga e Michelle Pedrosa, por todo companheirismo e amizade.

A minha família que sempre me apoiou em especial Tia Socorro e Tio Geraldo por terem sido os meus pais durante toda essa jornada.

A PROPESQ-UEPB e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

RESUMO

O desenvolvimento de um sistema de liberação cólon-específica utilizando micropartículas poliméricas têm recebido grande atenção no campo farmacêutico. Um grupo interessante de polímeros com potenciais propriedades nessa área são as hemiceluloses. A xilana é uma hemicelulose que tem a capacidade de passar através do trato digestivo inalterada e sua complexa estrutura requer enzimas que são produzidas especificamente pela microflora colônica humana, o que a torna uma interessante matéria-prima na área produção de sistemas de liberação de fármacos. Os sistemas microparticulados podem ser desenvolvidos por várias técnicas. A reticulação polimérica interfacial é uma das principais técnicas para produção de micropartículas à base de polissacarídeos. Porém o uso de reticulantes de alta toxicidade muitas vezes torna o uso desta técnica limitada. O trimetafosfato de sódio (TSTP) é um reticulante de baixa toxicidade, sem efeitos adversos relatados em seres humanos. Esse trabalho teve como objetivo desenvolver micropartículas de xilana utilizando TSTP. As micropartículas foram caracterizadas por microscopia óptica, MEV, DRX e FT-IR. Estudos de toxicidade frente à *artemia salina* Leach foram feitos para comparar as micropartículas produzidas com cloridrato de tereftaloíla e trimetafosfato de sódio. As micropartículas de xilana apresentaram forma esférica, bem individualizada e com superfície bem definida. Todos os diferentes parâmetros influenciaram no tamanho das micropartículas. O espectro de FT-IR das micropartículas foi semelhante ao da xilana, porém com a presença de um pico em 1258 cm^{-1} , que é típico de ligações éster-fosfato, que pode ser atribuído a ligação entre TSTP e a xilana durante o processo de reticulação. As micropartículas de xilana produzidas neste trabalho não apresentaram toxicidade na concentração estudada. Podemos concluir que o TSTP foi capaz de produzir micropartículas de xilana com características físico-químicas bem definidas e de baixa toxicidade.

Palavras-chaves: Trimetafosfato de sódio, xilana, reticulação polimérica interfacial, artêmia salina.

ABSTRACT

The development of a colon-specific delivery system using polymeric microparticles has received great attention in the pharmaceutical field. An interesting group of polymers with potential properties in this area are the hemicellulose. Xylan is a hemicellulose that has the ability to pass through the digestive tract unchanged and its complex structure requires enzymes that are produced specifically by the human colonic microflora, which makes it an interesting raw material in the production of target drug delivery systems. The microparticulate systems can be developed by various techniques. The interfacial crosslinking polymerization is one of the major techniques to produce polysaccharide based microparticles. However, the use of highly toxic crosslinkers often makes the use of this technique limited. The sodium trimetaphosphate (TSTP), a low toxic crosslinking agent, has no adverse effects reported on human beings. The aim of this study was to develop xylan microparticles using sodium trimetaphosphate. The microparticles were characterized by optical microscopy, SEM, XRD and FT-IR. The influence of different parameters on the diameter of the microparticles was analyzed during their development. Toxicity studies against *Artemia salina* Leach were made to compare the microparticles produced with terephthaloyl chloride and sodium trimetaphosphate. Xylan microparticles showed to be spherical shape, well individualized and with a smooth surface. All different parameters influenced the in size of the microparticles. The FT-IR spectrum of microparticles was similar to xylan, but with the presence of the peak at 1258 cm^{-1} , which is typical of phosphate ester bonds, that can be attributed to the bond between TSTP and xylan during the crosslinking process. The xylan microparticles produced in this work showed no toxicity at the concentration studied. It be concluded that TSTP was able to produce xylan microparticles with well defined physicochemical characteristics and low toxicity.

Keywords: Sodium trimetaphosphate, xylan, interfacial crosslinking polymerization, *artemia salina*.

LISTA DE FIGURAS - REVISÃO DA LITERATURA

Figura 1: Estrutura química da xilana.....	25
Figura 2: Estrutura química do Trimetafosfato de sódio.	27
Figura 3: Mecanismo de reação da reticulação de um polissacarídeo com TSTP em meio alcalino.	28

LISTA DE FIGURAS - ARTIGO CIENTÍFICO

Figure 1 - Optical microscope of XMPs (40 \times) (a) and SEM photograph of XMPs (1000x) and 5000x at right side of the picture (b).....	59
Figure 2 - FT-IR spectrum of xylan and XMPs	60
Figure 3 - XRD patterns of TSTP, xylan and XMPs.....	60

LISTA DE TABELAS - REVISÃO DA LITERATURA

Tabela 1: Resumo das estratégias e mecanismo de liberação cólon-específico..... 23

LISTA DE TABELAS - ARTIGO CIENTÍFICO

Table 1 - Evaluated parameters during the development of the crosslinking process.....61

Table 2 - Mean diameter of the microparticles.....61

Table 3 - Toxicity test using brine shrimp larvae (*Artemia saline* Leach) for xylan, for XMPs produced with TSTP (F1-F9) and for XMPs produced with terephthaloyl chloride (XMPs-terephthaloyl chloride).62

LISTA DE ABREIVATURAS E SIGLAS

A/O/A	Emulsão do tipo água/óleo/água
DRX	Difratometria de Raio X
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
FT-IR	Fourier transform infrared
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
NaOH	Hidróxido de Sódio
O/A	Emulsão do tipo óleo/água
O/O	Emulsão do tipo óleo/óleo
P _c	Diéster de fosfato
P _g	Monoéster de fosfato
PP _i	Pirofosfato inorgânico
RONa	Polissacarídeo ligado ao sódio
SEM	Scanning electron microscopy
STPP	Tripolifosfato de sódio
STPP _g	Tripolifosfato de sódio ligado ao polissacarídeo
TG	Termogravimetria
TSTP	Sodium trimetaphosphate
XMPs	Xylan microparticles
XRD	X-ray diffraction

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1. SISTEMAS DE LIBERAÇÃO MODIFICADA	15
2.2. SISTEMAS MICROPARTICULADOS	16
2.2.1. Métodos de obtenção de micropartículas	17
2.2.2. Técnicas de caracterização de micropartículas.....	19
2.3. SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CÓLON-ESPECÍFICA	21
2.4. POLÍMEROS NATURAIS	24
2.4.1. Xilana	24
2.5. TRIMETAFOSFATO DE SÓDIO	26
3. OBJETIVOS	30
3.1. OBJETIVO GERAL	30
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
4. REFERÊNCIAS	31
CAPÍTULO I	44
ARTIGO I	45
CONCLUSÃO	64
ANEXOS	65

1. INTRODUÇÃO

As doenças inflamatórias intestinais (DII), que inclui principalmente Doença de Crohn e Colite Ulcerativa, são caracterizadas por inflamações crônicas do intestino de etiologia desconhecida (HANAUER, 2006; SOUZA et al., 2008) e manifestam-se clinicamente por diarreia, dor abdominal, perda ponderal e náuseas (BIONDO-SIMÕES et al., 2003). Representando sério problema de saúde, DIIs atingem preferencialmente pessoas jovens, com recidivas frequentes e formas clínicas de alta gravidade (SOUZA et al., 2008).

A prevalência e incidência dessas doenças têm se estabilizado em áreas de alta incidência como América do Norte e Europa, porém continuam a crescer em áreas que anteriormente apresentavam baixa incidência, como Ásia e Europa Oriental (NG, 2014). Além disso, estima-se que até 1,4 milhões de pessoas nos Estados Unidos e 250.000 pessoas no Reino Unido sofrem dessa doença. Essa condição crônica geralmente requer uma vida inteira de cuidados e tratamento medicamentoso (NG et al., 2013).

O tratamento das DIIs é difícil tanto pela via oral como pela via retal, que é pouco aceita por parte dos pacientes e raramente é eficaz na liberação de fármacos no cólon ascendente (FREIRE et al., 2006). Por via oral, as diferentes condições do trato gastrointestinal, incluindo as várias condições de pH, as possíveis degradações enzimáticas e a interação fármaco/alimento, aumentam drasticamente a complexidade de se administrar um fármaco por esta via de administração (ZHANG et al., 2013).

O controle da liberação de fármacos em sítios de ação específicos é capaz de melhorar a cinética de liberação e o regime de dosagem das substâncias, por meio da utilização de carreadores (SCHAFFAZICK et al., 2003). Dentre estes carreadores estão as micropartículas que são partículas sólidas, geralmente esféricas, com dimensões da ordem de 1 μm a 1000 μm (CAMPOS et al., 2013). As micropartículas podem ser constituídas por matrizes poliméricas (microesferas) onde o fármaco pode estar adsorvido, incorporado na matriz ou ligado covalentemente à rede tridimensional formada pelo polímero ou por sistemas reservatórios (microcápsulas) onde o fármaco encontra-se encapsulado na forma sólida, líquida ou gasosa, separado do meio externo por uma membrana polimérica (ROSSANEZI, 2008).

Os sistemas de liberação cólon-específica têm por finalidade proteger o fármaco

contra a degradação no estômago e no intestino delgado, para então liberar quantidade máxima de fármaco no cólon. Além disso, o cólon é conhecido por ser um local de absorção adequada para peptídeos e proteínas uma vez que ele apresenta uma menor diversidade da microflora normal, reduzida atividade proteolítica, pH próximo da neutralidade e motilidade bastante baixa o que garante um tempo de residência elevado, tornando esses sistemas bastante úteis como carreadores de peptídeos e proteínas para essa região (SINHA & KUMRIA, 2002; OLIVEIRA, E. E., 2006; FUNDADOR et al., 2012; LI, B.-Z. et al., 2012).

Desta forma, a liberação do fármaco para o local de ação específico, oferece várias vantagens em relação aos medicamentos convencionais. As principais vantagens são a prevenção dos efeitos adversos em tecidos saudáveis e a maior concentração do princípio ativo no tecido (órgão) alvo (MINKO, 2004).

Os polímeros biodegradáveis têm sido de grande interesse na tecnologia de liberação controlada, devido à capacidade de serem reabsorvidos pelo corpo (BRANNON PEPPAS, 1995). Um grupo interessante de polímeros com propriedades potenciais para uso na área biomédica são as hemiceluloses, que são polissacarídeos disponíveis em madeiras e plantas anuais (resíduos de culturas agrícolas, tais como espigas e grãos de milho, hastes de trigo, cascas de semente e caules de cana de açúcar) (GARCIA et al., 2001; BIGAND et al., 2011; SUN, Y.-C. et al., 2011).

A xilana, a mais comum hemicelulose, representa mais de 60% dos polissacarídeos existentes nas paredes celulares de espigas de milho (GARCIA et al., 2001), sendo a principal hemicelulose na maioria das plantas e o segundo polímero mais abundante na natureza, correspondendo a um terço da biomassa disponível na terra (KAYSERLIOGLU et al., 2003). Esse polissacarídeo pode ser insolúvel em água e solúvel em soluções alcalinas, sendo capaz de sofrer hidrólise enzimática por uma classe de enzimas denominada xilanases, que são produzidas por algumas espécies bacterianas existentes no organismo humano e localizadas na região colônica (FUJITA et al., 2002; NAGASHIMA JUNIOR, 2009), o que a torna um polímero promissor para a produção de sistemas de liberação de fármacos cólon-específica (OLIVEIRA, E. E. et al., 2010).

Além disso, o uso de um agente reticulante não tóxico é fundamental na produção de micropartículas medicamentosas. O trimetafosfato de sódio é uma

alternativa para o desenvolvimento de sistemas microparticulados, uma vez que ele é um reticulante de baixa toxicidade e não apresenta efeitos adversos aos seres humanos, sendo descrito na literatura como um ótimo reticulante para amido e seus derivados (FANG et al., 2008; LI, B.-Z. et al., 2009a; LI, B.-Z. et al., 2009b).

O desenvolvimento de um sistema a base de um polímero natural, capaz de melhorar a biodisponibilidade de fármacos utilizados no tratamento de DIIs, bem como a utilização de um reticulante não tóxico durante o desenvolvimento de micropartículas é de fundamental importância. Neste contexto, esse trabalho teve como objetivo desenvolver um sistema de liberação a base de xilana usando reticulante não tóxico visando a liberação cólon-específica.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. SISTEMAS DE LIBERAÇÃO MODIFICADA

A via oral é considerada a via de administração mais conveniente para a administração de uma forma farmacêutica, sendo a mais aceita por grande maioria dos pacientes (ANSEL et al., 2000; SOUSA et al., 2008; FUNDADOR et al., 2012). Porém, essa via é a mais complexa rota para a entrega de um fármaco, uma vez que ele está sujeito a diversas condições fisiológicas variáveis para cada organismo, como fluidos gástricos e intestinais, tempo de esvaziamento gástrico, tempo de trânsito e motilidade intestinal (SOUSA et al., 2008; DA SILVA, 2009).

O controle da liberação do fármaco durante o trato gastrointestinal representa uma importante área de pesquisa no estudo de sistemas de liberação de fármacos permitindo melhorar a biodisponibilidade de muitos fármacos, em especial, para aqueles que apresentam problemas com a estabilidade, solubilidade e permeabilidade durante a passagem no seguimento superior do trato gastrointestinal (BAGLIOTTI MENEGUIN et al., 2014).

Assim, os sistemas de liberação modificada são projetados para modularem a liberação do fármaco, retardando ou prolongando a sua dissolução (PEZZINI et al., 2007). Estas formas farmacêuticas são alternativas às formas convencionais e permitem obter uma maior biodisponibilidade e eficácia terapêutica (LOPES, 2012). De acordo com Da Silva (2009) esses sistemas podem apresentar outras denominações baseado na velocidade e na frequência de liberação do fármaco. Nos sistemas de liberação controlada o fármaco é liberado lentamente e em quantidade constante por unidade de tempo. Já nos sistemas de liberação retardada a liberação do fármaco ocorre em período de tempo bem definido após administração da forma farmacêutica, como é o caso dos medicamentos com revestimento entérico, os quais passam pelo estômago intactos, sendo liberados apenas no intestino. Nas formas farmacêuticas de liberação repetida uma dose inicial do princípio ativo é liberada pela superfície do sistema e uma segunda dose é liberada a partir do núcleo interno. As formas farmacêuticas de liberação

prolongada são elaboradas de modo que a administração de uma só unidade de dose proporcione a liberação imediata de uma quantidade de medicamento que prontamente produz o efeito terapêutico desejado, e a liberação gradual e contínua de quantidades adicionais para manter esse nível de efeito durante um período prolongado (ANSEL et al., 2000; DA SILVA, 2009).

Geralmente, esses novos sistemas são concebidos para se atingir um efeito terapêutico prolongado, pois visam à liberação contínua do fármaco em local desejado por um determinado período de tempo após a administração de uma única dose do medicamento (LACHMAN et al., 2001). E, além disso, comparadas as formas farmacêuticas convencionais, esses sistemas oferecem uma maior eficácia, toxicidade reduzida, maior aceitação do paciente e conveniência (KUMAR, M., 2000).

2.2. SISTEMAS MICROPARTICULADOS

A tecnologia da microencapsulação tem sido utilizada em diversos campos da indústria, como agrícola, alimentícia, cosmecêutica e farmacêutica (ESTEVINHO et al., 2013). Sendo definida como um processo pelo qual é possível isolar um produto ativo do meio externo através da formação de microesferas ou microcápsulas (HIRECH et al., 2003).

As micropartículas são sistemas micrométricos (1-1000 μm) que podem ser classificados, de acordo com a sua constituição, em: microesferas, que são sistemas matriciais monolíticos, e microcápsulas, que são sistemas reservatórios contendo uma substância ativa ou núcleo circundado por uma membrana ou revestimento (SILVA, C. et al., 2003; PEREIRA, M. R. et al., 2006). As microesferas são constituídas por matrizes poliméricas onde o fármaco pode estar adsorvido, incorporado ou ligado covalentemente à rede tridimensional formada pelo polímero. Já as microcápsulas são sistemas reservatórios onde o fármaco encontra-se encapsulado na forma sólida, líquida ou gasosa, separado do meio externo por uma membrana polimérica (ROSSANEZI, 2008).

