



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

LARISSA PEREIRA ALVES

**MICROPARTÍCULAS DE ACETATO DE CELULOSE SINTETIZADO A PARTIR
DO *Agave sisalana* Perrine (ORIUNDO DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO) PARA A
OBTENÇÃO DE SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DA SINVASTATINA**

CAMPINA GRANDE

2020

LARISSA PEREIRA ALVES

**MICROPARTÍCULAS DE ACETATO DE CELULOSE SINTETIZADO A PARTIR
DO *Agave sisalana* Perrine (ORIUNDO DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO) PARA A
OBTENÇÃO DE SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DA SINVASTATINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito para obtenção do título de mestre.

Orientador:

Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima
Damasceno

Co-orientador: Dr. João Augusto Oshiro Júnior

CAMPINA GRANDE

2020

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

A474m Alves, Larissa Pereira.

Micropartículas de acetato de celulose sintetizado a partir do *Agave sisalana* Perrine (oriundo do semiárido brasileiro) para a obtenção de Sistema de liberação controlada da sinvastatina [manuscrito] / Larissa Pereira Alves. - 2020.

90 p. : il. colorido.

Digitado.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2020.

"Orientação : Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno, Departamento de Farmácia - CCBS."

"Coorientação: Prof. Dr. João Augusto Oshiro Júnior, Departamento de Farmácia - CCBS."

1. Encapsulação. 2. Sistemas de Liberação de fármacos.
3. Hipolipemiante. 4. Sinvastatina. I. Título

21. ed. CDD 615.1

LARISSA PEREIRA ALVES

**MICROPARTÍCULAS DE ACETATO DE CELULOSE SINTETIZADO A PARTIR
DO *Agave sisalana* Perrine (ORIUNDO DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO) PARA A
OBTENÇÃO DE SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DA SINVASTATINA**

**Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
da Universidade Estadual da Paraíba, como
requisito para obtenção do título de mestre.**

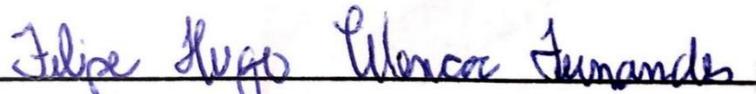
Aprovada em: 17/02/2020.



Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno
Universidade Estadual da Paraíba (Orientador)



Prof. Dr.^a Mariana Rillo Sato
Universidade Estadual Paulista (Avaliadora)



Prof. Dr. Felipe Hugo Alencar Fernandes
Universidade Estadual da Paraíba (Avaliador)

*O conhecimento torna a alma jovem e diminui a
amargura da velhice. Colhe, pois, a sabedoria e
armazena suavidade para o amanhã.*

Leonardo da Vinci

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela dádiva da vida e por me permitir realizar tantos sonhos, errar, aprender e crescer, por sua eterna compreensão e tolerância, por seu infinito amor e por ter me encorajado a nunca desistir e ter colocado pessoas tão especiais durante a minha trajetória. Ainda não descobri o que eu fiz para merecer tanto.

Aos meus pais Arnaldo Alves da Silva e Marizélia Maria José Pereira Alves e a minha irmã Lysianne Pereira Alves por todo apoio, pelos conselhos e esforço, vocês são a minha inspiração.

Ao meu orientador e professor Bolívar Damasceno pela sua disponibilidade, pelo incentivo, pelo equilíbrio e sua calma que consegue nos transmitir. Seus ensinamentos foram essenciais durante minha vida acadêmica.

Ao meu co-orientador João Oshiro por toda contribuição e paciência que foram essenciais no aprimoramento durante o meu mestrado.

A todos pertencentes do Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF) por toda receptividade e ensinamentos que foram fundamentais durante o processo de desenvolvimento da pesquisa e a todos laboratórios que se disponibilizaram para o desenvolvimento de análises na Universidade Federal de Campina Grande, Universidade Federal da Paraíba, Universidade Estadual da Paraíba e pelo apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal a Nível Superior (CAPES)

A instituição UEPB e a todos os meus professores por terem me acolhido e me instigarem durante essa nova etapa da caminhada acadêmica.

A todos o meu muito obrigada!

Aos meus pais, com muito amor e gratidão pelo carinho, infinito amor, compreensão e apoio ao longo do período de elaboração deste trabalho

RESUMO

A hipercolesterolemia é uma condição que se caracteriza pela presença de taxas elevadas de colesterol no sangue, representa um dos fatores de risco para o desenvolvimento e progressão da aterosclerose e conseqüentemente doenças cardiovasculares que são uma das principais causas de morbimortalidade do mundo. A sinvastatina responsável por reduzir o nível de colesterol no sangue, possui baixa biodisponibilidade oral (<5%), tornando necessário a busca por novas preparações farmacêuticas de liberação controlada que possam auxiliar na administração deste fármaco. Visto isso, um dos principais enfoques estão na produção de sistemas poliméricos, pelas características que essas formas garantem ao fármaco ao serem administrado. Por isso este trabalho propõe desenvolver um sistema microparticulado de acetato de celulose a partir da celulose extraída de *Agave sisalana* Perrine para liberação controlada da sinvastatina. As micropartículas foram produzidas a partir do método da emulsificação-ebulção do solvente, secas por spray dryer utilizando um polímero obtido de um produto natural que foi devidamente caracterizado pela determinação do grau de substituição (GS) do acetato de celulose por via química e por técnica de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), além da determinação das suas propriedades de fluxo. As micropartículas foram caracterizadas seguindo as técnicas de Microscopia Óptica (MO), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR), Difração de raios-X (DRX), Calorimetria exploratória diferencial (DSC), termogravimetria (TGA) e determinação do potencial zeta e índice de polidispersividade (PDI). O acetato de celulose apresentou boas propriedades de fluxo após o processo de acetilação da celulose, com o GS por via química em torno de $2,72 \pm 0,27$ e por RMN-H de 3,49 confirmando a formação do triacetato de celulose. As micropartículas com e sem o fármaco apresentaram formato esférico com algumas deformidades que se deve ao processo de secagem, apresentando um diâmetro médio entre 1842 a 1857 nm, com o PDI de 0,278 e potencial zeta em torno de -4,45 mV para as micropartículas com o fármaco. As análises térmicas demonstraram através do TGA uma maior estabilidade térmica para micropartículas com o fármaco com perda de massa de $\Delta m = 37,15\%$ entre 205-327°C e para micropartículas ausentes do fármaco houve uma perda de $\Delta m = 56,00\%$. Através do DSC houve ausência de transição de fase da sinvastatina conferindo que o mesmo se encontra em seu estado amorfo, homogeneamente disperso na matriz polimérica e compatíveis com os componentes da formulação, como pode ser confirmado através das técnicas de DRX que sugeriram modificações na rede cristalina da sinvastatina para seu estado amorfo após sua encapsulação observadas nas reflexões nos difratogramas. No espectro do infravermelho as bandas de absorção características do fármaco deslocaram-se ou substituíram-se pelas bandas dos polímeros indicando aprisionamento da sinvastatina, com uma eficiência de encapsulação de 98% apresentando um perfil de liberação de forma controlada durante um período de 72h, obedecendo o modelo cinético de Higuchi. Portanto

Palavras-chave: Encapsulação; Novos Sistemas de Liberação de fármacos; Hipolipemiante.

ABSTRACT

Hypercholesterolemia represents one of the risk factors for the development and progression of atherosclerosis and consequently cardiovascular diseases, which are one of the main causes of morbidity and mortality in the world. Simvastatin, responsible for reducing the level of cholesterol in the blood, has low oral bioavailability (<5%), making it necessary to search for new controlled-release pharmaceutical preparations that can assist in the administration of this drug. Given this, one of the main focuses is on the production of polymeric systems, due to the characteristics that these forms guarantee to the drug when administered. Therefore, this work proposes to verify the feasibility of producing cellulose acetate matrix systems from cellulose extracted from *Agave sisalana* for controlled release of simvastatin. The microparticles were produced using the solvent emulsification-evaporation method, spray-dried using a polymer obtained from a natural product that was properly characterized by determining the degree of substitution (GS) of cellulose acetate chemically and by technique Nuclear Magnetic Resonance (NMR), in addition to determining its flow properties. The microparticles were characterized following the techniques of Optical Microscopy (OM), Scanning Electron Microscopy (SEM), Spectroscopy in the infrared region with Fourier transform (FT-IR), X-ray diffraction (XRD), Differential scanning calorimetry (DSC), thermogravimetry (TGA) and determination of zeta potential and polydispersity index (PDI). Cellulose acetate showed good flow properties after the cellulose acetylation process, with GS chemically around 2.72 ± 0.27 and H-NMR of 3.49 confirming the formation of cellulose triacetate. The microparticles were spherical in shape with some deformities due to the drying process, with an average diameter between 1842 to 1857 nm, with a PDI of 0.278 and zeta potential around -4.45 mV. The thermal analyzes showed through the TGA a greater thermal stability for microparticles with the drug with a loss of mass of $\Delta m = 37.15\%$ between 205-327 ° C and for microparticles absent of the drug there was a loss of $\Delta m = 56.00\%$. Through the DSC there was no phase transition of simvastatin, ensuring that it is in its amorphous state, homogeneously dispersed in the polymer matrix and compatible with the components of the formulation, as can be confirmed through XRD techniques that suggested changes in the crystalline network. of simvastatin to its amorphous state after its encapsulation observed in the reflections in the diffractograms. In the infrared spectrum, the absorption bands characteristic of the drug have shifted or been replaced by the polymer bands indicating trapping of simvastatin, with an encapsulation efficiency of 98% releasing in a controlled manner over a period of 72 hours, following the kinetic model of Higuchi. So until this stage, through obtaining all the results of the research, it can be concluded that the microparticles present great perspectives in the scope of new systems of release of simvastatin as a new proposal for the treatment of dyslipidemias.

Keywords: Encapsulation; Drug Release Systems; Hypolipidemic.

ABREVIATURAS

A/O	Água em óleo
A/O/A	Água em óleo em água
ACT	Acetato de celulose
Acetil-CoA	Acetilcoenzima
ANOVA	Análise de variância
Apo	Apoliproteínas
ATP	Adenosina trifosfato
C	Índice de compactibilidade
CERTBIO	Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste
Db	Densidade bruta
Dc	Densidade de compactação
DRX	Difração de raio X
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FH	Fator de Hausner
FTIR	Infravermelho com Transformada de Fourier
GA	Grupos acetila
GS	Grau de substituição
H ₀	Hipótese nula
H ₁	Hipótese alternativa
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
HDL	Lipídeo de alta densidade
HMG-CoA	Redutase 3-hidroxi-3-metil-glutaril-Coenzima A
IC	Índice de Carr
IDL	Lipoproteínas de densidade intermediária
IFA	Insumo farmacêutico ativo
KOH	Hidróxido de potássio
LDCPF	Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos
LDL	Colesterol lipoproteico de baixa densidade
LMCA	Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análises
Log P	Coefficiente de partição
LPL	Lipoproteína lipase
MEV	Microscópio Eletrônico de Varredura
MPCF	Micropartícula com fármaco
NADPH	Adenina dinucleotídeo fosfato reduzido
NaOH	Hidróxido de sódio
O/A	Óleo em água
OMS	Organização Mundial da Saúde
PDI	Índice de polidispersão
P _{final}	Peso final
P _{inicial}	Peso inicial
PVA	Álcool polivinílico
R ²	Coefficiente de determinação
R(%)	Rendimento percentual
RENAME	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais

SBC	Sistema de classificação biofarmacêutica
SINV	Sinvastatina
Stubs	Porta-espécime metálica
SUS	Sistema Único de Saúde
TG	Triglicerídeos
TGA	Análise termogravimétrica
UV-VIS	Ultravioleta visível
UEPB	Universidade Estadual da Paraíba
UFCG	Universidade Federal de Campina Grande
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
VLDLs	Lipoproteínas de densidade muito baixa

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Propriedades de fluxo da celulose e acetato de celulose	49
Tabela 2 – Propriedades físico-químicas das MPSF e MPCF	57
Tabela 3 – Resultados de decomposição térmica através da análise de termogravimetria. ...	61
Tabela 4 – Resultados dos eventos calorimétricos das amostras.....	64
Tabela 5 – Principais bandas observadas nos espectros de FTIR das amostras	67
Tabela 6 – Análise de Variância na Regressão (ANOVA).....	71
Tabela 7 – Teste de significância do coeficiente angular	72
Tabela 8 – Precisão.....	74
Tabela 9 – Exatidão	74
Tabela 10 – Robustez.....	75
Tabela 11 – Valores do coeficiente de determinação (R^2) obtido ajustando o perfil de liberação de sinvastatina com diferentes modelos matemáticos	78
Tabela 12 – Parâmetros cinéticos de liberação.....	78

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Fórmula estrutural do colesterol	19
Figura 2 – Via catalítica simplificada da biossíntese do colesterol.....	20
Figura 3 – Biossíntese da lipoproteína de alta densidade.....	21
Figura 4 – Representação esquemática da estrutura química da sinvastatina	25
Figura 5 – Representação esquemática de (a) microcápsula, (b) microcápsula de multicamadas, (c) microesfera multiescala, (d) microesfera.	27
Figura 6 – Monocotiledônea <i>Agave sisalana</i> Perr.....	29
Figura 7 – Representação esquemática da produção do acetato de celulose.....	32
Figura 8 - Esquema de produção da celulose.	37
Figura 9 – Processamento tecnológico da droga vegetal ao acetato de celulose.....	48
Figura 10 -.Espectros de RMN- ¹ H do acetato de celulose	52
Figura 11 - Fotomicrografias do acetato de celulose obtidas através do microscópio óptico..	53
Figura 12 -. Fotomicrografias da sinvastatina obtida através do microscópio óptico	53
Figura 13 - Fotomicrografias das micropartículas sem o fármaco	54
Figura 14 –.Fotomicrografias das micropartículas com o fármaco.....	54
Figura 15 – Fotomicrografias da celulose obtidos por MEV	55
Figura 16 – Fotomicrografias do acetato de celulose obtidos por MEV	55
Figura 17 – Microscopia eletrônica de varredura das micropartículas sem o fármaco	56
Figura 18 –.Microscopia eletrônica de varredura das micropartículas com o fármaco.....	57
Figura 19 –. Curvas de TG das amostras.....	59
Figura 20 – Curvas de DSC das amostras.	62
Figura 21 – Espectro de FTIR das amostras.....	65
Figura 22 – Espectro de varredura de 190 a 400nm.....	68
Figura 23 – Difratoograma das amostras.....	69
Figura 24 – Espectro de varredura das MPSF e MPCF evidenciando a formação dos picos característicos do fármaco	70
Figura 25 –. Curva analítica das soluções da sinvastatina em lauril sulfato de sódio a 0,5% nas concentrações de 3 a 30 µg/ml.	72
Figura 26 – Distribuição da análise dos resíduos.	73
Figura 27 – Perfis de liberação <i>in vitro</i> das MPCF	76
Figura 28 – Modelos cinéticos de liberação das micropartículas com fármaco.....	77