As aplicações para esses sistemas microparticulados na indústria farmacêutica são muito variadas. Entre essas aplicações estão: a proteção contra os agentes atmosféricos (umidade, luz, calor e/ou oxidação), diminuição ou eliminação da irritação gástrica ou efeitos não desejáveis provocados por alguns fármacos, redução da volatilidade, a utilização de compostos que são incompatíveis ou reativos entre si dentro da mesma formulação, melhoram as características de escoamento de pós, facilitação do manuseio de substâncias tóxicas, auxílio à dispersão de substâncias insolúveis em meio aquoso e produção de formas farmacêuticas de liberação controlada, sustentada e sítio-específico (SILVA, C. et al., 2003; PEREIRA, M. R. et al., 2006; LEONEL et al., 2010).

2.2.1. Métodos de obtenção de micropartículas

Diversos métodos podem ser utilizados para preparar micropartículas poliméricas. Onde, a escolha do método depende das características do polímero, do fármaco e do uso pretendido (BAZZO et al., 2008). Entre esses métodos de microencapsulação estão: a coacervação, a evaporação do solvente, a secagem por aspersão, a reticulação polimérica interfacial, entre outros (GARCIA et al., 2001; NAGASHIMA et al., 2008).

A coacervação é um dos métodos de microencapsulação mais antigo e mais utilizado. É um fenômeno que envolve a dessolvatação de um polímero e a sua separação da respectiva solução polimérica em duas fases líquidas imiscíveis entre si. O polímero então se deposita ao redor do agente ativo a ser recoberto pela alteração das características físico-químicas do meio, como a temperatura, a força iônica, o pH ou a polaridade (SUAVE et al., 2006; SEVERINO et al., 2011). Assim, a técnica de coacervação pode ser dividida em dois tipos: a simples, na qual a separação de fases é induzida pela adição de um álcool ou sal, ou pela mudança de temperatura ou pH e que envolve a deposição de uma simples camada polimérica, e a complexa, em que um polímero de carga oposta à solução polimérica é adicionado levando a separação de fase por interação ânio-cátion (SILVA, C. et al., 2003; DA SILVA, 2009). Além disso, a coacervação pode ser realizada em meio aquoso ou orgânico, dependendo das propriedades físico-químicas do polímero empregado e do material a ser encapsulado

(SUAVE et al., 2006; SEVERINO et al., 2011).

A técnica evaporação do solvente consiste na dissolução ou dispersão do fármaco frequentemente em um solvente orgânico contendo o polímero (fase dispersa), que é emulsionada com uma fase contínua (frequentemente aquosa) imiscível com a primeira. A extração do solvente da fase dispersa pela fase contínua, acompanhada pela evaporação do solvente, transforma as gotículas da fase dispersa em partículas sólidas. Após isso, as micropartículas são secas para então eliminar resíduos de solvente. As características lipofílicas e hidrofílicas do fármaco influenciam no método de preparação das micropartículas. Se o fármaco for insolúvel em água a emulsão do tipo óleo em água (O/A) é a mais utilizada. Porém, se o fármaco for hidrofílico são utilizadas emulsões do tipo água/óleo/água (A/O/A), óleo /água (O/A) e óleo/óleo (O/O). Na primeira a solução aquosa do fármaco é emulsionada com a fase orgânica, essa emulsão é então dispersa em um segundo solvente, formando a emulsão A/O/A. A segunda, um co-solvente é utilizado para solubilizar o fármaco. Já na terceira, a fase aquosa é substituída por um óleo (FREITAS et al., 2005; LI, M. et al., 2008; SEVERINO et al., 2011).

Por sua vez, a técnica de microencapsulação através de secagem por aspersão consiste na passagem da suspensão ou dispersão polimérica através de um orifício atomizador para a câmara de secagem, sob a forma de gotículas, em uma corrente de ar quente que promove a rápida secagem das gotículas que são separadas do fluxo de gás de secagem, obtendo-se assim as micropartículas (DA SILVA, 2009; PAUDEL et al., 2013). Quando o princípio ativo é dissolvido ou suspenso na solução polimérica o processo conduz à obtenção de microesferas. Porém, quando a substância é emulsificada na solução polimérica são obtidas microcápsulas (SEVERINO et al., 2011).

A reticulação polimérica interfacial consiste basicamente na formação de uma emulsão contendo o agente reticulante na fase dispersa. Para produção da emulsão são utilizados dois líquidos imiscíveis, no qual o polímero encontra-se solubilizado nas gotículas da fase dispersa. Em seguida é realizado a reticulação, induzida por um agente reticulante no sistema que proporciona a ligação entre as unidades poliméricas após a deposição do polímero na interface da gotícula, formando assim a micropartícula (OLIVEIRA, E. E., 2006; DA SILVA, 2009). O agente reticulante pode ser adicionado

na fase aquosa, juntamente com o polímero (LI, B.-Z. et al., 2009b) ou após a formação da emulsão (PARIOT et al., 2000). Entre os agentes reticulantes utilizados estão o cloridrato de tereftaloíla e o trimetafosfato de sódio (LEVY & ANDRY, 1990; LEVY et al., 1991; FANG et al., 2008; LI, B.-Z. et al., 2009a; LI, B.-Z. et al., 2009b; SILVA, A. E. et al., 2013)

2.2.2. Técnicas de caracterização de micropartículas

2.2.2.1. Microscopia Eletrônica de Varredura

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) tem sido uma ferramenta utilizada pelos pesquisadores em várias áreas de atuação, uma vez que ela abrange um conjunto de técnicas que possibilitam a caracterização do material a ser estudado (DEDAVID et al., 2007). Ela se baseia na formação de imagens utilizando um feixe de elétrons ao invés de um feixe de luz. No caso de varredura, o feixe de elétrons varre a amostra e o que se analisa são os elétrons refletidos ou secundários (STORI, 2010).

Durante o desenvolvimento de micropartículas, é de grande relevância a morfologia de suas estruturas. Assim, com o MEV é possível observar a forma, o tamanho, as características de superfície e porosidade das mesmas (MONTANHA, 2012).

2.2.2.2. Difratomia de Raio X (DRX)

A DRX é uma técnica utilizada na caracterização da estrutura de materiais com base no seu caráter cristalino e identifica a interação entre o feixe incidente e os elétrons dos átomos componentes da amostra analisada através da detecção dos fótons difratados. Em materiais amorfos, é possível determinar o grau de cristalinidade residual que possa estar presente nesse material (DA SILVA, 2009).

A partir dessa técnica é possível analisar a presença do fármaco nas formulações e como ele se encontra na matriz. Além disso é possível verificar a presença de outros componentes, tomando-se como base os picos característicos de cada material que estarão presentes ou não no difratograma de cada formulação (MENDES, 2011).

2.2.2.3. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

A espectroscopia na região do infravermelho é considerada um processo analítico-instrumental que avalia propriedades de absorção, emissão e reflexão de energia eletromagnética em cada região do espectro (SILVERSTEIN & WEBSTER, 2000). Ela baseia-se na absorção de radiação infravermelha por moléculas de uma determinada substância, sendo utilizada na identificação de grupos funcionais, que absorvem em frequência característica de radiação na região do infravermelho (PEREIRA, P. H. L., 2010).

Nos trabalhos com micropartículas essa técnica é utilizada para verificar a interação entre os materiais utilizados durante o desenvolvimento da formulação, por meio da visualização dos grupos característicos da molécula, bem como o surgimento de novos grupos ou ligações nos espectros (DA SILVA, 2009; DALAGNOL, 2011; MONTANHA, 2012).

2.2.2.4. Análise Térmica

A análise térmica refere-se a um grupo de técnicas nas quais propriedades físico-químicas de uma substância são mensuradas em função do tempo ou da temperatura enquanto a amostra é submetida a um programa controlado de temperatura. Dentre essas técnicas encontra-se a Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e a Termogravimetria (TG), que são as mais difundidas e empregadas para o desenvolvimento de diferentes estudos (RODRIGUES et al., 2005).

A TG é utilizada para medir a variação de massa em função da temperatura em uma atmosfera controlada sob um programa de aquecimento (OLIVEIRA, M. A. et al., 2011). As curvas obtidas fornecem informações relativas à composição e estabilidade térmica da amostra, dos produtos intermediários e do resíduo formado. Além disso, fatores instrumentais e relacionados às características da amostra podem influenciar a natureza, a precisão e a exatidão dos resultados experimentais (SILVA, E. C. et al., 2007).

A DSC é a técnica de análise térmica na qual se mede a diferença de energia fornecida à substância e a um material de referência termicamente estável em função da temperatura, enquanto a substância e o material de referência são submetidos a uma programação controlada de temperatura (SILVA, E. C. et al., 2007).

2.3. SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CÓLON-ESPECÍFICA

Os sistemas de liberação cólon-específica ganharam maior importância para a administração sistêmica de medicamentos e também para o tratamento de doenças locais (LUPPI et al., 2008), uma vez que a entrega do medicamento através do cólon oferece inúmeras vantagens terapêuticas. Fármacos, que são degradados no estômago e metabolizados por enzimas pancreáticas, são minimamente afetados no cólon. Além disso, o cólon foi citado como um local promissor para absorção sistêmica de peptídeos e proteínas, devido ao ambiente menos hostil, em comparação com o estômago e intestino delgado, bem como a existência de transportadores específicos (MINKO, 2004).

O cólon apresenta características que o tornam um excelente local de ação de fármacos. Por ser rico em tecido linfóide permite que a absorção de antígenos para os mastócitos da mucosa do cólon produza uma rápida produção local de anticorpos, o que ajuda na entrega eficiente de vacina; Ele é considerado o local mais adequado para a distribuição de peptídeos e proteínas, em comparação com o intestino delgado, uma vez que no cólon há uma menor intensidade e diversidade de enzimas digestivas e a atividade proteolítica da mucosa do cólon é menor com relação ao intestino delgado. Além disso, o cólon apresenta um longo tempo de residência, o que o torna altamente

sensível para aumentar a absorção e um pH próximo da neutralidade (CHOURASIA & JAIN, 2003; KUMAR, R. et al., 2009; PHILIP & PHILIP, 2010). Outra característica do cólon é sua microflora colônica, a qual consiste principalmente de bactérias anaeróbias ou microrganismos anaeróbios facultativos que produzem uma variedade de enzimas (LEOPOLD, 1999). Sua microflora corresponde a cerca de 400 espécies distintas de bactérias, com as *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium* e os *Lactobacillus* superando as outras espécies (VANDAMME et al., 2002; YANG, L., 2008).

Devido a localização distal do cólon no trato gastrointestinal, o sistema de liberação cólon específico deve ser dotado de algumas particularidades, tais como: proteger o fármaco das condições fisiológicas adversas encontradas no estômago, e prevenir a liberação do fármaco no trato gastrointestinal superior (OLIVEIRA, E. E., 2006). Logo, o sistema de liberação deve ser desenvolvido com base nos obstáculos do trato gastrointestinal. As várias estratégias desenvolvidas para alcançar este objetivo utilizam as características específicas desse órgão, ou seja, pH, microflora, enzimas e tempo de trânsito. Porém, os mesmos podem variar de um indivíduo para outro (VANDAMME et al., 2002).

As várias abordagens utilizadas para direcionar os fármacos ao cólon incluem: a formação de um pró-fármaco, sistemas tempo-dependente, pH-dependentes, pressão-dependente, e a utilização de polímeros biodegradáveis (Tabela 1) (SINHA & KUMRIA, 2001; YANG, L. et al., 2002; SINHA & KUMRIA, 2003; FREIRE et al., 2006).

Devido à presença de enzimas biodegradáveis como β -glicosidase, β -xilosidase, xilanase, α -arabinosidase, β -galactosidase, nitrorredutase, azorredutase, produzidas pela microflora colônica, a utilização de polímeros biodegradáveis para a liberação de fármaco cólon-específica parece ser uma abordagem mais específica em comparação com outras abordagens (SINHA & KUMRIA, 2001). Uma vez que esses polímeros naturais são de fácil obtenção, fácil modificação química, estáveis, praticamente atóxicos e biodegradáveis (DA SILVA, 2009). Além disso, eles permanecem intactos ao passar pelo estômago e intestino delgado sendo degradado apenas por essas enzimas produzidas no cólon (SINHA et al., 2004).

Tabela 1: Resumo das estratégias e mecanismo de liberação cólon-específico.

ESTRATÉGIA PARA LIBERAÇÃO CÓLON-ESPECÍFICO	MECANISMO DE LIBERAÇÃO DO FÁRMACO
Pró-fármaco	Ocorre a quebra da ligação entre o fármaco e o carreador via redução ou hidrólise por enzimas (ZAWILSKA et al., 2013; CLAS et al., 2014).
Sistemas tempo-dependentes	O sistema deve ser estável no ambiente ácido do estômago e, após a passagem ao intestino, acionar o mecanismo responsável pelo tempo pré-determinado de latência o qual deve simular a permanência do sistema no intestino delgado e posteriormente deve liberar o princípio ativo (FREIRE et al., 2006).
Sistemas pH-dependentes	Tem como base um revestimento poliméricos insolúveis no pH baixo do trato gastrointestinal superior e se dissolve no pH mais elevado do intestino distal (MIHAELA FRICIU et al., 2013).
Sistemas pressão-dependentes	Com base na pressão osmótica ao longo do intestino o sistema absorve água, intumescce e libera o fármaco do seu interior (FREIRE et al., 2006).
Polímeros biodegradáveis	Ocorre a degradação do polímero, natural ou sintético, pela microflora do cólon e o fármaco é liberado do sistema (SINHA & KUMRIA, 2001).

2.4. POLÍMEROS NATURAIS

Os carboidratos são polímeros naturais encontrados em abundância na natureza, podendo ser facilmente modificados quimicamente e bioquimicamente e sendo considerados estáveis, seguros, atóxicos, hidrofílicos e com capacidade de formarem gel; além de serem biodegradáveis, o que sugere sua utilização em sistemas de liberação de fármacos em locais específicos (SINHA & KUMRIA, 2001).

Esses polímeros vêm recebendo grande atenção nas indústrias farmacêuticas e em pesquisas para o desenvolvimento de novos sistemas de liberação de fármacos para a região do cólon. A utilização desses polímeros como sistemas de liberação cólon-específico baseia-se no fato dele ser degradado pelas enzimas produzidas pelas bactérias anaeróbicas existentes nessa região, além de sua integridade durante a passagem pelo trato gastrointestinal superior (SHUKLA & TIWARI, 2012).

Um grupo interessante de polímeros com potenciais propriedades para uso nessa área são as hemiceluloses (GARCIA et al., 2001), que são os polissacarídeos não celulósicos mais abundantes na biomassa (LIGERO et al., 2011), formado por um complexo de carboidratos poliméricos incluindo xilana, xiloglicana (heteropolímero de D-xilose e D-glicose), glicomanana (heteropolímero de D-glicose e D-manose), galactoglicomanana (heteropolímero de D-galactose, D-glicose e a D-manose) e arabinogalactana (heteropolímero de D-galactose e arabinose) (COLLINS et al., 2005; CHAA et al., 2008; BIGAND et al., 2011).

2.4.1. Xilana

A xilana (Figura 1) é a principal hemicelulose na maioria das plantas, sendo um polissacarídeo estrutural importante nas células vegetais, e o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza, representando cerca de um terço de todo o carbono orgânico renovável na terra (KAYSERILIOGLU et al., 2003; COLLINS et al., 2005; YANG, R. et al., 2005; OLIVEIRA, E. E. et al., 2010; CUYVERS et al., 2011). Dependendo de sua origem, a xilana pode ser encontrada em diversas variações, mas

com todas apresentando a β -(1 \rightarrow 4)-D-xilopirranose como cadeia principal (SEDLMEYER, 2011; FUNDADOR et al., 2012). Ela pode ser extraída de diferentes produtos agrícolas incluindo a palha de trigo, caules de milho e espiga, sorgos e cana de açúcar e de resíduos florestais e despolpa provenientes das folhosas e resinosas (KAYSERILIOGLU et al., 2003).

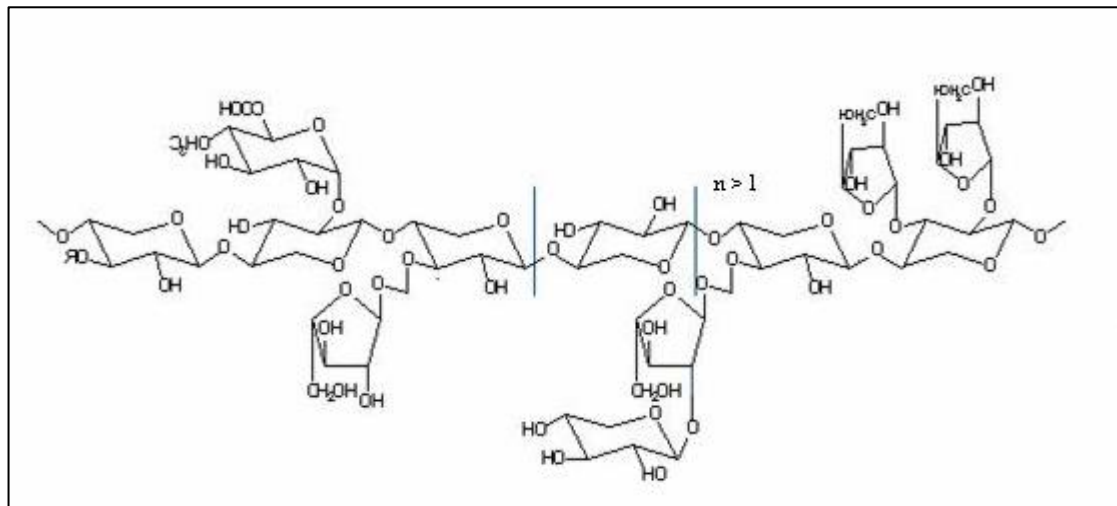


Figura 1: Estrutura química da xilana (EBRINGEROVÁ, A. & HEINZE, 2000).

Segundo Sedlmeyer (2011), a classificação utilizada para a caracterização da xilana é baseada no grau de substituição e nos tipos de grupos laterais acoplados a sua cadeia principal. Logo, dependendo de sua origem a cadeia pode estar ligada a diferentes açúcares como ácido 4-O-metil-D-glicurônico, O-acetil-L-arabinose, L-arabinose e ácido D-glicurônico (OLIVEIRA, E. E. et al., 2010; SHI et al., 2014). Sendo a estrutura química da xilana do sabugo de milho constituída principalmente por ácido D-glicurônico, L-arabinose e D-xilose (GARCIA et al., 2000). Além do mais, a xilana apresenta-se interligada com outras estruturas, até mesmo com a lignina, através de pontes de ácido ferúlico fazendo conexões com substituintes de arabinofuranose em sua cadeia principal (VAN DONGEN et al., 2011). Sua estrutura em plantas anuais é mais complexa devido a presença de arabinofuranose, xilopirranose, ramnose, ácido glicurônico e grupos acetil ligados a cadeia principal (FUNDADOR et al., 2012).

A xilana apresenta vasta aplicabilidade na indústria alimentícia e farmacêutica (DEUTSCHMANN & DEKKER, 2012; SHI et al., 2014). Estudos mostram que a

xilana apresenta várias propriedades tais como atividade anti-inflamatória e imunomoduladora, ação inibitória sobre a taxa de crescimento de tumores e atividade mutagênica (EBRINGEROVÁ, ANNA et al., 1998; EBRINGEROVÁ, A. & HROMÁDKOVÁ, 2002; SUN, X.-F. et al., 2013).

Ela pode ser insolúvel em água e solúvel em soluções alcalinas, podendo ser hidrolisada e convertida a xilose por uma classe de enzimas denominada xilanases. Essas enzimas são produzidas por algumas espécies bacterianas existentes no organismo humano e localizadas em nível de cólon (FUJITA et al., 2002; NAGASHIMA JUNIOR, 2009). A xilana insolúvel em água (wis-X) apresenta baixa concentração de arabino-(4-O-metilglicurônio). Já a solúvel (ws-X) é composta por uma cadeia principal similar, porém, além de arabinosil e ramos de glicuronosil, é constituída também por cadeias laterais de dissacarídeos, compostas por xilose e arabinose, bem como pequenas quantidades de galactose (EBRINGEROVA et al., 1998).

Estudos mostram que a xilana tem a capacidade de passar através do trato digestivo inalterado. Esta resistência à digestão a torna elegível como um potencial excipiente que pode ser usado na indústria farmacêutica (GARCIA et al., 2001). Além do mais, devido a sua complexa estrutura, a sua degradação completa requer a atividade de algumas enzimas que são especificamente produzidas pela microflora colônica humana (NAGASHIMA et al., 2008). Portanto, a capacidade da xilana em passar pelo trato digestivo sem sofrer alterações, juntamente com a presença de enzimas específicas para biodegradabilidade no cólon, faz desse polímero uma matéria-prima adequada para área médica e especialmente como carreador de fármacos pra a liberação cólon-específica (SINHA & KUMRIA, 2001; OLIVEIRA, E. E. et al., 2010).

2.5. TRIMETAFOSFATO DE SÓDIO

Os reticulantes são moléculas de peso molecular bem menor quando comparado ao peso molecular da cadeia principal entre duas ligações cruzadas consecutivas, normalmente apresentando, no mínimo, dois grupos funcionais reativos que permitam a formação de ponte entre cadeias poliméricas (COSTA JR. & MANSUR, 2008). Neste sentido, os grupos amina e/ou hidroxila das redes poliméricas interagem com

determinados agentes de reticulação permitindo a formação de redes poliméricas insolúveis em água (PAULINO, 2008).

Vários agentes de reticulação são utilizados no desenvolvimento de micropartículas. Dentre esses reticulantes estão o cloridrato de tereftaloíla e o glutaraldeído. Este último foi descrito na literatura como um dos mais comuns reticulantes para o desenvolvimento de micropartículas de amido. O primeiro foi utilizado eficazmente no desenvolvimento de micropartículas de xilana e de amido (MAO et al., 2004; LI, B.-Z. et al., 2009b; SILVA, A. E. et al., 2013). Entretanto, esses agentes de reticulação são conhecidos por serem tóxicos (LI, B.-Z. et al., 2009b). Assim, entre os agentes de reticulação que estão sendo recentemente utilizados e que possuem características extremamente favoráveis para aplicação como a não toxicidade e a solubilidade em água estão: o trimetafosfato de sódio, tripolifosfato de sódio e os ácidos dicarboxílicos (PAULINO, 2008).

O trimetafosfato de sódio (TSTP) (Figura 2) é um trifosfato cíclico (LACK et al., 2007; BEJENARIU et al., 2009), obtido pela condensação de ácido fosfórico e pirofosfato em alta temperatura. Por não apresentar efeitos nocivos à saúde descritos na literatura, foi relatado como um agente reticulante eficaz para amidos (FANG et al., 2008).

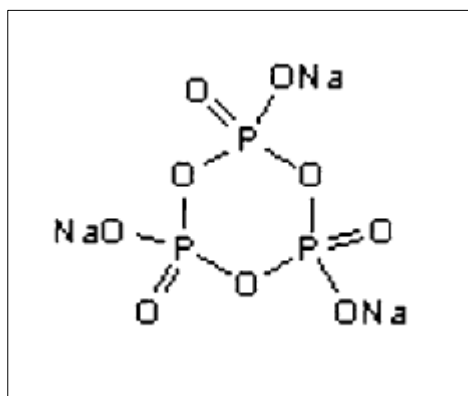


Figura 2: Estrutura química do Trimetafosfato de sódio.

Esse agente reticulante é um sólido de baixa toxicidade e sem efeitos adversos em seres humanos (WOO & SEIB, 1997; DULONG et al., 2004; GUI-JIE et al., 2006). Além disso, ele não reage com grupos carboxílicos e a reticulação ocorre através de

grupos hidroxila formando ligações do tipo éster (DULONG et al., 2004; AUTISSIER et al., 2010).

Lack et al. (2007) apresentaram em seu trabalho o mecanismo de reação de reticulação entre o polissacarídeo e o TSTP em meio alcalino (Figura 3). Eles observaram que os grupos hidroxilas do polissacarídeo são transformados em alcoolatos (RONa, onde RO é o polissacarídeo ligado ao sódio), com a presença do NaOH (Figura 3a). A abertura do anel do TSTP pode ocorrer por dois caminhos: ataque do RONA ao TSTP formando tripolifosfato de sódio ligado ao polissacarídeo (STPP_g) (Figura 3b) e ataque do NaOH ao TSTP formando o tripolifosfato de sódio (STPP) (Figura 3b). Além disso, o STPP_g pode ser atacado pelo RONA dando origem a P_c (diéster de fosfato) e PP_i (pirofosfato inorgânico) (Figura 3c) e pelo NaOH produzindo P_g (monoéster de fosfato) e PP_i (Figura 3c).

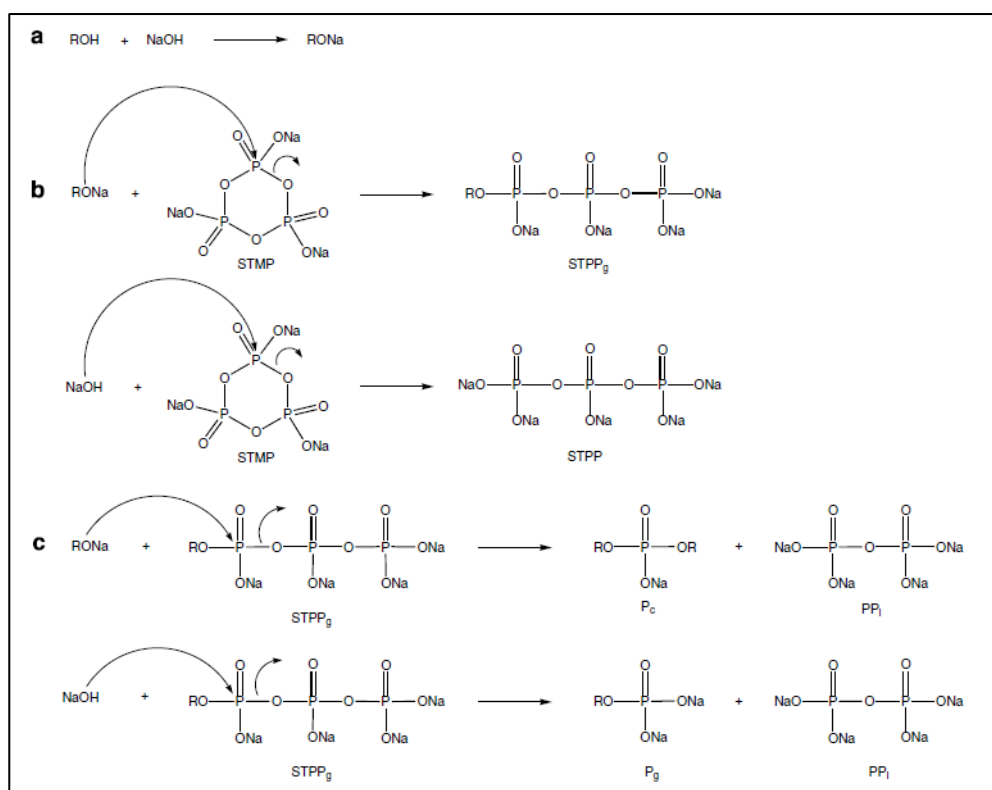


Figura 3: Mecanismo de reação da reticulação de um polissacarídeo com TSTP em meio alcalino (LACK et al., 2007).

Bejenariu et al. (2009) também estudaram a reação de reticulação da xantana com TSTP, e observaram que essa reação começa a partir da transformação dos grupos hidroxilas da xantana em alcoolatos como um resultado da presença do NaOH. Enquanto isso o TSTP vai sendo quebrado, devido a alcalinidade do meio, e os alcoolatos vão se ligando ao TSTP formando ligações éster fosfato. Além do mais, as condições alcalinas determinam a degradação do TSTP pela abertura do ciclo trifosfato (KASEMSUWAN et al., 1998; BEJENARIU et al., 2009; SANG et al., 2010).

Gliko-kabir et al. (2000) usaram o TSTP para reticular a goma guar com o intuito de reduzir sua propriedade de intumescimento. A partir disso ele pode concluir que a reticulação desse polissacarídeo com TSTP pode ser usada na produção de hidrogéis com propriedades de intumescimento controladas e reduzidas (GLIKO-KABIR et al., 2000b). Além disso, a goma guar fosfatada a partir do TSTP pode ser usada potencialmente como transportador de fármacos cólon-específico administradas oralmente com baixa solubilidade em água (GLIKO-KABIR et al., 2000a).

Assim, o TSTP tem sido utilizado como agente de reticulação na indústria de alimentos para reticular amido, como também na produção de sistemas de liberação cólon-específica (MAIRE et al., 2005).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver micropartículas de xilana utilizando reticulante não tóxico visando a liberação cólon-específica.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver micropartículas de xilana pela técnica de reticulação polimérica interfacial usando trimetafosfato de sódio como agente reticulante;
- Caracterizar físico quimicamente o sistema obtido;
- Avaliar a influência dos diferentes parâmetros de produção durante o desenvolvimento das micropartículas;
- Realizar estudo preliminar de toxicidade do sistema.

4. REFERÊNCIAS

ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G. & ALLEN, L. V. Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. 8 ed. São Paulo: Premier, 2000.

AUTISSIER, A.; LE VISAGE, C.; POUZET, C. et al.

Fabrication of porous polysaccharide-based scaffolds using a combined freeze-drying/cross-linking process. **Acta Biomaterialia**, v. 6, p. 3640–3648, 2010.

BAGLIOTTI MENEGUIN, A.; STRINGHETTI FERREIRA CURY, B. & EVANGELISTA, R. C. Films from resistant starch-pectin dispersions intended for colonic drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 99, n. 0, p. 140-149, 2014.

BAZZO, G. C.; LEMOS-SENNA, E.; GONÇALVES, M. C. et al. Effect of preparation conditions on morphology, drug content and release profiles of poly(hydroxybutyrate) microparticles containing piroxicam. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, p. 914-921, 2008.

BEJENARIU, A.; POPA, M.; DULONG, V. et al. Trisodium trimetaphosphate crosslinked xanthan networks: synthesis, swelling, loading and releasing behaviour. **Polymer Bulletin**, v. 62, n. 4, p. 525-538, 2009.

BIGAND, V.; PINEL, C.; DA SILVA PEREZ, D. et al. Cationisation of galactomannan and xylan hemicelluloses. **Carbohydrate Polymers**, v. 85, n. 1, p. 138-148, 2011.

BIONDO-SIMÕES, M. D. L. P.; MANDELLI, K. K.; PEREIRA, M. A. C. et al. Opções terapêuticas para doenças inflamatórias intestinais: Revisão. **Revista Brasileira de Coloproctologia**, v. 23, n. 3, p. 172-182, 2003.

BRANNON PEPPAS, L. Recent Advances on the Use of Biodegradable Microparticles and Nanoparticles in Controlled Drug-Delivery.

International Journal of Pharmaceutics, v. 116, n. 1, p. 1-9, 1995.

CAMPOS, E.; BRANQUINHO, J.; CARREIRA, A. S. et al. Designing polymeric microparticles for biomedical and industrial applications.

European Polymer Journal, v. 49, n. 8, p. 2005-2021, 2013.

CHAA, L.; JOLY, N.; LEQUART, V. et al. Isolation, characterization and valorization of hemicelluloses from *Aristida pungens* leaves as biomaterial. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, n. 3, p. 597-602, 2008.