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	OBJETIVOS.....	17
2.1	OBJETIVO GERAL.....	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
3.1	HIPERLIPIDEMIA COMO FATOR DE RISCO PARA DOENÇAS CARDIOVASCULARES.....	18
3.2	HIPERLIPIDEMIA.....	19
3.3	SINVASTATINA.....	23
3.3.1	Aspectos farmacológicos.....	23
3.3.2	Aspectos físico-químicos.....	24
3.4	NOVOS SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS.....	26
3.5	A ESPÉCIE <i>Agave sisalana</i>	28
3.6	PROPRIEDADE DO POLÍMERO ACETATO DE CELULOSE.....	31
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	34
4.1	MATERIAL.....	34
4.2	MÉTODOS.....	35
4.2.1	Obtenções de <i>Agave sisalana</i>.....	35
4.2.1.1	<i>Matéria prima vegetal.....</i>	35
4.2.1.2	<i>Purificação <i>Agave sisalana</i>.....</i>	35
4.2.1.3	<i>Obtenção da holocelulose.....</i>	35
4.2.1.4	<i>Obtenção da celulose.....</i>	36
4.2.2	Produção e caracterização do acetato de celulose.....	37
4.2.2.1	<i>Acetilação da celulose de <i>Agave sisalana</i>.....</i>	37
4.2.2.2	<i>Determinação do grau de substituição do acetato de celulose.....</i>	38
4.2.2.2.1	<i>Via Química.....</i>	38
4.2.2.2.2	<i>Espectrometria H-RMN.....</i>	38
4.2.2.3	<i>Rendimento do acetato de celulose.....</i>	39
4.2.2.4	<i>Propriedade reológicas do acetato de celulose.....</i>	39
4.2.2.4.1	<i>Determinação da densidade bruta e de compactação.....</i>	39
4.2.2.4.2	<i>Determinação do fator de Hausner</i>	40
4.2.2.4.3	<i>Determinação do índice de compressibilidade.....</i>	40
4.2.2.4.4	<i>Determinação de compactabilidade</i>	40
4.2.2.4.5	<i>Ângulo de repouso.....</i>	41
4.2.2.5	<i>Identificação do acetato de celulose.....</i>	41
4.2.3	Produção das micropartículas de acetato de celulose/sinvastina pelo método de evaporação do solvente.....	41
4.2.3.1	<i>Produção das micropartículas.....</i>	41
4.2.3.2	<i>Determinação do rendimento.....</i>	42
4.2.3.3	<i>Análise morfológica das micropartículas de acetato de celulose.....</i>	42
4.2.3.4	<i>Análise granulométrica por espalhamento de luz e determinação do Potencial Zeta (ζmV) das micropartículas com e sem a sinvastatina.....</i>	43
4.2.3.5	<i>Termogravimetria (TG).....</i>	43
4.2.3.6	<i>Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....</i>	43

4.2.3.7	<i>Análise de difração de raios X das micropartículas.....</i>	44
4.2.3.8	<i>Espectroscopia na Região do Infravermelho com transformada de Fourier.....</i>	44
4.2.3.9	<i>Avaliação cinética de liberação do fármaco a partir do sistema.....</i>	44
4.2.3.9.1	<i>Validação do método analítico da sinvastatina.....</i>	44
4.2.3.9.1.1	Seletividade.....	45
4.2.3.9.1.2	Linearidade.....	45
4.2.3.9.1.3	Exatidão.....	45
4.2.3.9.1.4	Precisão.....	45
4.2.3.9.1.5	Robustez.....	45
4.2.3.9.1.6	Limite de detecção.....	46
4.2.3.9.1.7	Limite de quantificação.....	46
4.2.3.9.2	<i>Eficiência de encapsulação.....</i> ;	46
4.2.3.9.3	<i>Liberação in vitro das micropartículas.....</i>	46
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
5.1	EXTRAÇÃO DA CELULOSE E ACETATO DE CELULOSE A PARTIR DO <i>Agave sisalana</i> PERRINE.....	48
5.2	DETERMINAÇÃO DAS PROPRIEDADES DE FLUXO.....	49
5.3	GRAU DE SUBSTITUIÇÃO DO ACETATO DE CELULOSE.....	50
5.3.1	Via química.....	50
5.3.2	RMN-H.....	51
5.4	CARACTERIZAÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS	52
5.4.1	Determinação do rendimento das micropartículas.....	52
5.4.2	Morfologia.....	53
5.4.2.1	<i>Microscopia óptica.....</i>	53
5.4.2.2	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura.....</i>	55
5.4.3	Propriedades físico-químicas das micropartículas.....	57
5.4.4	Comportamento térmico das micropartículas.....	58
5.4.5	Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	64
5.4.6	Difração de raios-X (DRX).....	67
5.4.7	Avaliação cinética de liberação do fármaco a partir do sistema.....	69
5.4.7.1	<i>Validação do método analítico para a quantificação da sinvastatina.....</i>	69
5.4.7.2	<i>Eficiência de encapsulação.....</i>	75
5.4.7.3	<i>Estudo de liberação in vitro da sinvastatina.....</i>	75
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS	79
6.1	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	79
6.2	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	80
	REFERÊNCIAS	81

1. INTRODUÇÃO

A hipercolesterolemia, ou seja, o nível elevado do colesterol representa um dos fatores de risco para o desenvolvimento e progressão da aterosclerose e conseqüentemente doenças cardiovasculares (HARISA; ALOMRANI; BADRAN, 2017; RIZVI et al., 2019). Estima-se que 4,5 % da mortalidade global total esteja atrelado a doenças cardíacas e que o tratamento eficaz da hipercolesterolemia possa reduzir substancialmente a mortalidade das doenças cardiovasculares (FATHI et al., 2018).

As estatinas são responsáveis por reduzir o nível de colesterol no sangue. Podem ser encontradas como produtos naturais, isoladas a partir do metabolismo de fungos, como a mevastatina, a lovastatina, a pravastatina e a sinvastatina (derivado semi-sintético), ou são completamente sintéticas como a atorvastatina, a cerivastatina e a fluvastatina (BOUITBIR et al., 2019; KOCIJAN et al., 2005).

A sinvastatina o medicamento mais prescrito no Brasil, um dos medicamentos mais importantes farmacologicamente, com vendas anuais superiores a US\$ 3 bilhões, representando cerca de 30% do volume de vendas do mercado mundial de medicamentos para hipercolesterolemia. Se destacam como sendo um potente inibidor da redutase da 3-hidroxi-3-metil-glutaril-coenzima A (HMG-CoA) que converte HMG-CoA em mevalonato, um precursor na síntese do colesterol. Apresentando-se com baixa solubilidade aquosa e alta permeabilidade de acordo com o sistema de classificação biofarmacêutica (SCB), com meia vida plasmática baixa (~2 h) e biodisponibilidade oral (< 5%), devido a sua solubilidade *in vivo* inadequada e ao extenso metabolismo de primeira passagem (CAMPOLONGO et al., 2016; MEOR MOHD AFFANDI; TRIPATHY; MAJEED, 2016).

Esta molécula é administrada na forma inativa, lactona, e no fígado é hidrolisada para a forma ativa, o α -hidroxiácido correspondente. A lipofilicidade do pró-fármaco, sinvastatina, confere uma maior captação nos tecidos, resultando em maior inibição da síntese do colesterol, em comparação com as demais estatinas administradas na forma ativa (LI et al., 2019; SARIISIK et al., 2019).

Diante disso, o desenvolvimento de preparações de liberação prolongada é desejável, uma vez que o fármaco seria liberado gradualmente a partir da forma farmacêutica, diminuindo as flutuações plasmáticas causadas pela liberação imediata de grande quantidade do fármaco (LOPES; LOBO; COSTA, 2005; PEZZINI; SILVA; FERRAZ, 2007).

Nesse sentido, diversas estratégias químicas ou físicas podem ser utilizadas para contornar essa desvantagem, tais como redução do tamanho do insumo farmacêutico ativo (IFA), pró-fármaco, co-cristal, formação do sal e encapsulação em sistemas microestruturados.

Conforme Edgar (2007) apesar de muitos polímeros poderem ser utilizados na preparação de formas farmacêuticas de liberação modificada, os polímeros hidrodispersíveis, como os ésteres da celulose, estão entre os grupos mais frequentemente empregados nestes tipos de formulações (FURTADO et al., 2020; IRISAPPAN et al., 2013; SHABAN et al., 2020).

Os ésteres de celulose, particularmente o acetato de celulose, têm assumido um papel vital na produção de matrizes para liberação controlada de fármacos (filmes resistentes e micro e nanopartículas, membrana por exemplo) devido a propriedades essenciais como: baixa toxicidade, boa estabilidade, biodegradabilidade, elevada permeação a água, elevada temperatura de transição vítrea (T_g) e compatibilidade com uma série de agentes ativos (CANDIDO; GODOY; GONÇALVES, 2017; KHOSHNEVISAN et al., 2018).

O acetato é produzido a partir de uma reação de acetilação da celulose e um dos aspectos de maior importância na sua produção é o material de partida empregado. Na produção do acetato de celulose em escala industrial é utilizada polpa celulósica da madeira de elevada pureza (KONO et al., 2017). Entretanto, a celulose também tem sido obtida a partir de outras fontes, como: bagaço de cana de açúcar, sabugo de milho, palha de arroz e caroço de manga. As principais características esperadas para a fonte celulósica empregada são: elevado conteúdo de α -celulose, baixa quantidade de impurezas (resinas, ceras, sais entre outras) e massa molecular moderada como se verifica nas fibras do sisal.

Nesse sentido *Agave sisalana* é a principal fibra dura produzida no mundo, constituindo uma fonte de renda e emprego para um grande contingente de trabalhadores. Entre as várias espécies do gênero *Agave*, *Agave sisalana* Perrine é uma espécie amplamente presente na região Nordeste do Brasil, conhecida mundialmente como o sisal, do qual o Brasil é o maior exportador mundial. Cultivada principalmente nas áreas semi-áridas, demonstram diferentes aplicações tanto para indústria alimentícia, como farmacêutica, no entanto apenas 4% das folhas do sisal são usadas para a produção de fibras (APOLINÁRIO et al., 2017; ARALDI et al., 2018).

Tendo em vista tais considerações, este projeto se propõe a obter um sistema de liberação controlada da sinvastatina cujo polímero hidrossolúvel da micropartícula, o acetato de celulose, terá como material de partida *Agave sisalana*. O estudo também possui como pressuposto atribuir um maior valor agregado à planta, de forma a contribuir para a formação

de um elo entre pequenos produtores rurais nordestinos e a indústria farmacêutica, que promova o desenvolvimento social e econômico da região.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar um sistema microparticulado de acetato de celulose a partir da celulose extraída de *Agave sisalana* Perrine para liberação controlada da sinvastatina.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos irão seguir conforme:

- a) obter o acetato de celulose a partir da celulose extraída de *Agave sisalana*;
- b) produzir e caracterizar micropartículas de acetato de celulose para a liberação controlada de fármacos;
- c) Caracterizar as micropartículas com e sem o fármaco por Termogravimetria (TGA), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Difração de Raio-X (DRX), Microscopia Óptica e Microscopia Eletrônica de Varredura,
- d) desenvolver e validar o método analítico de quantificação da sinvastatina para avaliar a potencial incorporação e o perfil de liberação da sinvastatina incorporada nas micropartículas.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 HIPERLIPIDEMIA COMO FATOR DE RISCO PARA DOENÇAS CARDIOVASCULARES

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), as doenças cardiovasculares são as principais responsáveis pela morbimortalidade, com representação de 31% mundialmente. A hiperlipidemia definida como níveis aumentados de colesterol em jejum que podem ou não estar associadas à concentração elevada de triglicérides (TG), apresenta-se como um fator de risco bem estabelecido devido o desenvolvimento da aterosclerose. No Brasil, a doença arterial coronariana e o acidente vascular cerebral são as doenças cardiovasculares de maior prevalência de morbimortalidade (BOUSSOUSSOU et al., 2019).

Estudos reforçam que quanto maior o nível de colesterol plasmático, maior o risco de eventos coronarianos. Níveis elevados de colesterol lipoproteico de baixa densidade (LDL) e de TG, bem como níveis de lipídeo de alta densidade (HDL) reduzidos, ou mesmo suas combinações, caracterizam as dislipidemias e o risco aumentado das doenças cardiovasculares, não apenas pelo conteúdo lipídico, mas também por suas propriedades pró-trombóticas e pró-inflamatórias (WAKE et al., 2019).

Aterosclerose é uma doença inflamatória crônica de origem multifatorial que ocorre em resposta à agressão endotelial, acometendo principalmente a camada íntima de artérias de médio e grande calibre. A formação da placa aterosclerótica inicia-se com a agressão ao endotélio vascular por diversos fatores de risco, como dislipidemia, hipertensão arterial ou tabagismo (LIU et al., 2020).

Sua patogênese é altamente dependente da dislipidemia, pois os lipídios se acumulam em regiões de fluxo sanguíneo perturbando na camada íntima do vaso. Como consequência, a disfunção endotelial aumenta a permeabilidade da íntima às lipoproteínas plasmáticas, favorecendo a retenção destas no espaço subendotelial. Retidas, as partículas de LDL sofrem oxidação, causando a exposição de diversos neoepítomos, tornando-as imunogênicas. O depósito de lipoproteínas na parede arterial, processo-chave no início da aterogênese, ocorre de maneira proporcional à concentração destas lipoproteínas no plasma. No entanto, a dislipidemia em combinação com respostas inflamatórias promove a progressão da placa. Essas placas vulneráveis podem se romper, levando a sintomas clínicos como trombose, infarto do miocárdio ou infarto cerebral (HOTTA et al., 2017; LACY et al., 2019).

Embora vários fatores contribuam para um maior risco individual de doenças cardiovasculares, estudos clínicos revelam que a dislipidemia ou níveis lipídicos anormais, são

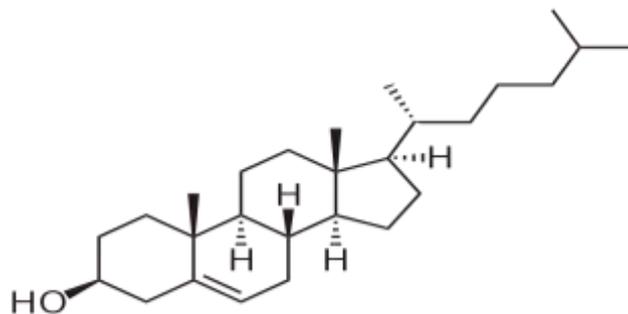
os principais fatores de risco modificável na diminuição das manifestações da aterosclerose (FATIMA et al., 2019).

A probabilidade de eventos cardiovasculares graves ou morte aumentam ainda mais em pacientes com fatores de risco adicionais, como diabetes mellitus tipo 2, histórico de doença cardiovascular ou doença cerebrovascular. As metas terapêuticas a serem atingidas para o controle lipídico são estabelecidas de acordo com a estratificação de risco do paciente. São consideradas a presença ou ausência de doença aterosclerótica manifesta ou subclínica, a presença de diabetes e o escore de risco global, com subsequente classificação de risco, possuindo valores referenciais conforme avaliação de risco cardiovascular estimado, para adultos acima de 20 anos, com metas estritas de gerenciamento lipídico recomendadas para pacientes com comorbidades incluindo diabetes mellitus e doença arterial periférica com uma meta de 20 mg/dL menor que a recomendada para pacientes sem essas comorbidades <120 e 140 mg/dL respectivamente. Para pacientes com histórico de doença arterial coronária o alvo do LDL é ainda mais baixo (<100 mg/dL) (BOUSSOUSSOU et al., 2019; FATIMA et al., 2019; WAKE et al., 2019).

3.2 HIPERLIPIDEMIA

O colesterol é um lipídio constituído por álcool policlínico de cadeia longa com 27 átomos de carbono, composto por núcleo esterol como pode ser observada através da figura 1, é considerado um esteroide, presente nas membranas celulares e nas membranas das organelas internas de todas as células, sintetizado por diversas moléculas de acetilcoenzima A (Acetil-CoA). Além de ser um precursor essencial na biossíntese de hormônios gonadotróficos (estradiol e testosterona), glicocorticoides (cortisol) e mineralocorticoides (aldosterona) (HUANG et al., 2018; LI et al., 2017; THOMPSON; NAOUMOVA; WATTS, 1996; XU et al., 2015).

Figura 1 – Fórmula estrutural do colesterol



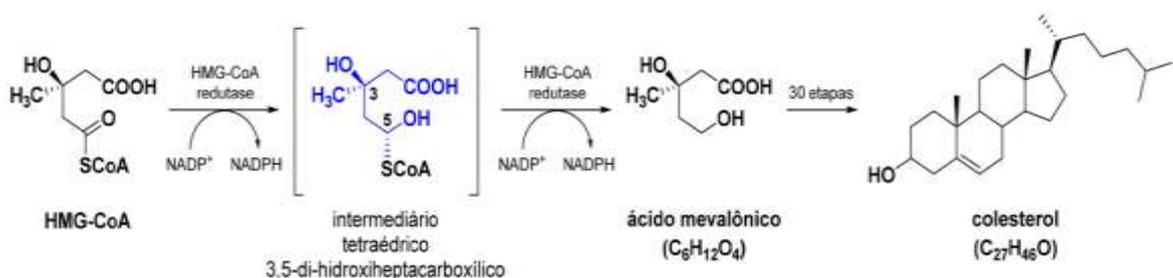
Fonte: molécula adaptada de Tavares et.al., 2016.

Através do trato gastrointestinal pode ser absorvido todos os dias o colesterol proveniente da alimentação o que é denominado de colesterol exógeno e outra parte é formado por uma quantidade maior pelas células do corpo, o chamado colesterol endógeno. A síntese endógena ocorre principalmente no citosol e no retículo endoplasmático de todas as células nucleadas a partir do acetil-CoA, mas sua formação ocorre principalmente no fígado (TAVARES et al., 2016; VIEGAS; SILVA BOLZANI; BARREIRO, 2006).

A etapa da biossíntese do colesterol no organismo é realizada pela associação de três moléculas de acetil-CoA para a formação de HMG-CoA, Posteriormente a HMG-CoA é reduzida a mevalonato, sendo essa reação irreversível e catalisada HMG-CoA redutase (CAMPO; CARVALHO, 2007).

A condensação de três moléculas de isopentenila, obtido a partir do mevalonato, fornece o intermediário farnesil pirofosfato. Sendo o mevalonato o importante precursor de todos os isoprenoides e esteroides dos organismos vivos. A reação entre duas moléculas do intermediário isoprenoide C₁₅ gera o derivado esqualeno. O esqualeno, por sua vez, sofre um processo de ciclização devido à reação de epoxidação, movimentação de elétrons e migração de dois grupos metilas. Essa etapa, ao contrário dos demais, requer oxigênio molecular. Dessa forma, origina-se o lanosterol, que é convertido em colesterol após uma série de vinte etapas, a partir da remoção de três grupamentos metila, redução da dupla ligação por nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido (NADPH) e movimentação da dupla ligação no anel de lanosterol. Toda via catalítica descrita, está resumidamente demonstrada através da figura 2 (CAMPO; CARVALHO, 2007; MADSEN et al., 2008).

Figura 2 – Via catalítica simplificada da biossíntese do colesterol



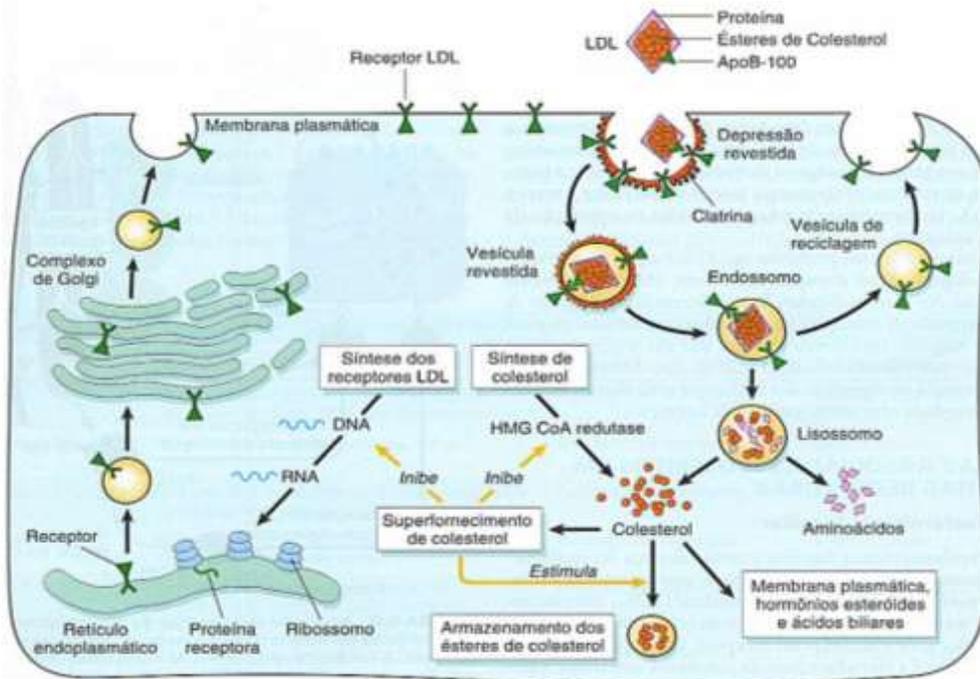
Fonte: adaptada de Tavares et al., 2016

Outros fatores podem estar associado a concentração do colesterol plasmático como a dieta de gorduras muito saturadas levam ao aumento da concentração de colesterol no sangue, a ingestão de gorduras com alto teor de ácidos graxos insaturados, em geral reduz a concentração do colesterol sérico para nível ligeiramente a moderado, a ausência de insulina ou

de hormônio tireoidiano aumenta a concentração de colesterol sanguíneo, enquanto que o excesso de hormônio diminui sua concentração. Isso se explica pois a enzima limitante na síntese do colesterol HMG-CoA é regulada pela fosforilação controlada por níveis de insulina, adenosina trifosfato (ATP) e glucagon, portanto níveis de insulina alto estimula a fosfatase a desfosforilação da enzima tornando-a ativa aumentando a produção de colesterol, já o glucagon e o ATP estimulam a fosforilação da enzima tornando inativa, devido aos níveis glicosídicos baixo. Até distúrbios genéticos do metabolismo do colesterol podem aumentar significativamente os níveis de colesterol plasmático (ADIELS et al., 2008; VERNEY; SANTOS LIMA; LENZ, 2008; XAVIER et al., 2013).

O excesso de colesterol vai saturar as vias biosintéticas e o exudante irá se acumular principalmente nas artérias causando as doenças cardiovasculares. As lipoproteínas são os responsáveis pelo transporte de lipídeos pelo plasma, sendo os lipídeos mais comumente encontrados na corrente sanguínea são o colesterol e seus ésteres, os triglicerídeos e os fosfolipídios, tornando esses lipídeos solúveis no meio aquoso. Algumas proteínas são responsáveis por ligarem-se aos lipídios para formar lipoproteínas, as chamadas de apolipoproteínas (Apo), responsáveis pela interação com receptores e ativação de determinadas enzimas na superfície da lipoproteína. A biossíntese da lipoproteína de alta densidade está demonstrado na figura 3 (RAY, 2018; XAVIER et al., 2013).

Figura 3 – Biossíntese da lipoproteína de alta densidade.



Fonte: adaptado de Rone et al., 2009.

A apo-A I, apo-A II e apo-IV são responsáveis por se associar ao HDL responsáveis pela ativação de uma enzima lecitina-colesterol aciltransferase (LCAT) que tem a capacidade de esterificar o colesterol com a lecitina, facilitando o transporte de colesterol dos tecidos para o fígado, seus níveis aumentados estão associados a uma diminuição do risco do infarto agudo do miocárdio. Já a apo-B100 são embalados com ésteres de colesterol, triglicerídeos (TGs) e fosfolipídios em lipoproteína de densidade baixa como as lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDLs), lipoproteínas de densidade intermediária (IDL) mas principalmente a LDL, sua principal função é interagir com receptores de LDL existentes nos tecidos periféricos e facilitar a saída do colesterol da lipoproteína para o tecido periférico (RAY, 2018; XAVIER et al., 2013)

O metabolismo do colesterol ocorre dinamicamente com os lipídeos da dieta, os ácidos biliares e o colesterol endógeno secretado pelo fígado chegarão ao intestino no qual será emulsificado e absorvido pelos enterócitos. Os lipídeos serão utilizados para formação dos quilomícrons, que é a primeira lipoproteína formada pelo intestino formada por triglicerídeos, colesterol, formada apenas por uma apoB-48 que tem necessidade de uma outra apolipoproteínas que é transferida da HDL, que é apoE e apoC-II completando as apolipoproteínas dos quilomícrons, tornando-o maduro. A lipoproteína ao chegar no tecido adiposo ou tecido muscular, apoC-II ativa a lipase lipoproteica (LPL) que quebra os triglicerídeos liberando ácidos graxos que será uma ótima fonte de energia para os músculos ou será armazenado no tecido adiposo, ao diminuir seu conteúdo de triglicerídeos os quilomícrons irão reduzir de tamanho até se transformarem nos chamados quilomícrons remanescentes, devolvendo as apoC-II que receberam do HDL (HADJIPHILIPPOU; RAY, 2018; XAVIER et al., 2013).

Os quilomícrons por possuírem apoE que é responsável pela ligação de receptores no fígado, serão utilizados pelas células hepáticas e o conteúdo proteico poderá ser utilizada para produção de outras lipoproteínas como a VLDL que será constituído por apoB-100 e apoE. O HDL novamente irá transferir a apoC-II que se tornará madura, quebrando novamente os triglicerídeos do conteúdo do VLDL transformando em uma outra lipoproteína que é IDL, que devolve a apoC-II para o HDL. O IDL ou pode retornar ao fígado ou pode devolver apoE para HDL transformando em LDL porque só terá apoB-100 que poderá interagir com receptores encontrados nos tecidos extra-hepáticos. (HADJIPHILIPPOU; RAY, 2018; XAVIER et al., 2013).

As alterações metabólicas de lipídeos decorrentes dos distúrbios em qualquer fase do metabolismo lipídico, ocasionam repercussão nos níveis séricos das lipoproteínas. Que podem ser geradas pelo processo de alteração na síntese, no processamento das lipoproteínas e na

degradação desses lipídeos. As dislipidemias podem vir associadas de fatores genéticos, chamadas etiologicamente de primária ou quando relacionadas a outras doenças, com uso de medicamentos, ou estilo de vida do paciente, sendo assim classificadas como dislipidemias secundárias (BEVILACQUA et al., 2007; BURNS et al., 2014; GONDIM et al., 2017).

A classificação laboratorial das dislipidemias sofreu modificações, e os valores referenciais e os alvos terapêuticos foram determinados de acordo com o risco cardiovascular individual e com o estado alimentar. As dislipidemias podem ser classificadas de acordo com a fração lipídica alterada em: hipercolesterolemia isolada: aumento isolado do LDL-c (LDL-c \geq 160 mg/dL); hipertrigliceridemia isolada: aumento isolado dos triglicérides (TG \geq 150 mg/dL ou \geq 175 mg/dL, se a amostra for obtida sem jejum); hiperlipidemia mista: aumento do LDL-c (LDL-c \geq 160 mg/dL) e dos TG (TG \geq 150 mg/dL ou \geq 175 mg/dL, se a amostra for obtida sem jejum). Se TG \geq 400 mg/dL, o cálculo do LDL-c pela fórmula de Friedewald é inadequado, devendo-se considerar a hiperlipidemia mista quando o não HDL-c \geq 190 mg/dL. HDL-c baixo: redução do HDL-c (homens $<$ 40 mg/dL e mulheres $<$ 50 mg/dL) isolada ou em associação ao aumento de LDL-c ou de TG (HOTTA et al., 2017).

As terapias atuais abordam a necessidade de prevenir as doenças cardiovasculares com tratamento dos hipolipemiantes, e as estatinas são consideradas a primeira opção até hoje, por serem relatadas como benéficas por diminuírem os níveis de colesterol total e LDL (WANG; QIU, 2019).

3.3 SINVASTATINA

3.3.1 Aspectos farmacológicos

Os inibidores da HMG-CoA redutase, comumente conhecidos como estatinas, constituem uma classe de hipolipemiantes mais prescritas em todo o mundo e têm sido associados com uma expressiva diminuição da morbidade e mortalidade cardiovascular. A utilização destes fármacos hipolipemiantes é utilizada de acordo com o risco individual de cada paciente em desenvolver problemas cardiovasculares (prevenção primária) ou de desenvolver um novo evento cardiovascular (prevenção secundária) (ARNAUD; BRAUNERSREUTHER; MACH, 2005; FIEGENBAUM; HUTZ, 2006; ROSENDO et al., 2007).