CHOURASIA, M. K. & JAIN, S. K. Pharmaceutical approaches to colon targeted drug delivery systems. **J Pharm Pharmaceutic**, v. 6, n. 1, p. 33-66, 2003.

CLAS, S.-D.; SANCHEZ, R. I. & NOFSINGER, R. Chemistry-enabled drug delivery (prodrugs): recent progress and challenges. **Drug Discovery Today**, v. 19, n. 1, p. 79-87, 2014.

COLLINS, T.; GERDAY, C. & FELLER, G. Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases. **Fems Microbiology Reviews**, v. 29, n. 1, p. 3-23, 2005.

COSTA JR., E. S. & MANSUR, H. S. Preparação e caracterização de Blendas de quitosana/poli(álcool vinílico) reticuladas quimicamente com glutaraldeído para aplicação em engenharia de tecido. **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1460-1466, 2008.

CUYVERS, S.; DORNEZ, E.; MOERS, K. et al. Evaluation of the xylan breakdown potential of eight mesophilic endoxylanases. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 49, n. 3, p. 305-311, 2011.

DA SILVA, A. E. Micropartículas poliméricas à base de xilana e Eudragit[®] S-100 contendo mesalazina visando a liberação cólon-específica. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2009.

DALAGNOL, M. Desenvolvimento de sistemas de liberação nano- e microestruturados constituídos de complexos de lecitina e quitosana para a liberação colônica da naringenina. 2011. Dissertação (Mestre em Farmácia). UFSC, Florianópolis, 2011.

DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I. & MACHADO, G. Microscopia Eletrônica de Varredura: Aplicações, e preparação de amostras: Materiais Poliméricos, Metálicos e Semicondutores. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2007.

DEUTSCHMANN, R. & DEKKER, R. F. H. From plant biomass to bio-based chemicals: Latest developments in xylan research. **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 6, p. 1627-1640, 2012.

DULONG, V.; LACK, S.; LE CERF, D. et al. Hyaluronan-based hydrogels particles prepared by crosslinking with trisodium trimetaphosphate. Synthesis and characterization. **Carbohydrate Polymers**, v. 57, n. 1, p. 1-6, 2004.

EBRINGEROVÁ, A. & HEINZE, T. Xylan and xylan derivatives – biopolymers with valuable properties, 1. Naturally occurring xylans structures, isolation procedures and properties. **Macromolecular Rapid Communications**, v. 21, n. 9, p. 542-556, 2000.

EBRINGEROVÁ, A. & HROMÁDKOVÁ, Z. Effect of ultrasound on the extractability of corn bran hemicelluloses. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 9, n. 4, p. 225-229, 2002.

EBRINGEROVA, A.; HROMADKOVA, Z.; ALFODI, J. et al. The immunologically active xylan from ultrasound-treated corn cobs: extractability, structure and properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 37, n. 3, p. 231-239, 1998.

EBRINGEROVÁ, A.; HROMÁDKOVÁ, Z.; ALFÖDI, J. et al. The immunologically active xylan from ultrasound-treated corn cobs: extractability, structure and properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 37, n. 3, p. 231-239, 1998.

ESTEVINHO, B. N.; ROCHA, F.; SANTOS, L. et al. Microencapsulation with chitosan by spray drying for industry applications – A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 31, n. 2, p. 138-155, 2013.

FANG, Y.-Y.; WANG, L.-J.; LI, D. et al. Preparation of crosslinked starch microspheres and their drug loading and releasing properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, n. 3, p. 379-384, 2008.

FREIRE, A. C.; PODCZECK, F.; SOUSA, J. 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 Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 319-335, 2006.

FREITAS, S.; MERKLE, H. P. & GANDER, B. Microencapsulation by solvent extraction/evaporation: reviewing the state of the art of microsphere preparation process technology. **Journal of Controlled Release**, v. 102, n. 2, p. 313-332, 2005.

FUJITA, Y.; KATAHIRA, S.; UEDA, M. et al. Construction of whole-cell biocatalyst for xylan degradation through cell-surface xylanase display in *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic**, v. 17, n. 3-5, p. 189-195, 2002.

FUNDADOR, N. G. V.; ENOMOTO-ROGERS, Y.; TAKEMURA, A. et al. Acetylation and characterization of xylan from hardwood kraft pulp. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 1, p. 170-176, 2012.

GARCIA, R. B.; GANTER, J. & CARVALHO, R. R. Solution properties of D-xylans from corn cobs. **European Polymer Journal**, v. 36, n. 4, p. 783-787, 2000.

GARCIA, R. B.; NAGASHIMA, T.; PRAXEDES, A. K. C. et al. Preparation of micro and nanoparticles from corn cobs xylan. **Polymer Bulletin**, v. 46, n. 5, p. 371-379, 2001.

GLIKO-KABIR, I.; YAGEN, B.; BALUOM, M. et al. Phosphated crosslinked guar for colon-specific drug delivery: II. In vitro and in vivo

evaluation in the rat. **Journal of Controlled Release**, v. 63, n. 1–2, p. 129-134, 2000a.

GLIKO-KABIR, I.; YAGEN, B.; PENHASI, A. et al. Phosphated crosslinked guar for colon-specific drug delivery: I. Preparation and physicochemical characterization. **Journal of Controlled Release**, v. 63, n. 1–2, p. 121-127, 2000b.

GUI-JIE, M.; PENG, W.; XIANG-SHENG, M. et al. Crosslinking of corn starch with sodium trimetaphosphate in solid state by microwave irradiation. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 102, n. 6, p. 5854-5860, 2006.

HANAUER, S. B. Inflammatory bowel disease: epidemiology, pathogenesis, and therapeutic opportunities. **Inflamm Bowel Dis**, v. 12 Suppl 1, p. S3-9, 2006.

HIRECH, K.; PAYAN, S.; CARNELLE, G. et al. Microencapsulation of an insecticide by interfacial polymerisation. **Powder Technology**, v. 130, n. 1–3, p. 324-330, 2003.

KASEMSUWAN, T.; BAILEY, T. & JANE, J. Preparation of clear noodles with mixtures of tapioca and high-amylose starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 36, n. 4, p. 301-312, 1998.

KAYSERILIOGLU, B. S.; BAKIR, U.; YILMAZ, L. et al. Use of xylan, an agricultural by-product, in wheat gluten based biodegradable films: mechanical, solubility and water vapor transfer rate properties. **Bioresource Technology**, v. 87, n. 3, p. 239-246, 2003.

KUMAR, M. Nano and microparticles as controlled drug delivery devices. **Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 2, p. 234-258, 2000.

KUMAR, R.; PATIL, M. B.; PATIL, S. R. et al. Polysaccharides Based Colon Specific Drug delivery: A

Review. **International Journal of PharmTech Research**, v. 1, n. 2, p. 334-346, 2009.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A. & KANIG, J. Teoria e prática na indústria farmacêutica. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.

LACK, S.; DULONG, V.; PICTON, L. et al. High-resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy studies of polysaccharides crosslinked by sodium trimetaphosphate: a proposal for the reaction mechanism. **Carbohydrate Research**, v. 342, n. 7, p. 943-953, 2007.

LEONEL, A. J.; CHAMBI, H. N. M.; BARRERA-ARELLANO, D. et al. Production and characterization of lipid microparticles produced by spray cooling encapsulating a low molar mass hydrophilic compound. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 30, p. 276-281, 2010.

LEOPOLD, C. S. Coated dosage forms for colon-specific drug delivery. **Pharmaceutical Science & Technology Today**, v. 2, n. 5, p. 197-204, 1999.

LEVY, M. C. & ANDRY, M. C. Microcapsules Prepared through Interfacial Cross-Linking of Starch Derivatives. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 62, n. 1, p. 27-35, 1990.

LEVY, M. C.; HETTLER, D.; ANDRY, M. C. et al. Polyhydroxamic Serum-Albumin Microcapsules - Preparation and Chelating Properties. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 69, n. 1, p. R1-R4, 1991.

LI, B.-Z.; WANG, L.-J.; LI, D. et al. Preparation and characterization of crosslinked starch microspheres using a two-stage water-in-water emulsion method. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, n. 3, p. 912-916, 2012.

LI, B.-Z.; WANG, L.-J.; LI, D. et al. Fabrication of starch-based microparticles by an emulsification-crosslinking method. **Journal of Food Engineering**, v. 92, n. 3, p. 250-254, 2009a.

- LI, B.-Z.; WANG, L.-J.; LI, D. et al. Physical properties and loading capacity of starch-based microparticles crosslinked with trisodium trimetaphosphate. **Journal of Food Engineering**, v. 92, n. 3, p. 255-260, 2009b.
- LI, M.; ROUAUD, O. & PONCELET, D. Microencapsulation by solvent evaporation: State of the art for process engineering approaches. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 363, n. 1–2, p. 26-39, 2008.
- LIGERO, P.; DE VEGA, A.; VAN DER KOLK, J. C. et al. Gorse (*Ulex europæus*) as a possible source of xylans by hydrothermal treatment. **Industrial Crops and Products**, v. 33, n. 1, p. 205-210, 2011.
- LOPES, J. R. T. Novos sistemas farmacêuticos para administração oral. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2012.
- LUPPI, B.; BIGUCCI, F.; CERCHIARA, T. et al. New environmental sensitive system for colon-specific delivery of peptidic drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 358, n. 1–2, p. 44-49, 2008.
- MAIRE, M.; LOGEART-AVRAMOGLU, D.; DEGAT, M.-C. et al. Retention of transforming growth factor β 1 using functionalized dextran-based hydrogels. **Biomaterials**, v. 26, n. 14, p. 1771-1780, 2005.
- MAO, S.; CHEN, J.; WEI, Z. et al. Intranasal administration of melatonin starch microspheres. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 272, n. 1–2, p. 37-43, 2004.
- MENDES, J. B. E. Desenvolvimento e avaliação de micropartículas poliméricas contendo resveratrol. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). UEPG, Ponta Grossa, 2011.
- MIHAELA FRICIU, M.; CANH LE, T.; ISPAS-SZABO, P. et al. Carboxymethyl starch and lecithin complex as matrix for targeted drug delivery: I. Monolithic Mesalamine forms for colon delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 85, n. 3, Part A, p. 521-530, 2013.

MINKO, T. Drug targeting to the colon with lectins and neoglycoconjugates. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 4, p. 491-509, 2004.

MONTANHA, V. C. Preparação e caracterização de micropartículas de colágeno e fibroína como suporte para células-tronco. 2012. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia). EESC, São Carlos, 2012.

NAGASHIMA JUNIOR, T. Desenvolvimento de uma formulação cólon específica visando o tratamento da colite ulcerativa. 2009. Tese (Doutor em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2009.

NAGASHIMA, T.; OLIVEIRA, E. E.; DA SILVA, A. E. et al. Influence of the lipophilic external phase composition on the preparation and characterization of xylan microcapsules--a technical note. **AAPS PharmSciTech**, v. 9, n. 3, p. 814-7, 2008.

NG, S. C. Epidemiology of Inflammatory Bowel Disease: Focus on Asia. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, n. 0, 2014.

NG, S. C.; TANG, W.; CHING, J. Y. et al. Incidence and Phenotype of Inflammatory Bowel Disease Based on Results From the Asia-Pacific Crohn's and Colitis Epidemiology Study. **Gastroenterology**, v. 145, n. 1, p. 158-165.e2, 2013.

OLIVEIRA, E. E. Desenvolvimento de microcápsulas de xilana/eudragit® S-100 para liberação em nível de cólon. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2006.

OLIVEIRA, E. E.; SILVA, A. E.; JÚNIOR, T. N. et al. Xylan from corn cobs, a promising polymer for drug delivery: Production and characterization. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 14, p. 5402-5406, 2010.

OLIVEIRA, M. A.; YOSHIDA, M. I. & GOMES, E. C. L. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria Farmacêutica. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1224-1230, 2011.

PARIOT, N.; EDWARDS-LEVY, F.; ANDRY, M. C. et al. Cross-linked beta-cyclodextrin microcapsules: preparation and properties. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 211, n. 1-2, p. 19-27, 2000.

PAUDEL, A.; WORKU, Z. A.; MEEUS, J. et al. Manufacturing of solid dispersions of poorly water soluble drugs by spray drying: Formulation and process considerations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, n. 1, p. 253-284, 2013.

PAULINO, A. T. Produção de adsorventes não-convencionais e aplicação na remediação de águas e efluentes industriais. 2008. Tese (Doutor em Ciências). UEM, Paraná, 2008.

PEREIRA, M. R.; CRUZ, L.; RÉ, M. I. et al. Micropartículas Secas contendo Fármaco Modelo Lipofílico preparadas a partir de Suspensão Aquosa: Estudo de Formulação. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 25, n. 2, p. 198-205, 2006.

PEREIRA, P. H. L. Estudo das propriedades físico-químicas da poliuretana derivada do óleo de mamona com potencial aplicação na área biomédica. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências). USP, São Carlos, 2010.

PEZZINI, B. R.; SILVA, M. A. S. & FERRAZ, H. G. Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, p. 491-502, 2007.

PHILIP, A. K. & PHILIP, B. Colon Targeted Drug Delivery Systems: A Review on Primary and Novel Approaches. **Oman Medical Journal**, v. 25, n. 2, p. 70-78, 2010.

RODRIGUES, P. O.; CARDOSO, T. F. M.; SILVA, M. A. S. et al. Aplicação de Técnicas Termoanalíticas na Caracterização, Determinação

da Pureza e Cinética de Degradação da Zidovudina (AZT). **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 24, n. 3, p. 383-387, 2005.

ROSSANEZI, G. Micropartículas biodegradáveis para liberação prolongada intraocular de Ceterolaco de trometamina obtidas por “spray drying”. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”, ARARAQUARA, 2008.

SANG, Y.; SEIB, P. A.; HERRERA, A. I. et al. Effects of alkaline treatment on the structure of phosphorylated wheat starch and its digestibility. **Food Chemistry**, v. 118, n. 2, p. 323-327, 2010.

SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S.; FREITAS, L. D. L. et al. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v. 26, p. 726-737, 2003.

SEDLMEYER, F. B. Xylan as by-product of biorefineries: Characteristics and potential use for food applications. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 8, p. 1891-1898, 2011.

SEVERINO, P.; SANTANA, M. H. A.; PINHO, S. C. et al. Polímeros sintéticos biodegradáveis: matérias-primas e métodos de produção de micropartículas para uso em drug delivery e liberação controlada. **Polímeros**, v. 21, p. 286-292, 2011.

SHI, L.; DONG, Q. & DING, K. Structure elucidation and immunomodulatory activity in vitro of a xylan from roots of *Cudrania tricuspidata*. **Food Chemistry**, v. 152, n. 0, p. 291-296, 2014.

SHUKLA, R. K. & TIWARI, A. Carbohydrate polymers: Applications and recent advances in delivering drugs to the colon. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, n. 2, p. 399-416, 2012.

SILVA, A. E.; OLIVEIRA, E. E.; GOMES, M. C. et al. Producing xylan/Eudragit(R) S100-based microparticles by chemical and physico-

mechanical approaches as carriers for 5-aminosalicylic acid. **Journal of Microencapsulation**, v. 30, n. 8, p. 787-95, 2013.

SILVA, C.; RIBEIRO, A.; FERREIRA, D. et al. Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, p. 1-20, 2003.

SILVA, E. C.; PAOLA, M. V. R. V. & MATOS, J. R. Análise térmica aplicada à cosmetologia. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 3, p. 347-356, 2007.

SILVERSTEIN, R. M. & WEBSTER, F. X. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 2000.

SINHA, V. R. & KUMRIA, R. Polysaccharides in colon-specific drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 224, n. 1-2, p. 19-38, 2001.

SINHA, V. R. & KUMRIA, R. Binders for colon specific drug delivery: an in vitro evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 249, n. 1-2, p. 23-31, 2002.