A diminuição da síntese endógena do colesterol deve-se a capacidade da sinvastatina em inibir a enzima HMG-CoA redutase na qual é responsável por regular a conversão do HMG-CoA em ácido mevalônico, que é uma etapa limitante para a síntese do colesterol. (FIEGENBAUM; HUTZ, 2006; ROSENDO et al., 2007).

A inibição por essa via sintética torna-se uma forma bastante eficiente para uma terapia hipolipemiante, visto que em humanos, a biossíntese do colesterol a partir do acetil-CoA é responsável por fornecer cerca de 60 a 70% do colesterol circulante (FIEGENBAUM et al. (2006).

Como inibidores da enzima levam a uma diminuição mevalonato (metabólito da síntese do colesterol) e conseqüentemente de outros compostos isoprenóides como o farnesilpirofosfato e geranylgeranylpirofosfato. Estas proteínas atuam na isoprenilação, que é fundamental para associação entre proteínas à membrana plasmática, sendo essencial para que estas apresentem atividade biológica, deste modo as estatinas atuam inibindo a proteína Rho isoprenilada, na qual é responsável por inibir a expressão do óxido nítrico sintase, aumentando, portanto, sua expressão. Este efeito é denominado de pleiotrópicos, pois são considerados independentes da redução do colesterol, melhorando, portanto a disfunção endotelial (ARNAUD; BRAUNERSREUTHER; MACH, 2005; CHAPMAN et al., 2003; ROSENDO et al., 2007).

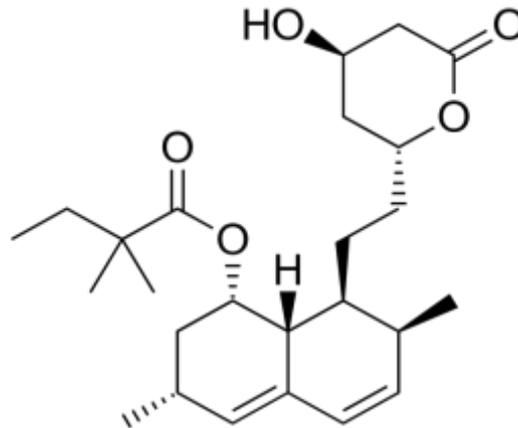
Devido à redução do colesterol intracelular é promovido um aumento da expressão dos receptores de LDL na superfície dos hepatócitos ocasionando em uma maior receptação de LDL circulantes. Sua capacidade de inibir a enzima HMG-CoA, reduzem os níveis de VLDLs, que são precursores das LDLs, promovendo uma redução de colesterol necessário para a formação da lipoproteína e pela redução dos níveis de apolipoproteína B que é o principal componente presente nas LDLs. O resultado final é a redução dos níveis séricos de LDL circulante (CHRISTIANS; JACOBSEN; FLOREN, 1998; FIEGENBAUM; HUTZ, 2006).

Assim Leung et al. (1993) relatam que ao mesmo tempo em que a síntese do colesterol é inibida, ocorre ação anti-inflamatória, demonstrada pela redução de moléculas de adesão inibição da proliferação de células do músculo liso na placa aterosclerótica, efeitos imunolatórios e por efeitos antioxidantes diretos.

3.3.2 Aspectos físico-químicos

Conforme Ribeiro et al. (2015) as estatinas são de fundamental importância para redução de eventos cardiovasculares, dentre as estatinas pode ser citada a sinvastatina, representada na figura 4, umas das primeiras representantes da classe empregada na terapêutica. Oriundo da fermentação *Aspergillus terreus* é o um agente semi-sintético derivado de um metabólito fúngico natural, a lovastatina, esta é estruturalmente semelhante ao seu protótipo, possuindo uma metila como grupo substituinte adicional do carbono alfa à carbonila da função éster da estrutura (BERTACCHE et al., 2007; TAVARES et al., 2016).

Figura 4 – Representação esquemática da estrutura química da sinvastatina.



Fonte: adaptada de Oliveira et al., 2010

Apresenta-se como uma simplificação molecular da lovastatina, visto que o centro esterogênico presente na cadeia de C-9 na sinvastatina foi abolido pela inserção de um grupamento metila, tornando-a mais potente do que seu protótipo, com a presença de um anel lactônico em sua estrutura (TAVARES et al., 2016; VIEGAS; SILVA BOLZANI; BARREIRO, 2006).

Após administrado apresentam-se com um redutor do colesterol que reduz os níveis do LDL-colesterol, de substâncias gordurosas chamadas triglicérides e aumenta os níveis do considerado HDL-colesterol no sangue. De forma geral, o grupo lactona (um éster cíclico) sofre hidrólise enzimática in vivo, tornando a sinvastatina capaz de exercer sua ação. Dessa forma, a sinvastatina é classificada com uma estrutura latente (pró-fármaco). O metabólito ativo apresenta similaridade estrutural com o substrato da enzima, o que é evidenciado pelo grupo 3,5-di-hidroxi-heptacarboxílico, sendo considerado como um potente análogo do estado de transição do substrato da enzima, capaz de se ligar ao bolsão catalítico da enzima, impedindo a clivagem do substrato e sua conversão em ácido mevalônico. Outras interações são observadas entre a base adenina e o grupo fosfato do substrato e a molécula de NADPH (BERTACCHE et al., 2007; XAVIER et al., 2013).

O medicamento pertence à Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) e está disponível no Sistema Único de Saúde (SUS) na forma de apresentação de comprimido de 10 mg, 20 mg, 40 mg (BRASIL, 2017).

Caracterizada por ser um pó branco, cristalino, não higroscópico, com ponto de fusão na faixa de 135°C a 138°C, com coeficiente de partição (log p) octanol/água = 4,68. O fármaco é insolúvel em água (0,03 mg/mL) e em ácido clorídrico a 0,1 M (0,06 mg/mL), facilmente solúvel em clorofórmio (610 mg/mL), dimetilsulfóxido (540 mg/mL), metanol (200 mg/mL) e

etanol (160 mg/mL); muito pouco solúvel em hexano (0,15 mg/mL). Possui absorção na região ultravioleta em acetonitrila $\lambda = 231, 238$ e 247 nm e com o pKa em torno de 4,18 estando a molécula quase completamente dissociada em pH 6,8 (OLIVEIRA et al., 2010; YOSHINARI et al., 2007).

De acordo com Vargas (2014) a insolubilidade da sinvastatina em água deve-se ao fármaco em soluções aquosas formarem pontes de hidrogênio intermoleculares entre a hidroxila do oxigênio 3 de uma molécula com o oxigênio 5 do éster de outra molécula, tornando a hidroxila comprometida. Pertence ao SCB classe II, que corresponde ao fármaco de baixa solubilidade e alta permeabilidade, apresentando um tempo de meia vida curto que varia em torno de 3-6 h. A posologia do medicamento convencional disponível no mercado é indicada para o período noturno, pois a enzima no qual a sinvastatina inibe possui um incremento de ação durante a noite, por isso convém conciliar o pico plasmático da sinvastatina no momento de maior atividade enzimática ao nível circadiano. Apenas 5% do fármaco após administrado oralmente é biodisponível, a utilização de fármacos hidrofóbicos por essa via é prejudicada devido a baixa biodisponibilidade, falta de proporcionalidade da dosagem e alta variabilidade intra e interindividual do paciente, o que promove interesse no setor farmacêutico por novas formas farmacêuticas orais para liberação e incorporação de fármacos com baixa solubilidade aquosa e biodisponibilidade (SHARMA et al., 2018).

3.4 NOVOS SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS

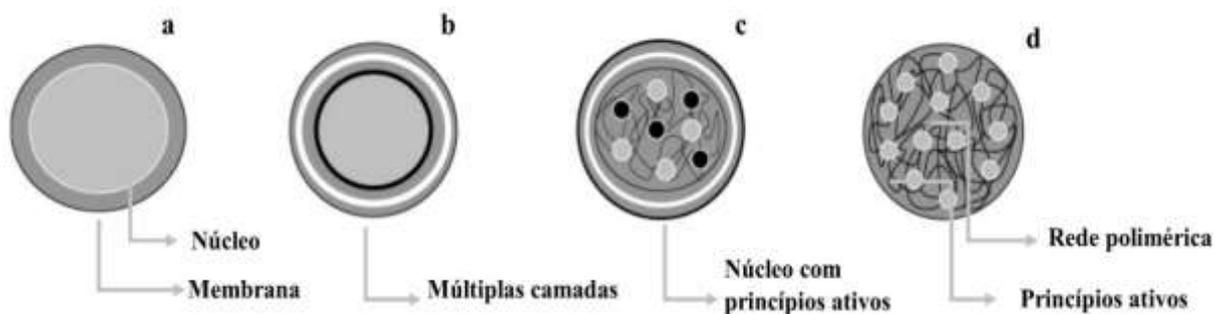
A tecnologia farmacêutica associada à modificação da liberação de fármacos, ou outras substâncias bioativas sofreu um incremento notório nas últimas décadas na tentativa de maximizar as vantagens inerentes às formas farmacêuticas de liberação controlada. Por isso, tem se buscado alternativas terapêuticas capazes de aumentar a margem de segurança dos fármacos, minimizar seus efeitos colaterais e reduzir a quantidade de doses diárias repetidas para manutenção da concentração terapêutica dos fármacos tido como convencionais, pois em alguns casos a administração convencional de medicamentos manifesta efeitos colaterais tóxicos (OLIVEIRA et al., 2015).

Uma ampla variedade de sistemas, visando modular a velocidade e vetorização do fármaco, tem sido objeto de investigação na área da indústria farmacêutica. Entre estes sistemas estão incluídos os lipossomas, os sistemas matriciais poliméricos, as bombas osmóticas, revestimentos entéricos, sistemas transdérmicos, entre outros. De maneira particular, a utilização de sistemas matriciais constituídos por diversos tipos de polímeros é opção interessante, sendo uma das estratégias mais empregadas no desenvolvimento de uma

formulação oral de liberação modificada devido às vantagens inerentes a estes sistemas: versatilidade, eficácia, baixo custo e produção que recorre a equipamentos e técnicas convencionais. Uma dessas abordagens é a utilização de micropartículas como transportadores de fármacos, pois oferecem maior eficácia, menor toxicidade e melhor estabilidade do que as formas de dosagens convencionais. Os sistemas de administração de medicamentos microparticulados são usados para prolongar a administração do medicamento, melhorar a biodisponibilidade, aumentar a estabilidade e direcionar o medicamento para um local específico (LI et al., 2019; MOHNING et al., 2018).

As micropartículas são sistemas farmacêuticos de liberação modificada sendo definidas como micrométricos de pequenas partículas geralmente esféricas e sólidas de tamanho entre 1 a 1000 μm , representadas na figura 5. O termo micropartícula inclui as microcápsulas e as microesferas. As microcápsulas são formadas por um sistema reservatório com um núcleo interno contendo o princípio ativo ou substâncias revestidas de polímeros de espessuras variáveis. Já as microesferas podem ser definidas como sistemas matriciais no qual o fármaco pode ser uniformemente disperso e/ou dissolvido na rede polimérica (CALEFFI, 2014; MICHELON; LEOPÉRCIO; CARVALHO, 2020; SILVA et al., 2007).

Figura 5 – Representação esquemática de (a) microcápsula, (b) microcápsula de multicamadas, (c) microesfera multiescala, (d) microesfera.



Fonte: adaptada de Nesterenko et al., 2013.

A microencapsulação vem sendo utilizada para diversas finalidades, especificamente na indústria farmacêutica, as principais vantagens de fazer o uso deste novo tipo de forma farmacêutica é proteção do princípio ativo contra os agentes atmosféricos, promovendo um mascaramento de sabores ou odores indesejáveis, melhor permeação de membrana pela oclusão, redução da irritação gástrica, administração de fármacos incompatíveis, liberação precisa das doses, proteção de compostos lábeis, melhoramento de fluxo e escoamento de pós, permitindo, portanto que as micropartículas possam ser utilizadas em diferentes vias de

administração (MATOS-JR et al., 2017; LAM; GAMBARI, 2014; LIU; CHEN; SELOMULYA, 2015).

Há na literatura diversas formas de obtenção das micropartículas poliméricas, a escolha da técnica por sua vez dependerá do tipo de polímero utilizado na encapsulação, da característica do fármaco, da via de administração, devendo ser reproduzível para assim garantir a estabilidade do fármaco com alta eficiência de encapsulação (LAM; GAMBARI, 2014; PEREIRA et al., 2006).

Uma das técnicas mais utilizadas para obtenção de micropartículas é o processo de emulsificação/evaporação de solventes, visto que é um tipo de técnica que apresenta algumas vantagens de produção como facilidade de operação, contínua e de baixo custo, capacidade de transposição em larga escala, habilidade de manusear produtos lábeis devido a curta exposição do produto a altas temperaturas e possibilidade de utilizar fármacos hidrofílicos quanto fármacos hidrofóbicos. Nesta pode-se formar emulsões simples ou dupla, sendo classificada como óleo em água O/A, água em óleo A/O ou a formação de emulsão múltipla do tipo água em óleo em água A/O/A (BOURICHE et al., 2019).

Essa técnica consiste para emulsões do tipo O/A e A/O/A em dissolver o polímero em um solvente orgânico volátil, na qual é imiscível na fase líquida do veículo de produção, com a posterior adição do fármaco na solução, caracterizada por ser a fase orgânica da emulsão. Em seguida esta solução é vertida na fase aquosa de maior volume contendo o tensoativo. No caso da emulsão múltipla uma terceira fase composto por um agente emulsificante é adicionada, sendo vertida sob a emulsão primária. Enquanto que para emulsão do tipo A/O, o polímero é disperso ou dissolvido em um solvente orgânico polar (PENG et al., 2019; SEVERINO et al., 2011).

Todas as misturas para obtenção das emulsões são realizadas sob agitação, promovendo assim o material encapsulado e disperso no líquido de processamento para se obter o tamanho das micropartículas desejáveis. Posteriormente é realizado o processo de evaporação do solvente do sistema, promovendo a precipitação do mesmo na forma de pó, que poderão ser separadas por centrifugação, filtração ou qualquer outra técnica de secagem (NAIK et al., 2012; ZHANG et al., 2016).

3.5 ESPÉCIE *Agave sisalana*

O sisal (*Agave sisalana* Perrine) é uma das espécies difundida no nordeste brasileiro uma planta semi-xerófila com adaptação às regiões tropicais e subtropicais, suportando secas prolongadas e temperaturas elevadas. Sua principal aplicação na região é como fonte de

extração de fibras duras vegetais, correspondendo a aproximadamente 70% da produção comercial de todas as fibras desse tipo. No Brasil, essa espécie foi difundida no bioma Caatinga e é principalmente cultivada para obter fibras para a produção de fios, cordas e artesanato (APOLINÁRIO et al., 2017; WEBBER et al., 2018).