SINHA, V. R. & KUMRIA, R. Microbially triggered drug delivery to the colon. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 18, n. 1, p. 3-18, 2003.

SINHA, V. R.; MITTAL, B. R.; BHUTANI, K. K. et al. Colonic drug delivery of 5-fluorouracil: an in vitro evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 269, n. 1, p. 101-108, 2004.

SOUSA, T.; PATERSON, R.; MOORE, V. et al. The gastrointestinal microbiota as a site for the biotransformation of drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 363, n. 1-2, p. 1-25, 2008.

SOUZA, M. M. D.; BELASCO, A. G. S. & AGUILAR-NASCIMENTO, J. E. D. Perfil epidemiológico dos pacientes portadores de doença

inflamatória intestinal do estado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Coloproctologia**, v. 28, p. 324-328, 2008.

STORI, E. M. Estudo morfológico de micro-partículas de poliestireno produzidas por eletrospray para uso em sistemas de diagnóstico. 2010. Dissertação, Curitiba, 2010.

SUAVE, J.; DALL'AGNOL, E. C.; PEZZIN, A. P. T. et al. Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. **Revista Saúde e Ambiente**, v. 7, n. 2, p. 12-20, 2006.

SUN, X.-F.; WANG, H.-H.; JING, Z.-X. et al. Hemicellulose-based pH-sensitive and biodegradable hydrogel for controlled drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2, p. 1357-1366, 2013.

SUN, Y.-C.; WEN, J.-L.; XU, F. et al. Organosolv- and alkali-soluble hemicelluloses degraded from *Tamarix austromongolica*: Characterization of physicochemical, structural features and thermal stability. **Polymer Degradation and Stability**, v. 96, n. 8, p. 1478-1488, 2011.

VAN DONGEN, F. E. M.; VAN EYLEN, D. & KABEL, M. A. Characterization of substituents in xylans from corn cobs and stover. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, n. 2, p. 722-731, 2011.

VANDAMME, T. F.; LENOURRY, A.; CHARRUEAU, C. et al. The use of polysaccharides to target drugs to the colon. **Carbohydrate Polymers**, v. 48, n. 3, p. 219-231, 2002.

WOO, K. & SEIB, P. A. Cross-linking of wheat starch and hydroxypropylated wheat starch in alkaline slurry with sodium trimetaphosphate. **Carbohydrate Polymers**, v. 33, n. 4, p. 263-271, 1997.

YANG, L. Biorelevant dissolution testing of colon-specific delivery systems activated by colonic microflora. **Journal of Controlled Release**, v. 125, n. 2, p. 77-86, 2008.

YANG, L.; CHU, J. S. & FIX, J. A. Colon-specific drug delivery: new approaches and in vitro/in vivo evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 235, n. 1-2, p. 1-15, 2002.

YANG, R.; XU, S.; WANG, Z. et al. Aqueous extraction of corncob xylan and production of xylooligosaccharides. **LWT - Food Science and Technology**, v. 38, n. 6, p. 677-682, 2005.

ZAWILSKA, J. B.; WOJCIESZAK, J. & OLEJNICZAK, A. B. Prodrugs: A challenge for the drug development. **Pharmacological Reports**, v. 65, n. 1, p. 1-14, 2013.

ZHANG, H.; SHAHBAZI, M.-A.; MÄKILÄ, E. M. et al. Diatom silica microparticles for sustained release and permeation enhancement following oral delivery of prednisone and mesalamine. **Biomaterials**, v. 34, n. 36, p. 9210-9219, 2013.

CAPÍTULO I

ARTIGO I

Artigo a ser submetido ao Journal of Microencapsulation

Autor: Silvana Cartaxo da Costa

Orientador: Elquio Eleamen Oliveira

Coorientador: Elisângela Afonso de Moura Mendonça

Colaboradores: Camilla Aquino Azevedo de Lucena

Henrique Rodrigues Marcelino

Eryvaldo Sócrates Tabosa do Egito

DEVELOPMENT OF XYLAN MICROPARTICLES BY INTERFACIAL CROSSLINKING POLYMERIZATION TECHNIQUE USING SODIUM TRIMETAPHOSPHATE

Silvana Cartaxo da Costa¹, Camilla Aquino Azevedo de Lucena¹, Henrique Rodrigues Marcelino², Eryvaldo Sócrates Tabosa do Egito², Elisângela Afonso de Moura Mendonça³, Elquio Eleamen Oliveira^{1,3*}

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), Campina Grande - PB, Brazil

²Departamento de Farmácia (DFAR), Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal/RN, Brazil

³Centro de Ciências Biológicas e Sociais Aplicadas (CCBSA), Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), João Pessoa-PB, Brazil

**Corresponding author:* Dr. Elquio Eleamen Oliveira, UEPB, Centro de Ciências Biológicas e Sociais Aplicadas, Rua Horácio Trajano, S/N, Cristo Redentor, João Pessoa-PB, 58070-450, Brazil, e-mail: elquioeleamen@yahoo.com.br

Key words: Microencapsulation, sodium trimetaphosphate, crosslinking reaction, toxicity assay.

Abstract

Polymer-based microparticles have received interest as delivery systems for pharmaceutical applications. Xylan is a promising polymer for colon specific drug delivery system. Furthermore, the use of one cross-linking agent with low toxicity, like sodium trimetaphosphate (TSTP) is important. The aim of this work was develop xylan microparticles (XMPs) by interfacial crosslinking polymerization without using toxic crosslinking agent. The microparticles were analyzed by optical microscopy, SEM, FT-IR and XRD. Influence of different parameters during the crosslinking process was investigated. Analyses of toxicity were made to compare two different cross-linking agents. XMPs exhibited smooth surface and spherical shape. All parameters influenced on the microparticles size. FT-IR confirmed the interaction between TSTP and xylan during crosslinking process. XMPs showed no toxicity. XMPs were produced efficiently by interfacial crosslinking polymerization technique using a nontoxic cross-linking agent.

Introduction

Polymer microparticles systems are considered a safety way to deliver the drug to a specific target and keeping the desired concentration at the site of interest without present side effects (Patil and Sawant, 2011). Several biodegradable materials have been used as carriers for microparticulate drug delivery systems (Patil and Sawant, 2011).

The xylan has been presented in the last years as a polymer of great interest for the production of drug delivery systems, principally for colon-specific drug delivery (Oliveira et al., 2010; Silva et al., 2013). Furthermore, the xylan was described as the major component of plant hemicelluloses (Yang et al., 2005; Oliveira et al., 2010; Yang et al., 2011) and the second most abundant biopolymer in the plant kingdom (Dhami et al., 1995; Silva et al., 2007; Nagashima et al., 2008; Oliveira et al., 2010; Yang et al., 2011). This polymer can be extracted from agricultural residues, such as corn cobs at low cost by alkaline extraction (Ebringerova and Heinze, 2000; Oliveira et al., 2010). Depending on the source of origin, xylan can be found in several variations, but all presenting a β -(1 \rightarrow 4)-D-xylopyranose backbone (Sedlmeyer, 2011). The majority of D-xylans have other sugars in side chains, such as 4-O-methyl-D-glucuronic acid, O-acetyl-L-arabinose, L-arabinose, and D-glucuronic acid. Specifically, it has been demonstrated that xylan from corn cobs presents a chemical composition of 4-O-methyl-D-glucuronic acid, L-arabinose and D-xylose (Silva et al., 1998; Garcia et al., 2000; Oliveira et al., 2010). Owing its complex structure, the complete degradation of xylan requires the activity of several enzymes, which are specifically produced by human colonic microflora (Schacht et al., 1996).

Interfacial crosslinking polymerization is one of the most commonly employed processes for the production of microparticles based on polysaccharides (Nagashima et al., 2008). This technique consists basically in formation of an emulsion containing the cross-linking agent, the polymer and the surfactant (Pariot et al., 2000; Hirech et al., 2003).

The crosslinking is an effective way to render microparticles water-insoluble, and the release profile of encapsulated or entrapped materials could be controlled by altering the crosslinking degree (Li et al., 2009b). Epichlorohydrin, glutaraldehyde and terephthaloyl chloride has been used as a crosslinker agent to prepare starch and xylan microparticles (Mundargi et al., 2008; Nagashima et al., 2008; Yang et al., 2010). However, these crosslinkers are known to be toxic and the presence of residues could lead to toxic side effects (Li et al., 2009b). Sodium trimetaphosphate (TSTP) is a low toxicity crosslinker with no reported adverse effects on humans (Woo and Seib, 1997; Fang et al., 2008; Li et al., 2009a; Li et al., 2009b). Previous studies have shown that TSTP was an effective cross-linking agent to preparation of starch based microparticles (Fang et al., 2008; Li et al., 2009a; Li et al., 2009b).

The toxicity of the xylan based microparticles crosslinked with two different crosslinking agents (TSTP and terephthaloyl chloride) was observed through the toxicity test with brine shrimp larvae. The test of lethality to brine shrimp larvae (*Artemia salina* Leach) have been used for testing the toxicity of a number of substances. This method has also been applied to plant extracts in order to facilitate the isolation of biologically-active compounds and to determine medium-lethal concentration values (LC_{50}) (Meyer et al., 1982). The simplicity with which it can be handled, quickness of the tests and the low cost favors its routine use in several studies (Nascimento et al., 2008).

Few papers have reported the development of xylan based microparticles. Furthermore, there are no studies about the production of xylan microparticles using a nontoxic cross-linking agent. In the present study, xylan based microparticles were developed by Interfacial crosslinking polymerization technique without using toxic cross-linking agent. We also used the toxicity test with brine shrimp larvae as a mean to evaluate the toxicity of the microparticles.

Materials and Methods

Materials

The sodium hydroxide, liquid paraffin, and acetic acid were purchased from Vetec Chemical (Duque de Caxias, RJ); Span 80 and TSTP were purchased from Sigma-Aldrich Co. (São Paulo, SP); Tween 80 and methanol were purchased from Sol-Tech (São Paulo, SP); acetone and ethanol were purchased from Cinética (Jandira, SP); Petroleum ether were purchased from Panreac (Barcelona, Espanha); Isopropanol were purchased from Isofar (Duque de Caxias, RJ). Xylan was obtained in Laboratório de Síntese e Vetorização de Moléculas (LSVM) according to the methodology described by Oliveira et al. (2010). The microparticles produced with terephthaloyl chloride were produced according to Silva et al. (2013).

Methods

Preparation of xylan microparticles

Xylan microparticles (XMPs) were produced by the interfacial crosslinking polymerization method. There were four main steps involved in the microparticles preparation: (1) the aqueous phase was prepared by dissolving 0.5 g of xylan and 0.2 g of TSTP in 5 mL of NaOH 0.6M under magnetic stirring for 10 min at 50 °C. (2) The oil phase was prepared by dissolving 0.75g of the mixture consisting of Span 80 and Tween 80 (HLB = 5.3) in 15 mL of liquid paraffin under mechanical stirring at 50 °C. (3) 1.5 mL of aqueous phase was added into oil phase dropwise and put under agitation at 50 °C for 6 hours. (4) The microparticles were collected after centrifugation and washed with: acetone, petroleum ether, ethanol, Tween 80 in alcohol (1%) and distilled water.

Influence of the different parameters during the process of reticulation

To investigate the effect of different parameters during the process of reticulation on the properties of the XMPs, various formulations were prepared by varying one parameter and keeping the others constant as given in Table 1. The parameters evaluated were xylan concentration, TSTP concentration, crosslinking time and stirring speed.

Morphology of the microparticles

The morphology of XMPs was observed using optical microscopy at a magnification of 40 \times and 100 \times (Olympus, model CX31). The detailed morphology of XMPs was studied by scanning electron microscopy (Philips, Model XL30). A sample holder with carbon ribbon and metalized with Au/Pd, a voltage of 20 KV was used.

Particle size analysis

The determination of the size of the microparticles was made under optical microscopy (Leica, Model 020507.010, Olympus, Center Valley, PA). The samples were placed on glass slides and size measurements of 1500 microparticles of each sample formulation were performed according to Feret's diameter principle using an optical microscope calibrated with a stage micrometer scale.

Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy

The interaction between the xylan and the TSTP during the crosslinking process was analyzed by FT-IR spectroscopy. The FT-IR spectroscopy measurements were performed in solid state. The dried samples were crushed with KBr and pressed into pellets which were taken to the spectrophotometer (Bruker, IFS-66 IR) to be analyzed.

X-ray diffraction (XRD)

The properties of the microparticles structure were characterized by XRD. Measurements of X-ray scattering angle were conducted with a copper anode (Cu K α radiation, $\lambda = 0,15418$ nm, 40 kV, 20 mA) fixed to the diffractometer (Bruker, model D8 Advance). A scanning rate of 2°/min throughout the range of 4-40° 2 θ was used to determine each spectrum.

Toxicity test with brine shrimp larvae

For this assay was used the Meyer et al. 1982 adapted methodology. Ten brine shrimp larvae were counted and transferred to test tubes containing artificial seawater and the microparticles to be tested (Formulation 1-9 of this study and XMPs produced with terephthaloyl chloride according to Silva et al., 2013) at three different concentrations (100, 250 and 500 $\mu\text{g/mL}$). The tests were performed in triplicate using a saline solution as control group. The counting of dead and live animals was performed after 24 h. Subsequently the average number of deaths for each tested concentration was calculated.

Results and Discussion

Influence of the different parameters during the process of reticulation

All the formulations evaluated in this work were able to produce xylan microparticles. Optical and SEM photographs of a typical XMPs obtained in this study are presented in Figure 1a and 1b, respectively. The XMPs exhibited smooth surface, well individualized and spherical shape with presence of some concavities in the surface.

The SEM analysis also shows that the XPMs were produced without formation of aggregates. Different observation was reported by starch microparticles produced for the same technique. In this type of microparticles the aggregation was observed and attributed to the emulsification method involved. They reported that during the process of emulsification, the

size distribution of the droplets in the emulsion was wide, thus the coalescence and break-up of droplets occurred frequently during the emulsification. Consequently, the adhesion between microparticles would appear (Fang et al., 2008; Li et al., 2009b; Peng et al., 2011). The non-aggregation found in our kind of microparticles could be explained by the difference in the polymer used, that can induce changes in the surface of the microparticles when compared with the starch microparticles.

It is possible to observe a substantial difference between the microparticles produced in this study using TSTP as crosslinking agent and the XMPs produced by Silva et al., 2007 using terephthaloyl chloride as crosslinking agent. The XMPs mean diameter at the same stirring speed (800rpm) for XMPs produced with TSTP and terephthaloyl chloride were $7.7 \pm 0.17 \mu\text{m}$ and $21.2 \pm 8 \mu\text{m}$, respectively. It is evident that the XMPs produced with TSTP were smaller and with a better size distribution than the XMPs produced using terephthaloyl chloride. The morphology of the particles obtained by terephthaloyl chloride was also very different of ours results, presenting a capsular structure with a considerable amount of broken particles after drying. These differences can be explained in part due the nature of the crosslinking agent used. The TSTP has a hydrophilic chain and tend to form microspheres that are more rigid than microcapsules, while terephthaloyl chloride is a hydrophobic molecule and tend to produce microcapsules by interfacial crosslinking polymerization. Another important factor is the type and amount of surfactant used in the two experiments. This is due to the difference in the decrease of the interfacial energy between the disperse phase and the dispersant phase induced by the surfactant.

The mean diameter of the XMPs obtained. It was observed that the size of the microparticles increase with the increment in the concentration of both TSTP and xylan (Table 2). This phenomena can be explained by the increase in the viscosity of the dispersed phase with the increasing in the polymer concentration, consequently, the size of the drops in

the emulsification medium is higher, which lead to an increase in the microparticles size. This result is in agreement with the literature, that shows that the size of the microparticles increase exponentially with the viscosity of dispersed phase (Pariot et al., 2000; Li et al., 2008; Balmayor et al., 2009).

It was not observed a linear modification between the mean diameter of the microparticles and the crosslinking reaction time. Previous works demonstrated that a lower time of reticulation could induce the non-formation of the microparticles or the formation of aggregate with improper hardening due to insufficient time for crosslinking reaction between the polymer and the crosslinking agent (Malafaya et al., 2006; Patil and Sawant, 2011). Whereas, in our study even the small time of crosslinking reaction (2h) was able to produce XMPs with good morphology and no aggregate formation.

One of the most important parameter in the control of the diameter of the microparticles is the stirring rate. In order to assess the influence of this parameter, three XMPs formulations were prepared at different stirring speeds (800, 1200, 1500 rpm). As expected, increase in the stirring rate induces bigger variation in the XMPs diameters among all parameters evaluated. At 1500 rpm the mean diameter of the XMPs were $3.5 \pm 0.27 \mu\text{m}$ (F8), the smallest diameter among all formulations produced. The reduction in the diameter of the microparticles should be explained by the greater energy to disperse the two immiscible phases and forming the emulsion induced for the higher stirring speed rate, producing smaller droplets of the dispersed phase, forming particles much smaller (Balmayor et al., 2009).

FT-IR spectroscopy

The FT-IR spectra of xylan and XMPs are presented in Figure 2. The FT-IR spectrum of xylan was similar to the results found in the literature (Oliveira et al., 2010). Vibrations characteristics of hemicelluloses were found at 1167 cm^{-1} which corresponds to the absorption

band characteristic of vibrations C–O–C (Cao and Tan, 2004) and a band which is characteristic for β -linkages, especially in hemicelluloses, was found at 897 cm^{-1} (Xu et al., 2006; Oliveira et al., 2010). Moreover, the spectrum shows a strong band at 1042 cm^{-1} associated with the C–O, C–C stretching or C–OH found in hemicelluloses (Silva et al., 1998; Pandey and Pitman, 2003; Chaa et al., 2008). The FT-IR spectrum of XMPs was similar to xylan with a presence of a new peak at 1258 cm^{-1} that is typical of phosphate ester bonds that would be attributed to the formation of the ester bonds from the hydroxyl groups of xylan with the crosslinking agent. This result was consistent with that reported by (Cavalcanti et al., 2005; Suflet et al., 2006). However, works using starch and TSTP noticed that the peaks inherence to P=O did not appear in the spectrum of the microparticles produced. They reported that the no appearance of the phosphate ester bonds in the spectrum was due the low crosslinking degree of starch microparticles (Li et al., 2009b; Peng et al., 2011).

X-ray diffraction (XRD)

XRD patterns of TSTP, Xylan and XMPs are present in Figure 3. TSTP shows intense peaks at 2θ between 10° and 50° due to its crystalline nature. In the case of xylan, one strong diffraction peak was observed at 2θ of 19° , which indicated an amorphous structure with crystalline regions in the polymer.

The XRD pattern of XMPs showed a broad peak at the same angle that the xylan, with a reduction in the intensity or disappearance of the small peaks at 11° and 31° indicating a structure amorphous of XMPs with limited crystallinity. No strong diffraction peaks belong to TSTP could be found in the XRD patterns of the XMPs. This suggests that few or no crosslinking agent remained in a crystal state inside the XMPs (Dziechciarek et al., 2002; Li et al., 2009b).

Toxicity test with brine shrimp larvae

Results of toxicity test showed that all formulations of XMPs produced with TSTP were non-toxic to artemia larvae at the concentrations tested (Table 3). There was 100% survival rate across all concentrations and control. On the other hand, the XMPs produced with terephthaloyl chloride induce 60% of deaths at 250 μ g/mL, and 100% at 500 μ g/mL, indicating that this microparticles presenting a high toxicity. This toxicity can be associated to residues of terephthaloyl chloride which remained on the microparticles, since this crosslinker is known to be toxic and the presence of residual crosslinker could lead to toxic side effects (Li et al., 2009b).

Conclusions

In this work, xylan microparticles were successfully developed by interfacial crosslinking polymerization technique using a nontoxic crosslinking agent. The test of toxicity using brine shrimp larvae shows that the XMPs are nontoxic. This microparticles could be used as a promising carrier for the controlled release of active substances, especially for colon drug delivery, due the characteristic of the xylan.

Acknowledgement

The authors are grateful to PROPESQ-UEPB for the financial support, CETENE for the XRD and to CTPETRO-INFRA I and FINEP/LIEM UFRN for the SEM analysis. The authors are also grateful to Professor Francisco Jaime Bezerra Mendonça Júnior for the FT-IR analyses and Giovanna Rodrigues de Araújo Eleamen for the XRD analyses and for the comments and suggestions in this work.

Declaration of interest

The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of this article.

Referências

- Balmayor ER, Tuzlakoglu K, Azevedo HS, Reis RL. Preparation and characterization of starch-poly- ϵ -caprolactone microparticles incorporating bioactive agents for drug delivery and tissue engineering applications. *Acta Biomaterialia*, 2009; 5:1035-1045.
- Cao Y, Tan H. Structural characterization of cellulose with enzymatic treatment. *Journal of Molecular Structure*, 2004; 705:189-193.
- Cavalcanti OA, Silva CC, Pineda EAG, Hechenleitner AAW. Synthesis and Characterization of Phosphated Crosslinked Chondroitin Sulfate: Potential Ingredient for Specific Drug Delivery. *Acta Farm Bonaerense*, 2005; 24:234-238.
- Chaa L, Joly N, Lequart V, Faugeron C, Mollet J-C, Martin P, Morvan H. Isolation, characterization and valorization of hemicelluloses from *Aristida pungens* leaves as biomaterial. *Carbohydrate Polymers*, 2008; 74:597-602.
- Dhami R, Harding SE, Elizabeth NJ, Ebringerova A. Hydrodynamic characterisation of the molar mass and gross conformation of corn cob heteroxylan AGX. *Carbohydrate Polymers*, 1995; 28:113-119.
- Dziechciarek Y, van Soest JJ, Philipse AP. Preparation and properties of starch-based colloidal microgels. *J Colloid Interface Sci*, 2002; 246:48-59.
- Ebringerova A, Heinze T. Xylan and xylan derivatives - biopolymers with valuable properties, 1 - Naturally occurring xylans structures, procedures and properties. *Macromolecular Rapid Communications*, 2000; 21:542-556.
- Fang Y-y, Wang L-j, Li D, Li B-z, Bhandari B, Chen XD, Mao Z-h. Preparation of crosslinked starch microspheres and their drug loading and releasing properties. *Carbohydrate Polymers*, 2008; 74:379-384.
- Garcia RB, Ganter JLMS, Carvalho RR. Solution properties of D-xylans from corn cobs. *European Polymer Journal*, 2000; 36:783-787.
- Hirech K, Payan S, Carnelle G, Brujes L, Legrand J. Microencapsulation of an insecticide by interfacial polymerisation. *Powder Technology*, 2003; 130:324-330.
- Li B-Z, Wang L-J, Li D, Bhandari B, Li S-J, Lan Y, Chen XD, Mao Z-H. Fabrication of starch-based microparticles by an emulsification-crosslinking method. *Journal of Food Engineering*, 2009a; 92:250-254.
- Li B-z, Wang L-j, Li D, Chiu YL, Zhang Z-j, Shi J, Chen XD, Mao Z-h. Physical properties and loading capacity of starch-based microparticles crosslinked with trisodium trimetaphosphate. *Journal of Food Engineering*, 2009b; 92:255-260.
- Li M, Rouaud O, Poncelet D. Microencapsulation by solvent evaporation: State of the art for process engineering approaches. *International Journal of Pharmaceutics*, 2008; 363:26-39.
- Malafaya PB, Stappers F, Reis RL. Starch-based microspheres produced by emulsion crosslinking with a potential media dependent responsive behavior to be used as drug delivery carriers. *J Mater Sci Mater Med*, 2006; 17:371-7.
- Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine Shirimp: A convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Journal of Medicinal Plant Research*, 1982; 45:31-34.
- Mundargi RC, Shelke NB, Rokhade AP, Patil SA, Aminabhavi TM. Formulation and in-vitro evaluation of novel starch-based tableted microspheres for controlled release of ampicillin. *Carbohydrate Polymers*, 2008; 71:42-53.
- Nagashima T, Oliveira EE, Da Silva AE, Marcelino HR, Gomes MC, Aguiar LM, de Araujo IB, Soares LA, de Oliveira AG, do Egito ES. Influence of the lipophilic external phase composition on the preparation and characterization of xylan microcapsules--a technical note. *AAPS PharmSciTech*, 2008; 9:814-7.
- Nascimento JE, Melo AFM, Lima e Silva TC, Veras Filho J, Santos EM, Albuquerque UP, Amorim ELC. Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. de três espécies medicinais do gênero *Phyllanthus* (Phyllanthaceae). *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 2008; 29:143-148.
- Oliveira EE, Silva AE, Júnior TN, Gomes MCS, Aguiar LM, Marcelino HR, Araújo IB, Bayer MP, Ricardo NMPS, Oliveira AG, Egito EST. Xylan from corn cobs, a promising polymer for drug delivery: Production and characterization. *Bioresource Technology*, 2010; 101:5402-5406.

- Pandey KK, Pitman AJ. FTIR studies of the changes in wood chemistry following decay by brown-rot and white-rot fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2003; 52:151-160.
- Pariot N, Edwards-Lévy F, Andry MC, Lévy MC. Cross-linked β -cyclodextrin microcapsules: preparation and properties. *International Journal of Pharmaceutics*, 2000; 211:19-27.
- Patil SB, Sawant KK. Chitosan microspheres as a delivery system for nasal insufflation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2011; 84:384-389.
- Peng H, Xiong H, Wang S, Li J, Chen L, Zhao Q. Soluble starch-based biodegradable and microporous microspheres as potential adsorbent for stabilization and controlled release of coix seed oil. *European Food Research and Technology*, 2011; 232:693-702.
- Schacht E, Gevaert A, Kenawy ER, Molly K, Verstraete W, Adriaensens P, Carleer R, Gelan J. Polymers for colon specific drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 1996; 39:327-338.
- Sedlmeyer FB. Xylan as by-product of biorefineries: Characteristics and potential use for food applications. *Food Hydrocolloids*, 2011; 25:1891-1898.
- Silva AE, Oliveira EE, Gomes MC, Marcelino HR, Silva KC, Souza BS, Nagashima T, Jr., Ayala AP, Oliveira AG, do Egito ES. Producing xylan/Eudragit(R) S100-based microparticles by chemical and physico-mechanical approaches as carriers for 5-aminosalicylic acid. *Journal of Microencapsulation*, 2013; 30:787-95.
- Silva AKA, da Silva ÉL, Oliveira EE, Nagashima Jr T, Soares LAL, Medeiros AC, Araújo JH, Araújo IB, Carriço AS, Egito EST. Synthesis and characterization of xylan-coated magnetite microparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 2007; 334:42-47.
- Silva SS, Carvalho RR, Fonseca JLC, Garcia RB. Extração e caracterização de xilanas de sabugos de milho. *Polímeros*, 1998; 8:25-33.
- Suflet DM, Chitanu GC, Popa VI. Phosphorylation of polysaccharides: New results on synthesis and characterisation of phosphorylated cellulose. *Reactive and Functional Polymers*, 2006; 66:1240-1249.
- Woo K, Seib PA. Cross-linking of wheat starch and hydroxypropylated wheat starch in alkaline slurry with sodium trimetaphosphate. *Carbohydrate Polymers*, 1997; 33:263-271.
- Xu F, Sun JX, Liub CF, Sunb RC. Comparative study of alkali- and acidic organic solvent-soluble hemicellulosic polysaccharides from sugarcane bagasse. *Carbohydrate Research*, 2006; 341:253-261.
- Yang H, Wang K, Song X, Xu F. Production of xylooligosaccharides by xylanase from *Pichia stipitis* based on xylan preparation from triploid *Populus tomentosa*. *Bioresource Technology*, 2011; 102:7171-7176.
- Yang R, Xu S, Wang Z, Yang W. Aqueous extraction of corncob xylan and production of xylooligosaccharides. *LWT - Food Science and Technology*, 2005; 38:677-682.
- Yang Y, Wei X, Sun P, Wan J. Preparation, characterization and adsorption performance of a novel anionic starch microsphere. *Molecules*, 2010; 15:2872-85.