Atualmente seu cultivo no Nordeste brasileiro ocupa uma extensa área de solos pobres nos estados da Bahia, Paraíba e Rio Grande do Norte, em regiões de pequenos produtores com escassa ou nenhuma alternativa para exploração de outras culturas, com predomínio do trabalho familiar, como maior produtor e exportador mundial de *Agave sisalana* Perrine, figura 6, para o fornecimento de fibra de sisal. Atualmente, a Bahia e a Paraíba respondem com 97,8% da produção (sendo 86,7% para a Bahia e 11,1% para a Paraíba), ficando os 2,2% restantes distribuídos entre os Estados do Ceará, Rio Grande do Norte e Pernambuco. É um componente importantíssimo na economia agrícola do Estado da Paraíba, por tratar-se de um produto de exportação, gerador de divisas. Destaca-se, também, pela capacidade de geração de empregos, por meio de uma cadeia de serviços que abrange desde os trabalhos de manutenção das lavouras (baseados na mão-de-obra familiar), extração e processamento da fibra para o beneficiamento, até as atividades de industrialização de diversos produtos, bem como seu uso para fins artesanais (ARALDI et al., 2018).

Figura 6 – Monocotiledônia *Agave sisalana* Perr.



Fonte: autoria própria, 2019.

As fibras são extraídas das folhas, que possuem de 8 a 10 cm de largura e de 150 a 200 cm de comprimento. As folhas e o caule da *Agave* são ricas em fonte de carboidratos e lignoceluloses e introduzidos como matéria-prima de bioenergia lipo-celulósica. Seu rendimento médio cai na faixa de 8,5 a 22 Mg ha⁻¹ ano⁻¹ de peso seco em condições climáticas amenas. Da folha se obtém apenas as fibras duras que representam de 3 a 5% do seu peso em fibra. Os 95 a 97% restantes constituem os chamados resíduos do beneficiamento, que são utilizados como adubo orgânico, ração animal, bioinseticida e como intermediário para a síntese de medicamentos esteroides nas indústrias farmacêuticas (RIBEIRO et al., 2015; SARWAR et al., 2019).

Segundo Silva et al. (2008) sua comercialização rende cerca de 80 milhões de dólares em divisas para o Brasil, além de gerar, mais de meio milhão de empregos diretos e indiretos por meio de sua cadeia produtiva, sendo o seu cultivo um dos principais agentes de fixação do homem à região semiárida nordestina.

A aplicação da fibra é principalmente na indústria automobilística e na fabricação de cordas, barbante, tapetes, vassouras, estofamentos, e artesanato, além da utilização na fabricação de pasta celulósica para produção do papel Kraft de alta resistência e outros tipos de papel fino, também sendo usada pela indústria farmacêutica, pois extrato de sisal contém substâncias anti-inflamatórias, antimicrobiana, anti-helmíntica, antiviral, atividades gastroprotetoras (BOTURA et al., 2011; MAGALHÃES et al., 2017; MARTIN et al., 2009).

É perceptível a grande importância socioeconômica que *Agave sisalana* representa para os municípios produtores do semiárido nordestino, ficando fácil também compreender o quanto os produtos dele derivados são dependentes das condições impostas pelo mercado internacional. Devido a isso a baixa rentabilidade inviabiliza a prática dos tratos culturais, resultando no abandono das lavouras ou na sua substituição por pastagens e/ou outras culturas (SILVA et al., 2008).

Alguns estudos demonstraram o potencial da *Agave sisalana* em diferentes novas aplicações, por exemplo, como fonte de metabólitos secundários e novos produtos de interesse para as indústrias farmacêutica e alimentícia. Desse modo para Verney, Santos e Lenz (2008) a revitalização de *A. sisalana* é importante, mas será praticamente inviável sem a agregação de valor aos produtos derivados. Para isso, se faz necessário desenvolver produtos que tenham esta planta como matéria-prima base. Uma alternativa atraente que vem sendo explorada é a utilização da sua fibra natural em substituição às fibras sintéticas como reforço de compósitos poliméricos, este utilizado na indústria farmacêutica como alternativa para formulações de novos sistemas de liberação de fármacos.

3.6 PROPRIEDADE DO POLÍMERO ACETATO DE CELULOSE

Polímeros são macromoléculas formadas a partir de unidades estruturais menores, conhecidos como monômeros ou unidades monoméricas, que apresentam unidades químicas por ligações covalentes, que se repetem ao longo de toda a cadeia. Os polímeros funcionam como transportadores inertes nos quais fármacos são conjugados para que o polímero possa funcionar como veículo para transportar a molécula do fármaco para o local alvo. A fonte para obtenção do polímero pode ser proveniente através de fontes naturais tais como celulose, seda, fibras de algodão que tem despertado interesse por ser de fácil acesso, exploração de recursos ainda não explorados e de baixo custo, como também podem ser sintéticos tais como polipropileno, polietileno, policloreto de vinila entre outros (AGGARWAL; GOEL; SINGLA, 2012; SUR et al., 2019).

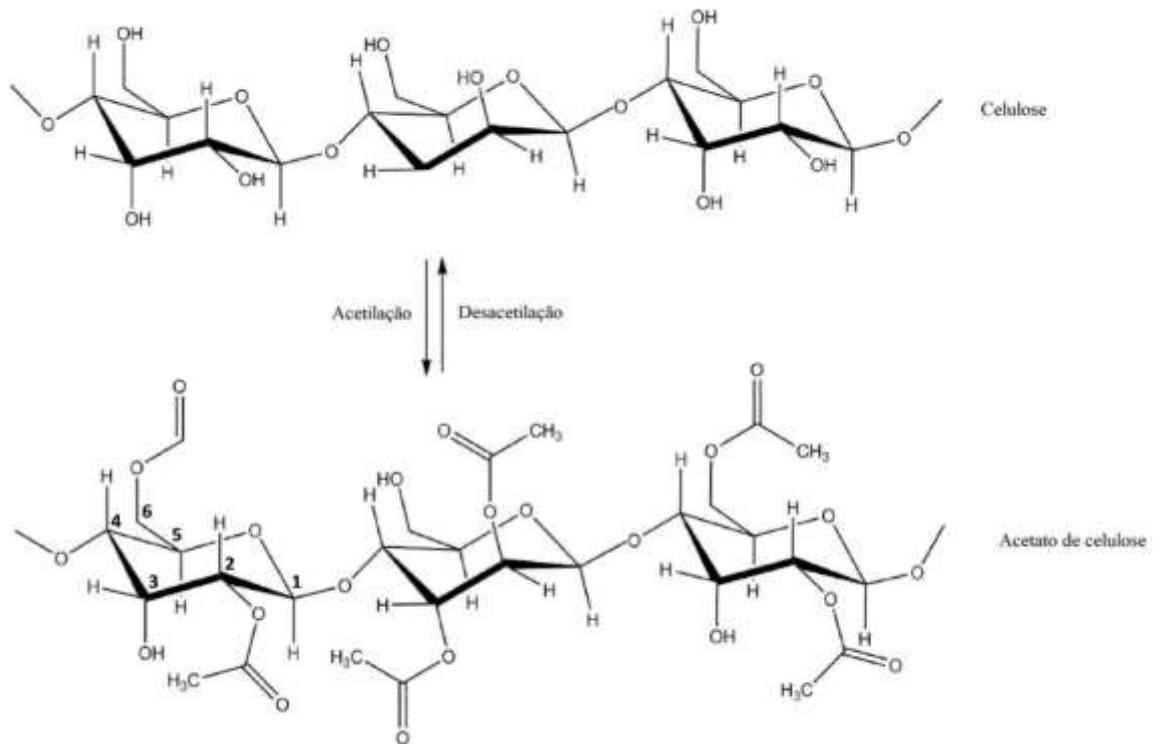
A celulose é o principal componente da parede celular dos vegetais e um dos mais importantes polímeros naturais existentes e mais abundantes do mundo se encontrando em diferentes partes das plantas, como folhas, frutos, hastes, caule. É um homopolissacarídeo de cadeia linear, formado por unidades repetidas de celobiose (duas moléculas de glicose), unidas por ligação glicosídicas do tipo β -(1-4). Possui fórmula molecular $(C_6H_{10}O_5)_n$ e nomenclatura química β -1,4-poliacetil de celobiose (4-O- β -D-glucopiranosil-D-glicose) (ZAMAN et al., 2019).

Devido à eliminação de água da unidade de glicose, no momento de sua condensação para formá-lo, o polímero é considerado anidro. A designação D refere-se ao posicionamento do grupo OH (hidroxila) à direita do átomo do carbono assimétrico C₂. Este polímero natural é degradado na natureza por atividade biológica, especialmente enzimática, associada a uma alteração significativa na estrutura química do material (CHEN et al., 2016; DANTAS, 2011).

Os polímeros biodegradáveis tem atraído pesquisadores nos dias atuais por melhorarem as aplicações da administração de medicamentos e outras aplicações de refino no campo farmacêutico e biomédico. Várias matrizes poliméricas biodegradáveis adequadas, incluindo as micropartículas são desenvolvidas com propriedades aprimoradas, como liberação sustentada, liberação controlada, liberação retardada etc. Por sua vez a celulose apresenta algumas características intrínsecas como decomposição abaixo do seu ponto de fusão, insolubilidade em água, taxa de liberação rápida e más propriedades mecânicas foram desenvolvidas algumas conversões que melhoraram suas características, tais como a produção de ésteres de celulose (PRAJAPATI et al., 2019).

O acetato de celulose, éster orgânico da celulose, como representado na figura 7, é um biopolímero mais comum de grande importância comercial devido a sua larga aplicação em fibras, plásticos e na indústria farmacêutica para aplicações na administração de fármacos ou enzimas, preparados pela reação de celulose com anidrido acético e ácido acético, na presença de ácido sulfúrico. Seu processo de obtenção se dá pela esterificação dos grupos hidroxilas das unidades de anidroglicose com grupos acetila da celulose (CRUZ et al., 2011; LIAKOS et al., 2016).

Figura 7 – Representação esquemática da produção do acetato de celulose.



Fonte: adaptada de Khoshnevisan, 2018.

A celulose esterificada é um dos materiais de membrana mais utilizados e após a esterificação algumas propriedades podem ser melhoradas como propriedade de liberação, resistência mecânica, hidrofiliicidade ou hidrofobicidade. O processo da esterificação favorece a hidrofobicidade dos materiais de celulose, que se tornam adequados para uso como materiais de revestimento ou materiais de parede no tipo de permeação devido à sua lenta taxa de liberação. O aumento da resistência a tração pode estar relacionado a uma redução do conteúdo de água de equilíbrio, como consequência do aumento da hidrofobicidade. Por isso os ésteres de celulosas em especialmente o acetato de celulose, são comumente usados como membranas

no tipo de permeação, além de apresentarem outras características como biocompatibilidade, não toxicidade, custo relativamente baixo e excelente resistência mecânica (KHOSHNEVISAN et al., 2018; PANG et al., 2019).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

Os materiais que serão utilizados durante o desenvolvimento do projeto estão descritos abaixo:

- a) acetona, Neon®, Brasil;
- b) acetonitrila, Êxodo Científica®, Brasil;
- c) ácido acético, Neon®, Brasil;
- d) ácido clorídrico P.A, Vetec®, Brasil;
- e) ácido sulfúrico, Neon®, Brasil;
- f) ácido nítrico, Neon®, Brasil;
- g) *Agave sisalana*, coletada na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Brasil;
- h) água deionizada, Destilador de água Pilsen®, modelo SP5L, Brasil;
- i) álcool etílico P.A, Neon®, Brasil;
- j) álcool polivinílico, Vetec Química Fina, Sigma-Aldrich®, Brasil;
- k) anidrido acético, Neon®, Brasil;
- l) clorito de sódio, Sigma-Aldrich®, Brasil;
- m) biftalato de potássio, Neon®, Brasil;
- n) diclorometano, Neon®, Brasil;
- o) fenolftaleína, Vetec® Química Fina
- p) hidróxido de sódio em micro pérola, Neon®, Brasil;
- q) hidróxido de potássio monobásico anidro 98%, Neon®, Brasil;
- r) lauril sulfato de sódio, Sol-Tech®, Brasil;
- s) sinvastatina, Fragon®, Brasil;

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Obtenção de *Agave sisalana*

4.2.1.1 *Matéria prima vegetal*

Amostras de *Agave sisalana* Perrine foram coletadas no município de Monteiro-PB na fazenda experimental da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), com latitude de 7° 52' 40,50" e longitude 37° 07' 34,91".

As folhas da planta foram devidamente lavadas com água corrente, seccionadas e desidratadas em estufa de circulação de ar, sob temperatura controlada de 60 °C por 12 dias, até obter peso constante. Em seguida, o material foi triturado em moinho de facas com quatro navalhas fixas e quatro móveis, acoplado a uma peneira de malha 20 mm de diâmetro.

4.2.1.2 *Purificação de Agave sisalana* Perrine

A metodologia utilizada para purificação de *Agave sisalana* bruta foi o método etanol/ácido nítrico modificado, descrito por Rodrigues-Filho et al. (2007) e se baseia na oxidação da lignina pelo ácido nítrico. Utilizou-se 40 g de *Agave sisalana* colocada em refluxo com 3 porções sucessivas de uma mistura 20% v/v de ácido nítrico e etanol. A cada hora a mistura reacional foi trocada e o material lavado com água destilada. Após 3 horas de refluxo a mistura foi filtrada e lavada com água destilada até que a solução da lavagem esteja incolor. Em seguida, o material foi colocado em uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) 1 mol/L, por 24 horas. Após este período a mistura foi novamente lavada e neutralizada com uma solução de ácido acético 10%. As fibras de *Agave sisalana* foram colocadas para secar em estufa a 105 °C, durante 3 horas. Depois de seco, o material foi triturado em moinho de facas.

4.2.1.3 *Obtenção da holocelulose*

A holocelulose é o produto resultante da extração da lignina e é constituída por celulose e hemiceluloses. Este processo de deslignificação utiliza o clorito de sódio e está baseado na reação entre lignina e ClO₂, ClO⁻, produtos estes formados em reações redox de ClO₂⁻ em meio ácido. As reações entre a lignina e ClO₂ são exclusivamente oxidativas segundo a reação 1 (REYES; PERALTA-ZAMORA; DURAN, 1998; RODRIGUES-FILHO et al., 2007):



O procedimento para obtenção da holocelulose foi realizado utilizando-se 5,0 g de *Agave sisalana* bruta colocadas em um balão e adicionado 100 mL de água destilada. O balão foi colocado em banho-maria a 75 °C e adicionado 2,0 mL de ácido acético e 3,0 g de clorito de sódio (o balão foi mantido hermeticamente fechado para evitar a perda do gás produzido na reação). Após 1 hora, foi adicionado novamente 2,0 mL de ácido acético e 3,0 g de clorito de sódio. Esse processo foi repetido por mais duas vezes. A mistura foi resfriada a 10 °C, filtrada em funil de placa porosa, previamente tarado e lavada com água destilada a 5 °C, até que o resíduo fibroso apresente coloração esbranquiçada. O funil com o resíduo fibroso foi seco em estufa a 105 °C por 6 horas, resfriado em dessecador e pesado para se quantificar o rendimento da holocelulose (LIMA et al., 2007; RODRIGUES-FILHO et al., 2007).