FIGURE 1

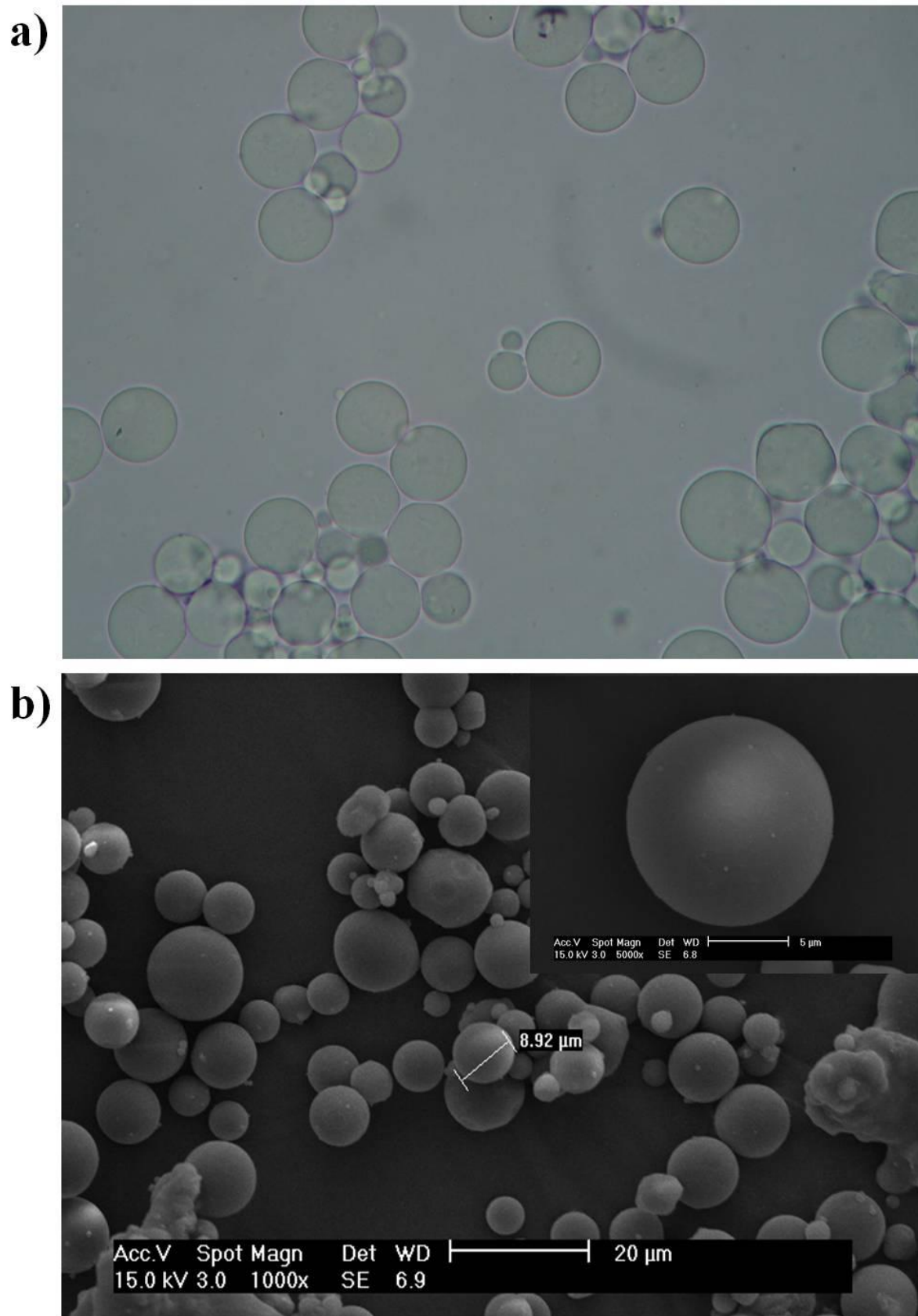


FIGURE 2

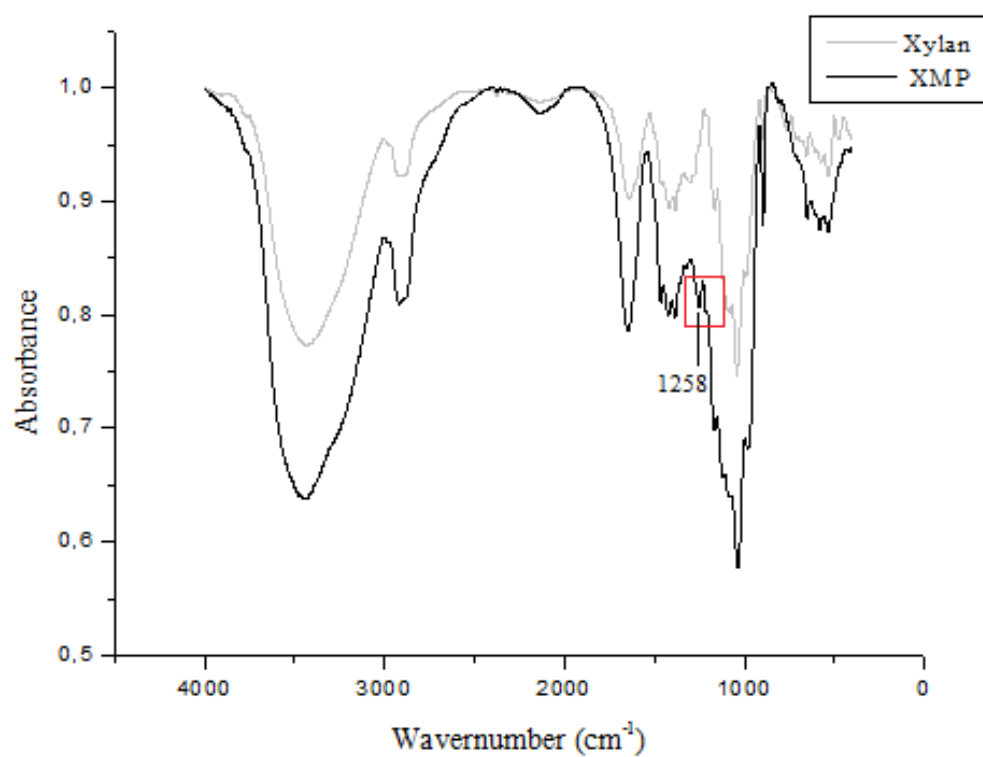


FIGURE 3

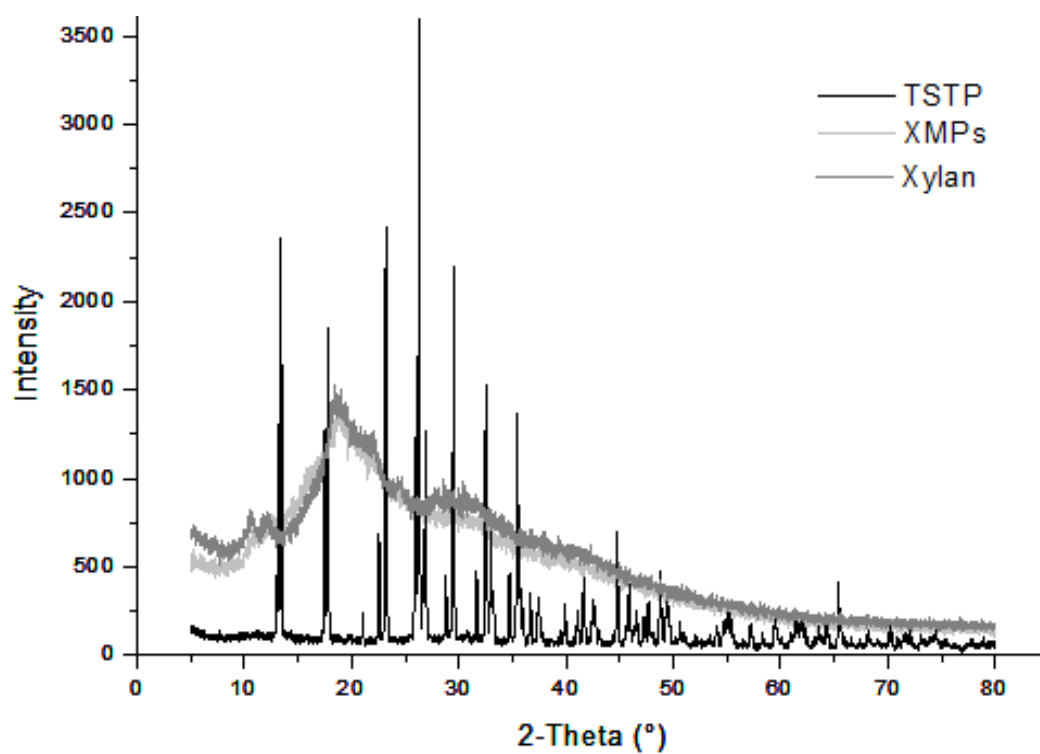


TABLE 1

Constant parameters		Varying parameters and formulation
		Amount of TSTP
Stirring speed	800 rpm	F9 (0.1 g)
Crosslinking time	6 h	F1 (0.2 g)
Xylan concentration	0.5 g	F2 (0.4 g)
		Amount of Xylan
Stirring speed	800 rpm	F1 (0.5 g)
Crosslinking time	6 h	F3 (0.8 g)
TSTP concentration	0.2 g	F4 (1.0 g)
		Crosslinking time
Stirring speed	800 rpm	F7 (2 h)
Xylan concentration	0.5 g	F5 (4 h)
TSTP concentration	0.2 g	F1 (6 h)
		Stirring speed
Crosslinking time	6 h	F1 (800 rpm)
Xylan concentration	0.5 g	F6 (1200 rpm)
TSTP concentration	0.2 g	F8 (1500 rpm)

TABLE 2

Formulation	Mean diameter (μm)
F1	7.70 ± 0.17
F2	8.67 ± 0.29
F3	11.33 ± 2.02
F4	12.50 ± 0.50
F5	8.20 ± 0.69
F6	4.67 ± 0.61
F7	$8.00 \pm 0,35$
F8	3.50 ± 0.27
F9	5.97 ± 0.06

TABLE 3

Sample tested	Concentration tested ($\mu\text{g/mL}$)	Mortality (%)
XMPs (F1-F19)*	100	0
	250	0
	500	0
XMPs - terephthaloyl chloride	100	0
	250	60
	500	100
Xylan	100	0
	250	0
	500	0

*All formulations showed the same results for toxicity

FIGURE CAPTIONS

Figure 1 - Optical microscope of XMPs (40 \times) (a) and SEM photograph of XMPs (1000 \times) and 5000 \times at right side of the picture (b).

Figure 2 - FT-IR spectrum of xylan and XMPs.

Figure 3 - XRD patterns of TSTP, xylan and XMPs.

Table 1 - Evaluated parameters during the development of the crosslinking process.

Table 2 - Mean diameter of the microparticles.

Table 3 - Toxicity test using brine shrimp larvae (*Artemia salina* Leach) for xylan, for XMPs produced with TSTP (F1-F9) and for XMPs produced with terephthaloyl chloride (XMPs-terephthaloyl chloride).

CONCLUSÃO

- As micropartículas de xilana foram desenvolvidas eficientemente pela técnica de reticulação polimérica interfacial usando o trimetafosfato de sódio como agente reticulante.
- Por meio da microscopia óptica e da MEV foi possível observar que as micropartículas apresentaram forma esférica, bem individualizada e com superfície bem definida.
- Os estudos de FT-IR sugerem a formação de ligações entre a xilana e o trimetafosfato de sódio, através de um pico relacionado à ligação éster fosfato.
- A DRX mostrou que as micropartículas apresentaram estrutura amorfa com leve cristalinidade. Além disso, nenhum pico relacionado ao trimetafosfato de sódio foi encontrado nos espectros das micropartículas, sugerindo que pouco ou nenhum agente de reticulação permaneceu no seu estado cristalino nas formulações.
- O resultados de toxicidade das micropartículas frente a artemia salina, mostraram que todas as formulações desenvolvidas com trimetafosfato de sódio não são tóxicas comparadas as formulações desenvolvidas com cloridrato de tereftaloíla, que se mostrou altamente tóxica nas concentrações de 250 µg/mL e 500 µg/L.
- Assim, as micropartículas produzidas neste trabalho apresentaram-se como não tóxicas nos testes preliminares de toxicidade utilizando artemia salina como modelo. Indicando que este sistema se apresenta como uma alternativa promissora para estudos posteriores de liberação cólon-específica.

ANEXOS

ANEXO A

Normas para submissão de manuscrito à revista: Journal of Microencapsulation.

Journal of Microencapsulation Instructions for Authors

[About the Journal](#)

Aims and Scope
Editor-in-Chief

[Manuscript Submission](#)

[Rapid Publication](#)

[Manuscript Preparation](#)

File preparation and types
Title Page
Abstract
Main Text
Acknowledgements and Declaration of Interest sections
References
Tables
Illustrations
Notes on Style

[Editorial Policies](#)

Authorship
Redundant Publication and Plagiarism
Peer Review
Ethics and Consent
Copyright and Permissions
Declaration of Interest
NIH and Public Access Policy

[Additional Information](#)

Permissions
Proofs
Reprints
Colour figure charges
Contact the Publisher

About the Journal

[Aims and Scope](#)

The *Journal of Microencapsulation* is a well-established, peer-reviewed journal dedicated to the publication of original research findings related to the preparation, properties and uses of individually encapsulated novel small particles, as well as significant improvements to tried-and-tested techniques relevant to micro and nano particles and their use in a wide variety of industrial, engineering, pharmaceutical, biotechnology and research applications. Its scope extends beyond conventional microcapsules to all other small particulate systems such as self assembling structures that involve preparative manipulation.

The journal covers:

- the chemistry of encapsulation materials;
- the physics of release through the capsule wall and/or desorption from carrier;
- the techniques of preparation;
- content and storage;

- the many uses to which microcapsules are put.

Nanotechnology is now moving into medicine as nanomedicine; an emerging speciality with great potential in the development of unique opportunities for more refined targeting and for new therapeutic approaches to diagnose and treat life threatening diseases. Therefore, coverage also includes nanotechnological advances in the design and synthesis of these structures and their potential applications. Furthermore, there is an extensive information and reference section found in every issue of the journal comprising patent briefings. This publication is aimed at a broad, interdisciplinary audience of academic and industrial researchers actively engaged in basic and applied laboratory practice, related to engineering micro- and nano-structured particles, including pharmaceutical science, medicine, photographic and copying processes, food technology, agrochemicals, adhesives and all those interested in small particle science and technology.

Editor-in-Chief

[Professor Oya Alpar](#)

University of London, School of Pharmacy
London
England, UK

Manuscript Submission

All submissions should be made online at the *Journal of Microencapsulation's* [ScholarOne Manuscripts site](#). New users should first create an account. Once a user is logged onto the site, submissions should be made via the Author Center. If you experience any problems with your submission or with the site, please contact ScholarOne support through the '[get help now](#)' link.

All submissions to the journal must include full disclosure of all relationships that could be viewed as presenting a potential conflict of interest. If there are no conflicts of interest, authors should state that there are none. This must be stated at the point of submission (within the manuscript, after the main text under a subheading "Declaration of interest", and, where available within the appropriate field on the journal's ScholarOne Manuscripts site).

Please see our full [Declaration of Interest Policy](#) for further information.

Rapid Publication

Publication in *Journal of Microencapsulation* is driven entirely by editorial considerations and independent authoritative peer review. As part of the journal's responsive approach to the publication of timely research results, *Journal of Microencapsulation* offers an optional prioritised mode of publication, a fast-track service.

Articles are published online within 5-7 weeks of submission (subject to 1–2 week author revision following initial peer-review, prompt turnaround of proofs and, of course, acceptance of the article). There is a publication support fee for this service, based on a charge of \$850/€625/£550 per published page (there are on average 800 words per published page).

Opting for the fast-track service will in no way influence the quality of the peer review or the editorial decision. Fast-tracked articles will undergo a peer review process of the same standard as regular articles submitted to *Journal of Microencapsulation*.

If you would like to discuss this option, please email the Managing Editor, Kimber Jest (kimber.jest@informa.com) -before or on the day of submission.

Manuscript Preparation

File preparation and types

Manuscripts are preferred in Microsoft Word format (.doc files). Documents must be double-spaced, with margins of one inch on all sides. Tables and figures should not appear in the main text, but should be submitted as separate digital files and designated with the appropriate file type on ScholarOne Manuscripts. References should be given in Harvard style (see References section for example).

Manuscripts should be compiled in the following order: title page; abstract; main text; acknowledgements; Declaration of Interest statement; appendices (as appropriate); references; tables with captions (on separate pages); figures; figure captions (as a list).

Journal of Microencapsulation publishes the following manuscript types:

- Original papers
- Reviews
- Notes
- Letters to the Editor

Title Page

A title page should be provided comprising the manuscript title plus the full names and affiliations of all authors involved in the preparation of the manuscript. One author should be clearly designated as the corresponding author and full contact information, including phone number and email address, provided for this person. Three to six key terms that are not in the title should also be included on the title page. The keywords will assist indexers in cross indexing your article.

Abstract

All original articles and reviews should start with an abstract of 150 or fewer words, summarising the central core of knowledge that is the focus of the paper. The recommended format is as a structured abstract, with the following headings for an original article: context, objective, materials and methods, results, discussion and conclusion. For a review article, it should be structured as follows: context, objective, methods (including data sources, study selection and data extraction), results and conclusion. It should be written in an informative style permitting its use, without revision, by abstracting services, give essential details of research findings without further reference to the text, and avoid generalisations and nonessential information.

Main Text

Original articles

The body of the article should include the following sections: introduction; methods; results; discussion; conclusions.

Introduction: This section should state the relevance and background to the study, and its rationale and purpose.

Methods: This section should include only information that was available at the time the plan or protocol for the study was being written. You should describe your selection of the observational or experimental participants, identify the methods, apparatus and procedures in sufficient detail to allow others to reproduce the results, and describe statistical methods with enough detail to enable a knowledgeable reader with access to the original data to verify the reported results. *Journal of Microencapsulation* requires that studies involving humans, both volunteers and patients, or animals be approved by an institutional review board, in accordance with approved published guidelines, prior to actually performing the research and

publishing the data. Details including clinical trial registration number must be provided in the methods section if research includes studies conducted on human volunteers.

Results: Present your results in logical sequence in the text, tables, and illustrations.

Discussion: This should include implications of the findings and their limitations, with reference to all other relevant studies and the possibilities these suggest for future research.

Conclusions: This must summarise the main paper. Ensure that extrapolations are reasonable and that conclusions are justified by the data presented, and indicate if the study design can be generalised to a broader study population.

Reviews

The body of a review article should be a comprehensive, scholarly evidence-based review of the literature, accompanied by critical analysis and leading to reasonable conclusions. Wherever appropriate that details of the literature search methodology should be provided, i.e. the databases searched (normally Medline and at least one or two other databases), the search terms and inclusive dates, and any selectivity criteria imposed.

Wherever possible, use primary resources, avoiding "Data on File", "Poster" or other unpublished references.

Acknowledgement and Declaration of Interest sections

Acknowledgement and Declaration of interest sections are different, and each has a specific purpose. The Acknowledgements sections details special thanks, personal assistance, and dedications. Contributions from individuals who do not qualify for [authorship](#) should also be acknowledged here.

Declarations of interest, however, refer to statements of financial support and/or statements of potential conflict of interest. Within this section also belongs disclosure of scientific writing assistance (use of an agency or agency/ freelance writer), grant support and numbers, and statements of employment, if applicable. For a more detailed list of points to include, please see "Declaration of Interest section" below.

Acknowledgement section

Any acknowledgement authors wish to make should be included in a separate headed section at the end of the manuscript preceding any appendices, and before the references section. Please do not incorporate acknowledgement into notes or biographical notes.

Declaration of Interest section

All declarations of interest must be outlined under the subheading 'Declaration of interest'. If authors have no declarations of interest to report, this must be explicitly stated. The suggested, but not mandatory, wording in such an instance is: *The authors report no declarations of interest.* When submitting a paper via ScholarOne Manuscripts, the 'Declaration of interest' field is compulsory (authors must either state the disclosures or report that there are none). If this section is left empty authors will not be able to progress with the submission.

Please see our full [Declaration of Interest Policy](#) for further information.

Please note: for NIH/Wellcome-funded papers, the grant number(s) must be included in the Declaration of Interest statement.

References

References should be given in the Harvard style. Citation in the text is by author and date (Smith, 2001). The list of references appears alphabetically by primary author's last name. Examples:

- *Journal*: Iyengar BS, Dorr RT, Remers WA. Chemical basis for the biological activity of Imexon and related Cyanaziridines. *J Med Chem*, 2004;47:218-23.
- *Book*: Vyas SP, Khar RK. 2001. Targeted and controlled drug delivery. New Delhi, India: CBS Publisher and Distributor.
- *Contribution to a Book*: Chandrasekaran SK, Benson H, Urquhart J. 1978. Methods to achieve controlled drug delivery: The biomedical engineering approach. In: Robinson JR, ed. Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems. New York: Marcel Dekker 557-93
- *Electronic Resources*: Lin A-S, Shibano M, Nakagawa-Goto K, Tokuda H, Itokawa H, Morris-Natschke, SL, Lee K-H. 2007. Cancer Preventive Agents. 7. Antitumor-Promoting Effects of Seven Active Flavonolignans from Milk Thistle (*Silybum marianum*) on Epstein-Barr Virus Activation. *Pharm Biol* [Online] Available at: <http://www.informapharmascience.com/doi/abs/10.1080/13880200701585592>. Accessed 12 April 2009.

Periodical abbreviations should follow the style given by Index Medicus.

Tables

Tables should be used only when they can present information more efficiently than running text. Care should be taken to avoid any arrangement that unduly increases the depth of a table, and the column heads should be made as brief as possible, using abbreviations liberally. Lines of data should not be numbered nor run numbers given unless those numbers are needed for reference in the text. Columns should not contain only one or two entries, nor should the same entry be repeated numerous times consecutively. Tables should be grouped at the end of the manuscript on separate pages.

Illustrations

Illustrations (line drawings, halftones, photos, photomicrographs, etc.) should be submitted as digital files for highest quality reproduction and should follow these guidelines:

- 300 dpi or higher
- Sized to fit on journal page
- EPS, JPG, TIFF, or PSD format only
- Submitted as separate files, not embedded in the text
- Legends or captions for figures should be listed on a separate page, double spaced

For information on submitting animations, movie files and sound files or any additional information including indexes and calendars please click [here](#).

For information on colour figures and charges please click [here](#).

Notes on Style

General Style

Authors are asked to take into account the diverse audience of the journal. Please avoid the use of terms that might be meaningful only to a local or national audience, or provide a clear explanation where this is unavoidable. However, papers that reflect the particularities of a social and cultural system are acceptable. Some specific points on style follow:

1. Authors should write in clear, concise UK English. Language and grammar should be consistent with *Fowler's English Usage*; spelling and meaning of words should conform to *Webster's Dictionary*. If English is not your native language please ensure the manuscript has been reviewed by a native speaker. Please note: extensive rewriting of the text will not be undertaken by the editorial staff.
2. Latin terminology, including microbiological and species nomenclature, should be italicised.

3. Use standard convention for human and animal genes and proteins: italics for genes and regular font for proteins, and upper case for human products and lower case for animal products.
4. "US" is preferred to "American", "USA" to "United States", and "UK" to "United Kingdom".
5. Double quotation marks rather than single are used unless the "quotation is 'within' another".
6. Punctuation of common abbreviations should adhere to the following conventions: "e.g."; "i.e."; "cf.". Note that such abbreviations should not generally be followed by a comma or a (double) point/period.
7. Upper case characters in headings and references should be used sparingly, e.g. only the first word of paper titles, subheadings and any proper nouns begin upper case; similarly for the titles of papers from journals in the references and elsewhere.
8. Apostrophes should be used sparingly. Thus, decades should be referred to as follows: "The 1980s [not the 1980's] saw ...". Possessives associated with acronyms (e.g. APU), should be written as follows: "The APU's findings that ..." but note that the plural is "APUs".
9. All acronyms for national agencies, examinations, etc., should be spelled out the first time they are introduced in text or references. Thereafter the acronym can be used if appropriate, e.g. "The work of the Assessment of Performance Unit (APU) in the early 1980s ..." and subsequently, "The APU studies of achievement ...", in a reference "(Department of Education and Science [DES] 1989a)".
10. Brief biographical details of significant national figures should be outlined in the text unless it is quite clear that the person concerned would be known internationally. Some suggested editorial comments in a typical text are indicated in the following with square brackets: "From the time of H. E. Armstrong [in the 19th century] to the curriculum development work associated with the Nuffield Foundation [in the 1960s], there has been a shift from constructivism to heurism in the design of [British] science courses".
11. The preferred local (national) usage for ethnic and other minorities should be used in all papers. For the USA, "African-American", "Hispanic" and "Native American" are used, e.g. "The African-American presidential candidate, Jesse Jackson ..."; for the UK, "Afro-Caribbean" (not "West Indian"), etc.
12. Material to be emphasised by italicisation in the printed version should be italicised in the typescript rather than underlined. Please use such emphasis sparingly.
13. Numbers in text should take the following forms: 300, 3000, 30 000 (not 30,000). Spell out numbers under 10 unless used with a unit of measure, e.g. nine pupils but 9 mm (do not use full stops (periods) within units). For decimals, use the form 0.05 (not .05, × 05 or 0× 05). "%" (not "per cent") should be used in typescripts.
14. Appendices should appear before the references section and after any acknowledgements section. The style of the title is shown by the following example: "Appendix C: The random network generator".
Figures and tables within appendices should continue the sequence of numbering from the main body of the text. Sections within appendices should be numbered, for example, C.1, C.2. Equations in appendices should be numbered, for example, (C 1), (C 2). If there is only one appendix, it is referred to as "the appendix" and not called "Appendix A".

Abbreviations and nomenclature

For abbreviations and nomenclature, authors should consult the latest edition of the *CSE Style Manual* available from the Council of Science Editors, 60 Revue Drive, Suite 500 Northbrook, IL, 60062, USA.

Mathematics

Please click [here](#) for more information on the presentation of mathematical text.

Footnotes

Footnotes are not to be used except for designation of the corresponding author of the paper or current address information for an author (if different from that shown in the affiliation). Information concerning grant support of research should appear in a separate Declaration of

interest section at the end of the paper. Acknowledgements of the assistance of colleagues or similar notes of appreciation belong in a separate Acknowledgements section.

Footnotes to tables should be typed directly below the table and are indicated by the following symbols: * (asterisk or star), † (dagger), ‡ (double dagger), ¶ (paragraph mark), § (section mark), || (parallels), # (number sign). Reinitialise symbol sequence within tables.

Editorial Policies

Authorship

According to the International Committee on Medical Journal Ethics (ICMJE), an author is defined as one who has made substantial contributions to the conception and development of a manuscript. Informa Pharmaceutical Science adheres to the ICMJE guidelines (<http://www.icmje.org/#author>), which state that "authorship credit should be based on all of the following: 1) substantial contributions to conception and design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data; 2) drafting the article or advising it critically for important intellectual content; and 3) final approval of the version to be published"¹. All other contributors should be listed as acknowledgements.

All submissions are expected to comply with the above definition. Changes to the authorship list after submission will result in a query from the publisher requesting written explanation.

Redundant publication and plagiarism

Journal of Microencapsulation considers all manuscripts on the strict condition that they have not been published already, nor are they under consideration for publication or in press elsewhere.

Journal of Microencapsulation will not consider, in general, redundant publications, i.e. "publication of a paper that overlaps substantially with one already published in print or electronic media" (International Committee of Publication Ethics: http://www.icmje.org/publishing_4overlap.html). This rule applies whether the overlapping papers are from the same authors or not.

In addition, Informa has a strict policy against plagiarism. We define plagiarism as the use of extracts from another person's work that are not placed in quotation marks, without the permission of that person, and without acknowledgement to that person (using the appropriate reference style), with the result that your article presents these extracts as original to you. By submitting your work to an Informa Healthcare journal, you warrant that it is your original work, and that you have secured the necessary written permission from the appropriate copyright owner or authority for the reproduction of any illustration or other material.

Paraphrasing, defined as "taking portions of text from one or more sources, crediting the author/s, but only changing one or two words or simply rearranging the order, voice (i.e., active vs. passive) and/or tense of the sentences" by the US Office on Research Integrity (<http://ori.dhhs.gov/education/products/plagiarism/7.shtml>), will not be accepted if found to be used extensively and to make up large sections of the manuscript. Extensive paraphrasing will not be deemed original work and will be viewed as redundant publication and/or plagiarism.

Peer Review

¹ Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication. Available at: <http://www.icmje.org/>

All manuscripts will be subjected to confidential peer review by experts in the field and, on the basis of reviewers' feedback, papers will be accepted unconditionally, accepted subject to revision or rejected.

Ethics and Consent

- Do not use patients' names, initials, or hospital numbers, especially in illustrative material. Identifying information should not be published in written descriptions, photographs, and pedigrees unless the information is essential for scientific purposes and the patient (or parent or guardian) gives written informed consent for publication. Informed consent for this purpose requires that the patient be shown the manuscript to be published.
- Papers including animal experiments or clinical trials must be conducted with approval by the local animal care or human subject committees, respectively (see below).
- To comply with FDAAA legislation, Informa Pharmaceutical Science requires trial registration as a condition of publication for all studies involving clinical trials. Trial registration numbers should be included in the abstract, with full details provided in the methods section.
- All manuscripts, except reviews, must include a statement in the Introduction or Methods section that the study was approved by an Investigational Review Board (Human Studies Committee or Ethics Committee or Animal Care and Use Committee), if applicable. Authors who do not have formal ethics review committees should include a statement that their study followed principles in the Declaration of Helsinki (<http://www.wma.net/e/policy/b3.htm>).
- When a product has not yet been approved by an appropriate regulatory body for the use described in the manuscript, the author must specify that the product is not approved for the use under discussion or that the product is still under investigation.

Further information on Ethics and Consent can be found by clicking [here](#)

Copyright and Permissions

It is a condition of publication that authors assign copyright or license the publication rights in their articles, including abstracts, to Informa UK Ltd. This enables us to ensure full copyright protection and to disseminate the article, and the Journal, to the widest possible readership in print and electronic formats as appropriate. Authors may, of course, use the article elsewhere after publication without prior permission from Informa UK Ltd., provided that acknowledgement is given to the Journal as the original source of publication, and that Informa Pharmaceutical Science is notified so that our records show that its use is properly authorised. Authors retain a number of other rights under the Informa UK Ltd. rights policies documents.

Authors are required to sign an agreement for the transfer of copyright to the publisher. All accepted manuscripts, artwork, and photographs become the property of the publisher. A copyright agreement form can be downloaded by corresponding authors of accepted manuscripts with proofs. This should be signed and returned to Informa Pharmaceutical Science.

Authors are themselves responsible for obtaining permission to reproduce copyright material from other sources.

Further information on Permissions can be found by clicking [here](#).

Declaration of Interest

It is the policy of all Informa Pharmaceutical Science, to adhere in principle to the [Conflict of Interest policy](#) recommended by the ICMJE. All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence

(bias) their work. It is the sole responsibility of authors to disclose any affiliation with any organization with a financial interest, direct or indirect, in the subject matter or materials discussed in the manuscript (such as consultancies, employment, paid expert testimony, honoraria, speakers bureaus, retainers, stock options or ownership, patents or patent applications or travel grants) that may affect the conduct or reporting of the work submitted. All sources of funding for research are to be explicitly stated. If uncertain as to what might be considered a potential conflict of interest, authors should err on the side of full disclosure.

If there are no declarations, authors should explicitly state that there are none. This must be stated at the point of submission (within the manuscript, after the main text, under a subheading "Declaration of interest", and within the appropriate field on the journal's ScholarOne Manuscripts site). Manuscript submission cannot be completed unless a declaration of interest statement (either stating the disclosures or reporting that there are none) is included.

This will be made available to reviewers and will appear in the published article. If any potential conflicts of interest are found to have been withheld following publication, the journal will proceed according to [COPE guidance](#).

The intent of this policy is not to prevent authors with any particular relationship or interest from publishing their work, but rather to adopt transparency such that reviewers, editors, the publisher, and most importantly, readers can make objective judgements the work product.

NIH/Wellcome Public and Open Access Policies

In consideration of the National Institutes of Health (NIH) and Wellcome Public and Open Access Policies, Informa Pharmaceutical Science acknowledges that the broad and open dissemination of NIH/Wellcome-funded research results may benefit future scientific and medical research. Because we value the current and future contributions our journals make to the scientific body of knowledge, we have made certain that our policies accommodate those authors who wish to submit to PubMed Central.

As part of our author services program, Informa Pharmaceutical Science will deposit to PubMed Central (PMC) and UK PubMed Central (UKPMC) author manuscripts reporting NIH or Wellcome Trust funded research.

This service will help authors to comply with the NIH and Wellcome Trust revised 'Public Access Policy' and 'Open Access Policy', respectively.

NIH policy

NIH-funded authors must submit to PMC, or have submitted on their behalf, at the point of acceptance, their peer-reviewed author manuscripts, to appear on PMC no later than 12 months after final publication.

Click [here](#) for more information.

Wellcome Trust policy

Wellcome-funded authors must submit to UKPMC, or have submitted on their behalf, at the point of acceptance, their peer-reviewed author manuscripts, to appear on UKPMC no later than 6 months after final publication.

Click [here](#) for more information.

Informa Pharmaceutical Science will deliver to PMC/UKPMC the final peer-reviewed manuscript, which was accepted for publication and that reflects any author-agreed changes made in response to the peer review. We will also authorise the author manuscript's public access posting 12 months (NIH) or 6 months (Wellcome Trust) after final publication in print or electronic form (whichever is the sooner). Following the deposit, authors will receive further communications from the NIH Manuscript Submission System/UK Manuscript Submission System with respect to the submission.

Under our Author Rights policy, authors also have the right to post their version of the submitted author manuscript (pre-print), or their version of the final published article (post-print) on their personal or institutional web site. Post-print web postings are subject to an embargo of 12 months. Please note that authors should not post manuscripts directly to PMC/UKPMC or other third party sites for any systematic external distribution by a third party (e.g., to a listserv or database connected to a public access server).

Additional Information

Proofs

Usual practice will involve corresponding authors receiving email notification with a password and web address from which to download a PDF. Hard copies of proofs will not be mailed. To avoid delays in publication, corrections to proofs must be returned within 48 hours, by electronic transmittal, fax or mail. Authors will be charged for excessive correction at this stage of production. If authors do not return page proofs promptly, the Publisher reserves the choice to either delay publication to a subsequent issue or to proceed to press without author corrections. The Publisher reserves the right to proceed to press without submitting page proofs to the author.

Reprints

Each corresponding author will receive a PDF file of the final version of their article. Reprints of individual articles are available for order at the time authors review page proofs. A discount on reprints is available to authors who order before print publication. Copies of the journal can be purchased at the author's preferential rate of \$25/£15 per copy.

Further information on Reprints can be found by clicking [here](#).

Colour figure charges

Any figure submitted as a colour original will appear in colour in the Journal's online edition free of charge. Print copy colour reproduction will only be considered on condition that authors bear the associated costs. The charge for the first page with colour is US \$1000/£500, each subsequent page is charged at US \$500/£250. There are no charges for non-colour pages.

Contact the publisher

Click [here](#) for contact details for the Publisher.