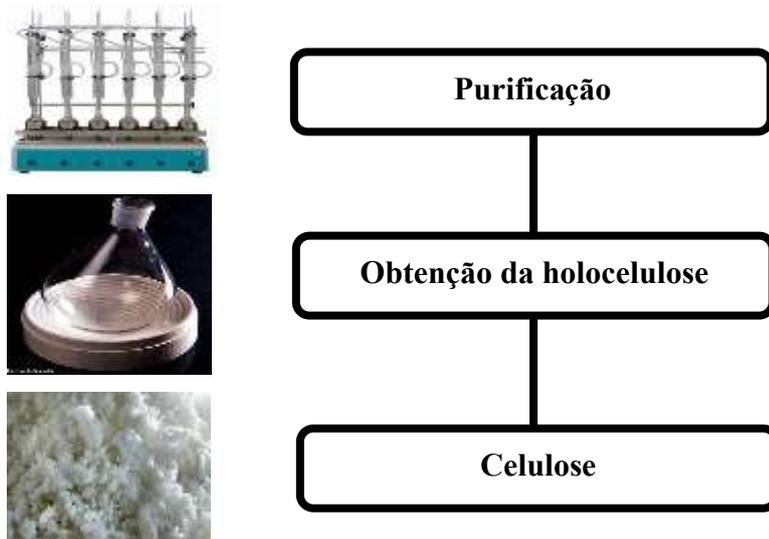
4.2.1.4 *Obtenção da celulose*

A celulose distingue-se quimicamente das hemiceluloses pela sua insolubilidade em soluções alcalinas aquosas, o esquema de obtenção está presente na figura 8. A extração sucessiva da holocelulose (preparada pelo método do clorito ácido) com hidróxido de potássio 5 e 24% resulta em valores que, somados, representam a fração de hemiceluloses. Assim, a fração de hemiceluloses solubilizada pelo hidróxido de potássio 5% é designada hemicelulose A, a fração solubilizada pelo hidróxido de potássio (KOH) 24% é designada hemicelulose B e o resíduo fibroso após as duas extrações é designado celulose. (MORAIS; NASCIMENTO, 2005). O procedimento para obtenção da quantidade de celulose foi transferido 3,0 g de holocelulose para um erlenmeyer de 250 mL e adicionado 100 mL de solução de KOH (5%), sob uma atmosfera inerte pela passagem de gás nitrogênio, durante os cinco minutos iniciais da extração para evitar a oxidação da celulose. O erlenmeyer foi vedado e mantido em agitação constante por 2 horas. A mistura foi filtrada em funil de placa porosa, lavada com 50 mL de solução de KOH (5%) e, em seguida, com 100 mL de água destilada. O filtrado foi recolhido em um erlenmeyer de 1 L e precipitado com uma solução de partes iguais de ácido acético e etanol (completando-se o volume do erlenmeyer), obtendo-se assim a hemicelulose A (LIMA et al., 2007).

Para a obtenção da hemicelulose B, o resíduo fibroso retido no funil foi transferido novamente para o erlenmeyer de 250 mL. O mesmo procedimento para a obtenção da hemicelulose A foi repetido utilizando solução de KOH (24 %). Para lavagem do resíduo fibroso retido no funil, foi utilizado 25 mL de solução de KOH (24%), 50 mL de água destilada, 25 mL de ácido acético (10%) e 100 mL de água destilada, respectivamente. O filtrado recolhido em erlenmeyer de 1 L foi precipitado com uma solução de partes iguais de ácido

acético e etanol (completando-se o volume do erlenmeyer), obtendo-se assim a hemicelulose B. Após a extração dos componentes solúveis em soluções aquosas de hidróxido de potássio, o resíduo fibroso foi lavado com água destilada até que o filtrado apresentasse pH neutro. O resíduo foi lavado com 50 mL de acetona, seco a 105 °C e pesado. Esse resíduo foi denominado de celulose (LIMA et al., 2007).

Figura 8 - Esquema de produção da celulose



Fonte: autoria própria

4.2.2 Produção e caracterização do acetato de celulose

4.2.2.1 Acetilação da celulose de *A. sisalana*

A reação de acetilação foi adicionada 25 mL de ácido acético glacial a 1,0 g de celulose do *Agave sisalana* sob agitação. Foi deixado sob agitação de 500 rpm por 30 min em temperatura ambiente de 25 °C. Em seguida, foi adicionada uma solução contendo 0,08 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado em 9,0 mL de ácido acético glacial e ficou sob agitação por 25 min em temperatura ambiente. Após este período, a mistura foi filtrada e ao filtrado foi adicionado 32 mL de anidrido acético. Essa mistura foi agitada com auxílio de um bastão de vidro e retornou ao filtrado, ao frasco inicial com o material. A solução foi agitada a 500 rpm por mais 30 min e deixada em repouso. Após 14 h foi adicionada água destilada ao meio reacional até que não houvesse mais a formação de precipitado. O material foi seco em estufa por 90 min a 105 °C (CERQUEIRA et al., 2009; CERQUEIRA; RODRIGUES-FILHO; MEIRELES, 2007).

4.2.2.2 Determinação do grau de substituição do acetato de celulose

4.2.2.2.1 Via química

A determinação do grau de substituição foi realizada por uma reação de saponificação. Foi adicionado 5,0 mL de hidróxido de sódio 0,25 mol/L e 5 mL de etanol a 0,1 g de acetato de celulose e deixou-se a mistura em repouso. Após 24 h, adicionou-se 10 mL de ácido clorídrico 0,25 mol/L e deixou-se em repouso por mais 30 min, em seguida a solução foi titulada com hidróxido de sódio padronizado com biftalato de potássio, utilizando-se o indicador fenolftaleína. Todo este procedimento foi realizado em triplicata e a determinação do grau de substituição (GS) por via química é baseado na determinação da porcentagem (% m/m) de grupos acetila (GA) que foram substituídos na cadeia celulósica. Ou seja, o GS (Equação 1) é determinado a partir do valor de GA pela equação 2:

$$GS = \frac{162 \times GA}{43 \times 100 - 42 \times GA} 100 \quad (1)$$

Em que GA é calculado a partir da equação 2:

$$GA = \frac{[V_b \times \mu_b - V_a \times \mu_a] 43 \times 100}{mac} \quad (2)$$

onde V_b é a soma do hidróxido de sódio adicionado no procedimento e gasto na titulação, V_a é o volume de ácido clorídrico adicionado, μ_a e μ_b são a molaridade das soluções de ácido clorídrico e hidróxido de sódio, respectivamente e mac é a massa de acetato de sódio utilizada.

4.2.2.2.2 Espectrometria de 1H -RMN

Os espectros de 1H -RMN foram obtidos a partir de soluções do acetato de celulose obtidos a partir da extração de *Agave sisalana* em clorofórmio deuterado na proporção de 20 mg.g⁻¹ (polímero/solvente). Os espectros foram adquiridos à temperatura de 50 °C em um espectrômetro de RMN Varian Unity 500 usando uma sonda de 5 mm e frequência de 500 MHz. Parâmetros de aquisição típicos incluíram um pulso de radiofrequências de 45°, um tempo de repetição interpulsos de 8 segundos e 32000 pontos cobrindo uma largura espectral de 7200 Hz. Análise foi realizada no Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análises – LMCA na Universidade Federal da Paraíba. O valor de grau de substituição obtido pelo método de RMN- 1H foi calculado a partir da razão da área correspondente à ressonância dos hidrogênios dos anéis

glicosídicos (A_{gli}) e aos hidrogênios do grupamento metílicos (A_{CH_3}) de acordo com a equação 3:

$$GS = \frac{7A_{CH_3}}{3A_{gli}} \quad (3)$$

4.2.2.3 *Rendimento do acetato de celulose*

O rendimento de acetato de celulose foi determinado a partir da metodologia proposta por Santos et al. 2016, no qual se pesando o material inicial (*Agave sisalana* Perrine triturada e tamisada) e o produto final correspondente ao acetato de celulose purificado. Foi utilizada para isso balança analítica.

A equação 4 abaixo foi usada para o cálculo do rendimento do acetato de celulose:

$$R(\%) = \frac{P_{final}}{P_{inicial}} \times 100 \quad (4)$$

onde:

$R(\%)$ = rendimento em percentual;

P_{final} = Peso final do polímero obtido;

$P_{inicial}$ = Peso inicial de *A. sisalana* triturada e tamisada

4.2.2.4 *Propriedades reológicas do acetato de celulose*

4.2.2.4.1 *Determinação da densidade bruta e de compactação*

Amostras de 2 g de acetato de celulose foram colocadas em proveta de 25 mL e foi realizado aferição do volume ocupado pelo pó (V_0). A densidade de compactação foi estabelecida submetendo-se o pó acondicionado na proveta a 1250 quedas. As leituras dos volumes foram feitas antes do ensaio (V_0) e ao fim de 10 (V_{10}), 500 (V_{500}) e 1250 (V_{1250}) quedas e a densidade bruta e de compactação foram determinadas de acordo com as equações 5 e 6, respectivamente (FOSTER; LEATHERMAN, 1995; OLIVEIRA et al., 2010):

$$db = \frac{m}{V_0} \quad (5)$$

$$dc = \frac{m}{V_{1250}} \quad (6)$$

onde:

m = massa da amostra (g)

db = densidade bruta (g/mL)

dc = densidade de compactação (g/mL)

4.2.2.4.2 Determinação do fator de Hausner

O fator foi estabelecido por Hausner (1967) através do quociente entre as densidades de compactação e bruta do sistema particulado baseada na equação 7:

$$FH = \frac{dc}{db} \quad (7)$$

onde:

FH = fator de Hausner;

db = densidade bruta (g/mL);

dc = densidade de compactação (g/mL).

4.2.2.4.3 Determinação do índice de compressibilidade (índice de Carr)

O índice de compressibilidade foi estabelecido a partir das densidades bruta e de compactação através da equação 8 (CARR, 1965):

$$IC = \frac{dc - db}{db} \cdot 100 \quad (8)$$

onde:

IC = índice de compressibilidade ou índice de Carr;

dc = densidade de compactação;

db = densidade bruta.

4.2.2.4.4 Determinação da compactabilidade

A compactabilidade foi calculada através da diferença entre os volumes após 10 e 500 quedas em volume de compactação, utilizando-se aproximadamente 10 g; os resultados foram extrapolados para massa de 100 g, obtendo-se os volumes após 10 e 500 quedas e utilizados na equação 9 (GUYOT et al., 1995):

$$C = V10 - V500 \quad (9)$$

onde:

C = índice de compactabilidade;

V₁₀ = volume após 10 quedas;

V₅₀₀ = volume após 500 quedas.

4.2.2.4.5 Ângulo de repouso

O ângulo de repouso foi estabelecido após o escoamento de 9,0 g das partículas de acetato de celulose através de funil com suporte, colocado a uma altura da bancada de 7,0 cm. Realizou-se o cálculo de acordo com a equação 10 (FOSTER; LEATHERMAN, 1995; OLIVEIRA et al., 2010):

$$\operatorname{tg} \alpha = \frac{h}{r} \quad (10)$$

onde:

tgα = tangente do ângulo de repouso;

h = altura do cone formado (cm);

r = raio do cone (cm).

4.2.2.5 Identificação do acetato de celulose

Foram realizadas técnicas de morfologia através da microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura (MEV), análise térmica através do DSC e TGA, identificação dos principais grupos funcionais pela análise de espectroscopia no infravermelho por transformação de Fourier (FT-IR) e a cristalinidade foi admitida usando DRX. Todas essas análises foram devidamente desenvolvidas de acordo com os tópicos 4.2.3.3, 4.2.3.5, 4.2.3.6, 4.2.3.7, 4.2.3.8.

4.2.3 Produção e caracterização das micropartículas de acetato de celulose/sinvastatina pelo método de evaporação do solvente

4.2.3.1 Produção das micropartículas

A incorporação da sinvastatina no polímero acetato de celulose foi feita através de uma adaptação do método de emulsificação/evaporação de solvente. No qual, o polímero foi dissolvido em um solvente imiscível em água e o fármaco foi disperso ou dissolvido na solução polimérica.

A sinvastatina (0,01 g) foi dissolvida em uma solução de 0,10 g de acetato de celulose em 15 mL de diclorometano, para produção de partículas com concentração 10:1 m/m (acetato: sinvastatina). A fase orgânica esteve sob vigorosa agitação para formação da emulsão O/A solução acetato/sinvastatina/diclorometano, foi adicionada gota a gota sob vigorosa agitação (4000 rpm) a 100 mL de uma solução aquosa, contendo 1,5 % de álcool polivinílico (PVA), pois se trata de um tensoativo não iônico que proporciona a formação desse tipo de sistema emulsionado. O diclorometano (DCM) foi eliminado por evaporação através do *spray dryer* de bancada, modelo MSD 0,5 (LABMAQ®, Ribeirão Preto, SP, Brasil) com bico atomizador de 0,5 mm de diâmetro e vazão máxima de 0,5 L/h, com medidas de condições ótimas do sistema, a 120 °C do ar de secagem, fluxo de ar comprimido de 40 L/min, fluxo de ar de secagem de 3,5 m³/min e vazão de alimentação de 0,5 L/h (FREITAS, MERKLE; GANDER, 2005; SALAÜN et al., 2010).

4.2.3.2 Determinação do rendimento da micropartícula

O rendimento foi calculado como sendo a razão entre a massa seca obtida de micropartículas e a soma dos componentes não voláteis utilizados na sua composição de acordo com a equação 11:

$$\text{Rendimento(\%)} = \frac{P(Mp)}{P(DS) + P(PVA) + P(TC)} \cdot 100 \quad (11)$$

onde:

P(Mp) = Peso das micropartículas;

P(DS) = Peso da sinvastatina;

P(PVA) = Peso do álcool polivinílico

P(TC) = Peso do acetato de celulose.

4.2.3.3 Análise morfológica das micropartículas de acetato de celulose.

Utilizou-se MEV e microscópio óptico no aumento de 140 e 1400x para avaliar a morfologia externa e a polidispersão. Para análise no MEV as amostras foram espalhadas sobre porta-espécimes metálicas (*stubs*) com fita adesiva dupla face de carbono, revestidas por pulverização catódica com ouro por 3 minutos, usando um dispositivo de revestimento a vácuo (Emitech k550x, Ashford, Inglaterra). Em seguida, foram observadas com o microscópio eletrônico de varredura Zeiss® (modelo LEO 1430) a 15 kV, ao qual foi executada no Laboratório de Solidificação Rápida na Universidade Federal da Paraíba - UFPB. Já para

observação em microscópio óptico, foram adicionadas em uma lâmina de vidro e foi analisada a morfologia das mesmas em microscópio óptico digital Hirox[®] KH7700 nos aumentos de 140 vezes e 1400 vezes realizada no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO) da UEPB.

4.2.3.4 *Determinação do Potencial Zeta (ζmV), índice de polidispersividade e tamanho das micropartículas com e sem a sinvastatina*

Espectroscopia de correlação de fótons e espalhamento de luz eletroforético foram usadas para determinar o tamanho médio das micropartículas, índice de polidispersão (PDI) e potencial zeta com Zetasizer (Instrumento ZetaPals da Brookhaven, New York) localizado no CERTBIO da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG. Antes da análise, as micropartículas foram adequadamente diluídas com água deionizada na proporção de 1:1 com temperatura constante de 25°C.

4.2.3.5 *Termogravimetria (TGA)*

As curvas TGA dos sistemas com e sem sinvastatina e de seus componentes foram obtidas através de termobalanças modelo SDT Q600 da TA Instruments, EUA sob fluxo de nitrogênio (100 mL/min), razão de aquecimento de 10 °C/min, faixa de temperatura entre 25 – 900 °C, utilizando 4 mg previamente pesadas em cadinho de alumina realizadas no CERTBIO da UEPB.

4.2.3.6 *Calorimetria exploratória diferencial (DSC)*

As curvas DSC foram obtidas em um módulo Calorimétrico Exploratório Diferencial, modelo Q20 (TA[®] - Instruments, New Castle, Delaware, EUA). Foram utilizadas amostras de 2,00 ± 0,05 mg acondicionadas em cadinho de alumínio hermeticamente fechado, analisados em atmosfera dinâmica de nitrogênio com fluxo de 50 mL/min com razão de aquecimento 10 °C/min, com temperatura de 25-300 °C. As análises foram realizadas no CERTBIO da UEPB. A determinação da pureza foi determinada baseada na equação de van't Hoff como descrita abaixo:

$$TS = T_0 - \frac{RT_0^2 \chi}{\Delta H} \frac{1}{F} \quad (12)$$

Na qual: TS é a temperatura observada da amostra; T₀ é a temperatura de fusão da amostra pura (100%); χ é a fração molar das impurezas; ΔH é o calor de fusão da amostra pura,

e F é fração de material fundido, que é determinada através da medida das áreas parciais do pico de fusão experimental

4.2.3.7 Análise de difração de raios X das micropartículas com e sem a sinvastatina

As propriedades estruturais das micropartículas com e sem a sinvastatina e dos seus componentes foram caracterizadas utilizando um Difratorômetro de raios-X, modelo XRD-6000 (Shimadzu® Kyoto, Japão). As amostras foram analisadas na faixa de $10^\circ < 2\theta < 80^\circ$ sistema θ - 2θ , utilizando-se radiação de Cu ($k\alpha_1$) com varredura no passo de 0,02 (2θ), com intervalo de 0,6 segundo para cada amostra. As análises foram realizadas no CERTBIO da UFCG.

4.2.3.8 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

Esta análise foi realizada utilizando um espectrômetro Spectrum TM 400 FT-IR/FT-NIR (Perkin Elmer®, Boston, Massachusetts, EUA) processadas em pastilha de KBr com resolução de 4 cm^{-1} , velocidade de varredura de $0,2\text{ cm}^{-1}$ e varredura de $4000\text{ a }650\text{ cm}^{-1}$ para as micropartículas com e sem o fármaco e para os seus componentes separadamente. As análises foram realizadas no CERTBIO da UFCG.

4.2.3.9 Avaliação cinética de liberação do fármaco a partir do sistema

4.2.3.9.1 Validação do método analítico para a quantificação da sinvastatina

A validação da metodologia analítica desenvolvida para análise da sinvastatina seguiu conforme a resolução N° 166, de 24 de julho de 2017 da ANVISA, que dispõe sobre o Guia de Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos (BRASIL, 2017).

Para análise de quantificação foi utilizado um espectrofotômetro ultravioleta visível - UV/VIS (Shimadzu® UV-1900, Japão) realizadas no Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF) na Universidade Estadual da Paraíba. Os parâmetros avaliados foram à linearidade, seletividade, precisão, limite de detecção e quantificação, exatidão e robustez.

4.2.3.9.1.1 Identificação e quantificação da sinvastatina

Para determinação do comprimento de onda de detecção da sinvastatina foram realizadas leituras da solução do fármaco em lauril sulfato de sódio a 0,5%, na faixa de comprimento de onda de 190 a 400 nm. O ensaio foi realizado tendo como base o método de quantificação da sinvastatina, proposto pela Farmacopeia Brasileira 6ª edição e o comprimento

de onda de maior absorvância foi utilizado para quantificação da sinvastatina nos outros parâmetros (BRASIL, 2017).

4.2.3.9.1.2 Seletividade

A seletividade do método foi avaliada pela comparação das curvas espectrais obtidas pelas diluições em lauril sulfato de sódio a 0,5% dos sistemas poliméricos desenvolvidos com fármaco e do sistema sem o fármaco (branco) e do perfil espectral da sinvastatina.

4.2.3.9.1.3 Linearidade

Para a construção da curva analítica foi preparada uma solução estoque de 200 µg/mL, a partir da qual, por meio de diluições seriadas, foram obtidas 10 concentrações distintas (3; 6; 9; 12; 15; 18; 21; 24; 27; 30 µg/mL).

4.2.3.9.1.4 Exatidão

A exatidão do método foi determinada avaliando três diferentes níveis de concentração: baixo (3 µg/mL), médio (15 µg/mL) e alto (30 µg/mL) em triplicata e expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica, como demonstrado na equação abaixo:

$$\text{Exatidão} = \frac{\text{Concentração média experimental}}{\text{Concentração teórica}} \times 100 \quad (13)$$

4.2.3.9.1.5 Precisão

A precisão foi determinada em sextuplicata na concentração do ponto médio da curva (15 µg/mL). , a qual foi obtida pela análise de uma mesma amostra, no mesmo laboratório, realizada por operadores distintos e analisadas em dias diferentes, sendo representada em coeficiente de variação expressa em porcentagem (CV%), com nível de significância inferior a 5%, conforme a resolução 166/2017.

4.2.3.9.1.6 Robustez

Para avaliação da robustez foram realizadas a análise em triplicata da solução da sinvastatina em lauril sulfato de sódio (0,5%) foi avaliada em triplicata na concentração do ponto médio (15 µg/mL), em uma solução com pH acidificado para 1,4 e 7,4.

4.2.3.9.1.7 Limite de Detecção (LD)

O LD foi obtido a partir da divisão do desvio padrão (DP) com o coeficiente linear das curvas de calibração do ensaio de linearidade, expressa em triplicata, pela média da inclinação da curva (IC) de calibração das mesmas, conforme a equação 14:

$$LD = \frac{3,3 \times \sigma}{IC} \quad (14)$$

4.2.3.9.1.8 Limite de Quantificação (LQ)

O LQ foi determinado de forma semelhante ao LD, porém, multiplicando-se os valores por 10, conforme a equação 15.

$$LQ = \frac{10 \times \sigma}{IC} \quad (15)$$

4.2.3.9.2 Eficiência de encapsulação

A quantidade de fármaco encapsulado foi determinada por espectroscopia UV-VIS (Shimadzu® UV-1900, Japão). Cerca de 2 mg de micropartículas foram dissolvidas em lauril sulfato de sódio a 0,5% de modo a obter soluções de concentrações de 1 mg/mL e centrifugadas (Centrífuga Hettich® – MIKRO 220 R, Alemanha) a 11.000 rpm durante 30 min. Ao final da centrifugação, alíquotas do sobrenadante foram removidas e analisadas com leituras em triplicata pelo espectrofotômetro UV-VIS a um comprimento de onda λ de 238 nm que representará a quantidade de SINV livre presente, de modo a obter soluções com concentrações teórica de 15 μ g/mL. A concentração total do fármaco por sua vez ocorreu pela completa pulverização das micropartículas em um grau e pistilo, por cerca de 10 min, todo o procedimento foi realizado em triplicata. Por conseguinte, a quantidade de fármaco encapsulada foi determinada pela diferença entre as concentrações do fármaco total e livre. E a eficiência de encapsulação (EE%) foi realizada utilizando a seguinte equação:

$$EE \% = \frac{\text{Quantidade de fármaco encapsulado}}{\text{Quantidade total do fármaco}} \times 100 \quad (16)$$

4.2.3.9.3 Liberação *in vitro* das micropartículas

O comportamento da liberação *in vitro* das micropartículas foi avaliada usando a técnica de saco de diálise, simulando o fluido gástrico (pH 1,2) e fluido intestinal (pH 6,8) como meio de liberação. Formulação equivalente a 3 mg de sinvastatina foi adicionado em uma membrana de diálise com peso de corte molecular de 12 000 Da (Sigma-Aldrich®, USA). A

membrana de diálise foi imersa em 100 mL do meio mantidos a $37 \pm 0,5$ ° C e agitado constantemente a 100 rpm (Lauril sulfato de sódio (0,5% p/v) em Shaker (Incubadora Tecnal TE-420, São Paulo) adicionado no meio para liberar a sinvastatina mantendo as condições sink. Foram retiradas amostras no meio de liberação em intervalos de tempo predeterminados por 72h, o meio de liberação foi imediatamente substituído por o mesmo volume, para manter o volume constante após a remoção da amostra. As amostras coletadas foram analisadas quanto ao conteúdo de sinvastatina liberada usando o espectrofotômetro UV-VIS (Shimadzu® UV-1900, Japão) a 238nm.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 EXTRAÇÃO DA CELULOSE E ACETATO DE CELULOSE A PARTIR DO *Agave sisalana* PERRINE.

O rendimento do processo de extração da celulose a partir da droga vegetal foi de $19,0432 \pm 1,3475\%$. De acordo com os estudos publicados foi utilizado metodologias diferentes na extração do polímero para determinar o teor de celulose, entretanto o método obteve valor relativamente próximo ao teor de celulose estimado aos percentuais obtidos para resíduos agrícolas que possuem em média 20 a 60% de celulose (BENDJEFFAL et al., 2018; KASCHUK; LACERDA; FROLLINI, 2019).

O acetato de celulose (ACT) foi sintetizado a partir celulose extraída de *Agave sisalana*, utilizando-se o ácido sulfúrico como catalisador da reação como citado anteriormente. O rendimento da reação de acetilação foi estimado em $83,0631 \pm 3,9\%$. Este valor é superior ao rendimento de 76% escrito por Amaral et al. (2019), no qual utilizou a mesma metodologia de síntese, obtido a partir da celulose do endocarpo do coco de babaçu. Como também, mais expressivo que o rendimento de 74% p/p relatado por Goswami e Das (2019) que utilizaram outro tipo de catalisador na reação, cloreto de zinco, para o obter o acetato de celulose a partir da celulose proveniente de *Alpinia nigra*, uma erva pertencente à família do gengibre.

Nas fotografias como registrados na figura 9 pode-se observar o processo de branqueamento e purificação. De “A” para “B”, ocorreu a retirada das frações solúveis em uma mistura etanol/ácido nítrico (80/20 v/v) mantendo o resíduo em contato com solução de NaOH; de “B” para “C”, eliminou-se as ligninas insolúveis em ácido por uma reação que utiliza clorito de sódio e ácido acético; de “C” para “D” ocorre a separação das frações componentes da holocelulose (celulose – hemicelulose), de “D” para “E” ocorreu o processo de acetilação da celulose por meio da utilização de ácido acético.

Figura 9 – Processamento tecnológico da droga vegetal ao acetato de celulose.



Fotografias: A- droga vegetal, B- droga vegetal livre de extrativos (purificada), C- holocelulose, D- celulose e E – acetato de celulose

5.2 DETERMINAÇÃO DAS PROPRIEDADES DE FLUXO

Através das análises, a qual é mostrada na tabela 1, para determinar a facilidade e/ou a resistência ao fluxo, escoamento, compactação e compressão dos polímeros de celulose e acetato de celulose, foram empregadas como uma forma de auxiliar nas projeções de equipamentos para armazenamento, transporte ou manipulação geral destes sólidos e sua utilização como excipientes farmacêuticos.

Tabela 1 – Propriedades de fluxo da celulose e acetato de celulose

Propriedades	Celulose	Acetato de celulose
	Valor ± DP (n=3)	
Densidade aparente (bruta) g/mL	0,10 ± 0,05	0,67 ± 0,02
Densidade compactada (g/mL)	0,14 ± 0,06	0,77 ± 0,03
Índice de compactibilidade (g/mL)	-	50 ± 0,00
Fator de Hausner	0,74 ± 0,03	0,87 ± 0,02
Índice de Carr	35,10 ± 0,07	15,40 ± 0,01
Ângulo de repouso (°)	-	17°

Fonte: dados da pesquisa. *DP: desvio padrão

A densidade de um pó está diretamente ligada a estrutura das partículas e conseqüentemente a capacidade de fluxo e compressão. Porém não há uma escala para determinação dos limites, mesmo assim representa um parâmetro importante na etapa de desenvolvimento de uma formulação. Por isso, através da análise entre os dois polímeros pode-se verificar as diferenças entre as densidades, que comparadas, a celulose acetilada obteve uma densidade maior do que antes de sua acetilação.

Ao observar o índice de compressibilidade, materiais que apresentam índice de compressibilidade entre de 5% a 15% indicam que o pó apresenta excelentes propriedades de fluxo, para valores superiores o material apresenta-se com fracas propriedades de fluxo, desta forma o acetato de celulose pode ser classificado um material de difícil compatibilidade (C=50%). Entretanto, estes fatores são utilizados para prever o potencial de compactação/compressão de um pó e não a facilidade de ou velocidade com que o mesmo flui. Para tal, avaliação do ângulo de repouso foi usado.

Através das densidades volumétricas é permitido avaliar o comportamento do fluxo através de métodos empíricos como o fator de Hausner (FH) e o índice de Carr (IC). Em consideração para o FH usado para avaliar indiretamente a coesividade dos pós, o acetato de celulose ($FH=0,87 \pm 0,2$) como a celulose ($0,74 \pm 0,03$) mostrou-se material de boa fluidez, visto que, valores de $FH > 1,5$ são classificados como coesivos e inferiores a 1,25 são considerados material de boa fluidez.

Já o IC, permite classificar o acetato de celulose como um material com um bom fluxo ($IC=15,40 \pm 0,01$) e para celulose ($35,10 \pm 0,07$) como fluxo pobre, pois de acordo com Garcia; Pereira e Dias, (2012) valores de $IC < 10\%$ indicam excelente fluxo; IC de 11 a 15% fluxo bom; IC de 16 a 20% fluxo fraco; IC de 21 a 31% fluxo pobre, por outro lado valores de $IC > 32\%$ são atribuídos com fluxo muito pobre.

A determinação do ângulo de repouso é um parâmetro físico com a finalidade de avaliar diretamente a capacidade de um pó em fluir livremente através de um orifício para uma superfície livre. De acordo com Lu et al. (2018) valores de ângulo de repouso abaixo de 30° indica boa fluidez, $30-45^\circ$ alguma coesividade, $45-55^\circ$ coesividade verdadeira e superior a 55° coesão lenta ou muito alta e fluidez muito limitada. Neste estudo, o ângulo de repouso de acetato de celulose foi de 17° indicando uma boa fluidez do pó.

Os valores das propriedades reológicas da celulose em comparação ao acetato de celulose, como discutido anteriormente, foram atribuídos como materiais cuja fluidez é pobre, não sendo possível calcular o ângulo de repouso, já que, o pó da celulose não teve nenhum tipo de escoamento pelas paredes do funil durante a análise.

Pode-se afirmar, portanto, que durante as modificações químicas após acetilação da celulose, o polímero apresentou uma maior fluidez, proveniente de fatores como morfologia, tamanho e distribuição das partículas, processo produtivo, área e força de superfície que podem ter intervindo no resultado. Por outro lado, essa vantagem após o processo de síntese pode influenciar fortemente a eficiência no processo industrial, pois envolve operações unitárias como mistura, transporte pneumático e alimentação através de funis. Nesse sentido as características de fluxo desse material tornaram-se uma questão relevante para o desenvolvimento de formas farmacêuticas.

5.3 GRAU DE SUBSTITUIÇÃO DO ACETATO DE CELULOSE

5.3.1 Via química

O GS é um parâmetro de extrema importância pois afeta a solubilidade em diferentes tipos de solventes, cristalinidade e biodegradabilidade do polímero. Cada unidade de anidroglicose contém três grupos hidroxilas livres, ligados ao carbono 2, 3 e 6, portanto, materiais com diferentes graus de substituição (GS) podem ser obtidos. O GS é definido como sendo o número médio de grupos hidroxilas, esterificadas com grupos acetilas, por unidade de anidroglicose da celulose; pode variar de zero, para a celulose, até três, no caso de um triacetato de celulose. E a solubilidade do acetato depende do GS dos grupos acetato, por exemplo celulose (GS=0) é insolúvel na maioria dos solventes (S), mas ao se aumentar o GS do acetato de celulose, a solubilidade se altera (GS ~ 1, S: água; GS~2, S: tetraidrofurano ou acetona; GS~3, S: diclorometano ou clorofórmio (CRUZ et al., 2011; LIAKOS et al., 2016)

O acetato de celulose sintetizado a partir da celulose extraída do *Agave sisalana* apresentou um valor de grau de substituição (GS) de $2,72 \pm 0,27$ que se refere ao número de grupos hidroxilas substituídas das unidades anidroglicose por grupos acetila e uma porcentagem de grupos acetil (GA) de $42,26\% \pm 2,54$, valor característico de triacetato de celulose. Como reportado por de Melo Brites et al. (2020) quando o valor de GS encontra-se acima de 2,5 está correlacionado com o triacetato de celulose.

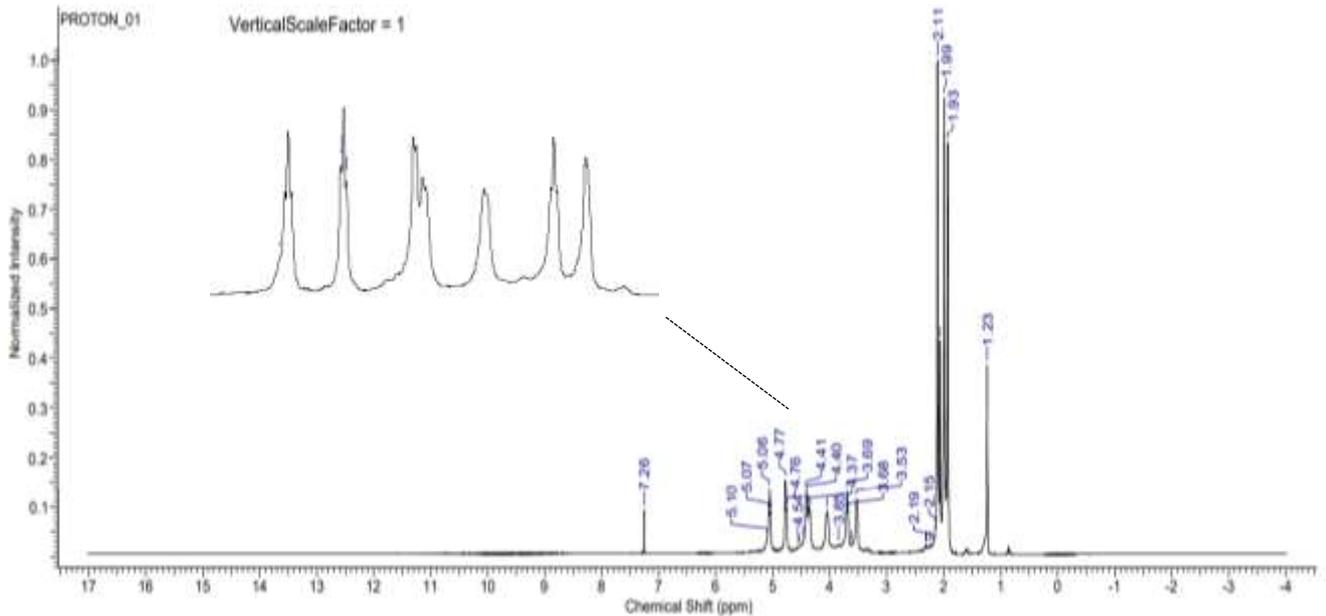
Seu alto valor encontrado deve-se a alta solubilização da lignina e sua remoção eficaz no processo de extração, pois a lignina compete com a celulose pelos reagentes da acetilação e conseqüentemente uma alta quantidade deste composto pode diminuir a capacidade de acetilação da celulose. Durante esse processo de acetilação um dos principais reagentes envolvido no processo é o NaOH, pois este leva ao inchamento das fibras quebrando as ligações intra e intermoleculares, desdobrando a região cristalina da fibra, aumentando a disponibilidade dos grupamentos hidroxilas (OH) da celulose para anidrido acético, quando adicionado durante o processo da reação, melhorando assim a ativação da celulose para o processo de acetilação (CANDIDO; GODOY; GONÇALVES, 2017).

5.3.2 RMN-H

O RMN é uma das técnicas mais utilizadas para determinação da elucidação estrutural de moléculas orgânica, oferecendo informações sobre o número de átomos magneticamente

distintos do isótopo estudado na molécula. Desta forma, o espectro RMN-H para o acetato de celulose é mostrado na figura 10:

Figura 10 – Espectros de RMN-¹H do acetato de celulose



No deslocamento 7,26 ppm evidencia o pico do solvente, na estrutura os átomos de hidrogênio mostram dois grupos de sinais, o de ressonâncias de prótons do anel de glicose (3,53- 5,10 ppm) e a ressonância correspondente aos prótons metílicos do grupo acetato (1,23- 2,19 ppm). A partir dos deslocamentos químicos foi possível calcular GS pelo método de RMN do próton referente a 3,49. Segundo a literatura, este valor revela uma excelente concordância com os valores experimentais, ficando claro que foi formado o triacetato de celulose a partir da celulose de *Agave sisalana* Perrine (EL NEMR et al., 2015; FAN; LIU; LIU, 2010).

5.4 CARACTERIZAÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS

5.4.1 Determinação do rendimento das micropartículas

As micropartículas desenvolvidas a partir do acetato de celulose do *Agave sisalana* pelo método de nebulização por spray-dryer apresentou um rendimento de $21,96 \pm 7,60\%$. Este rendimento deve-se a diferenças cinética de precipitação de droga e do polímero bem como alterações na composição do solvente utilizado, como Edgar (2007) evidencia em seu estudo. Outros fatores podem ter evidenciado a redução do rendimento, como a proporção entre o

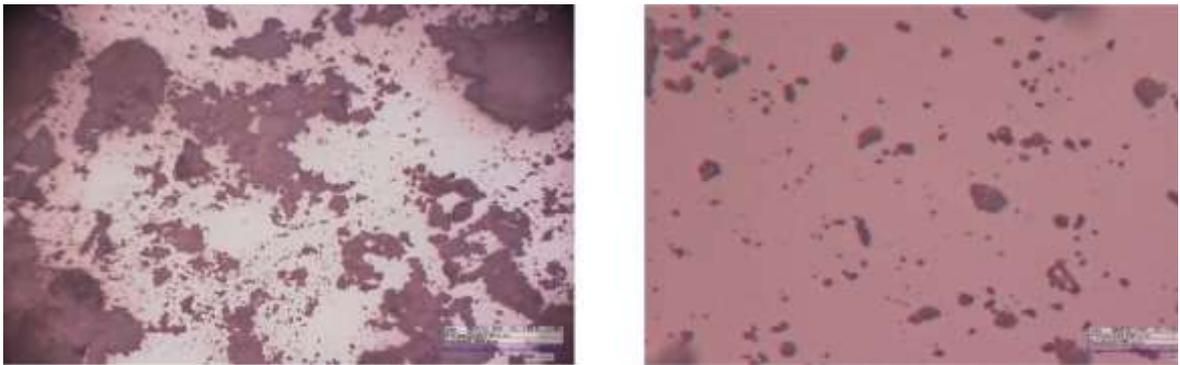
fármaco e o polímero, bem como a perda do material durante o processo de atomização, como já foi reportada no estudo de Jelvehgari et al. (2012).

5.4.2 Morfologia

5.4.2.1 Microscopia óptica

A análise morfológica para o acetato de celulose obtida através da microscopia óptica é mostrada na figura 11. As partículas apresentaram forma e tamanhos irregulares com rugosidades em sua superfície.

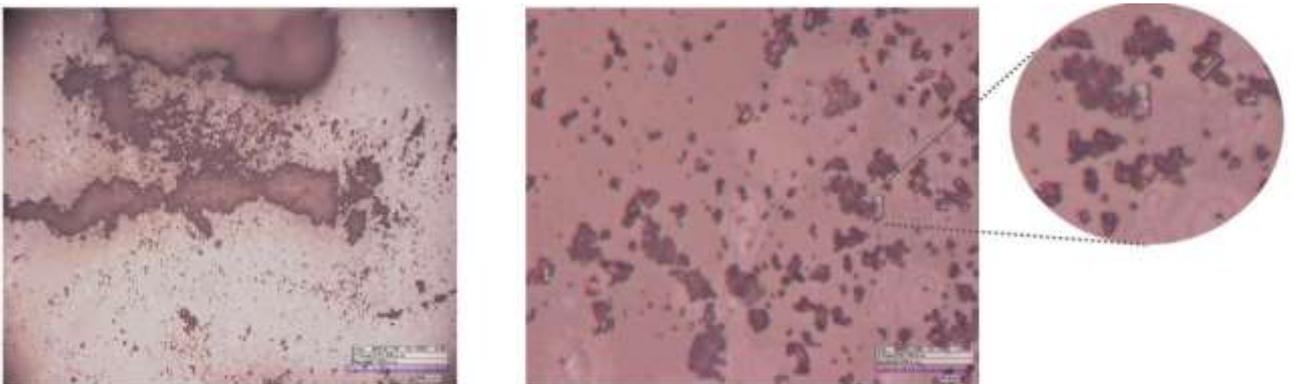
Figura 11 - Fotomicrografias do acetato de celulose obtidas através do microscópio óptico.



Fonte: dados da pesquisa. Ampliações de 140X e 1400X

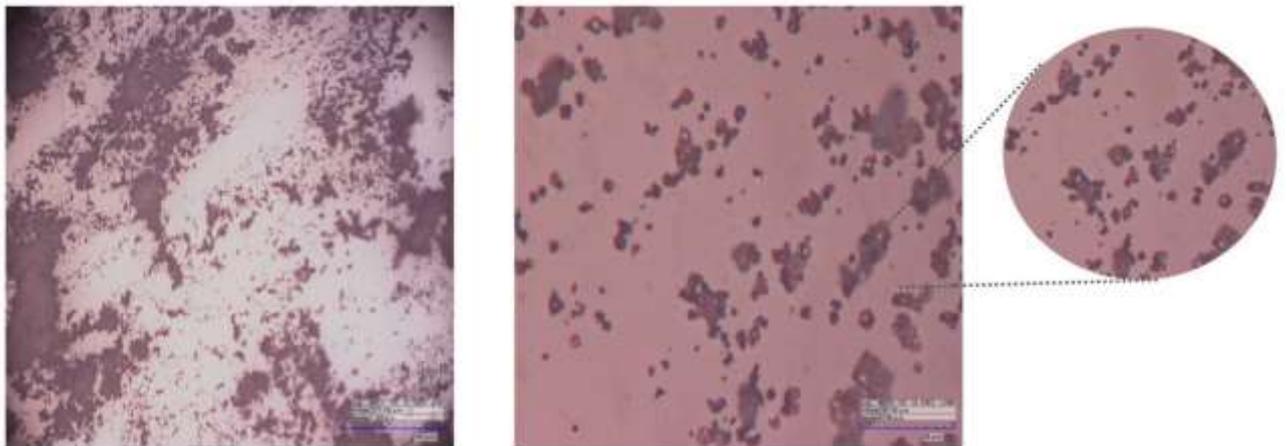
A fotomicrografia da sinvastatina como mostrado na figura 12 confirmaram que o fármaco possui forma irregular e cristalina, o que difere das micropartículas sem fármaco (MPSF) e das micropartículas com fármaco (MPCF) com formato praticamente amorfo esférico como observadas nas figuras 13 e 14. Este fato sugere que existe uma redução no tamanho de partícula, indicando formação de uma dispersão sólida, como reportado por Ganesan et al. (2015).

Figura 12- Fotomicrografias da sinvastatina obtida através do microscópio óptico.



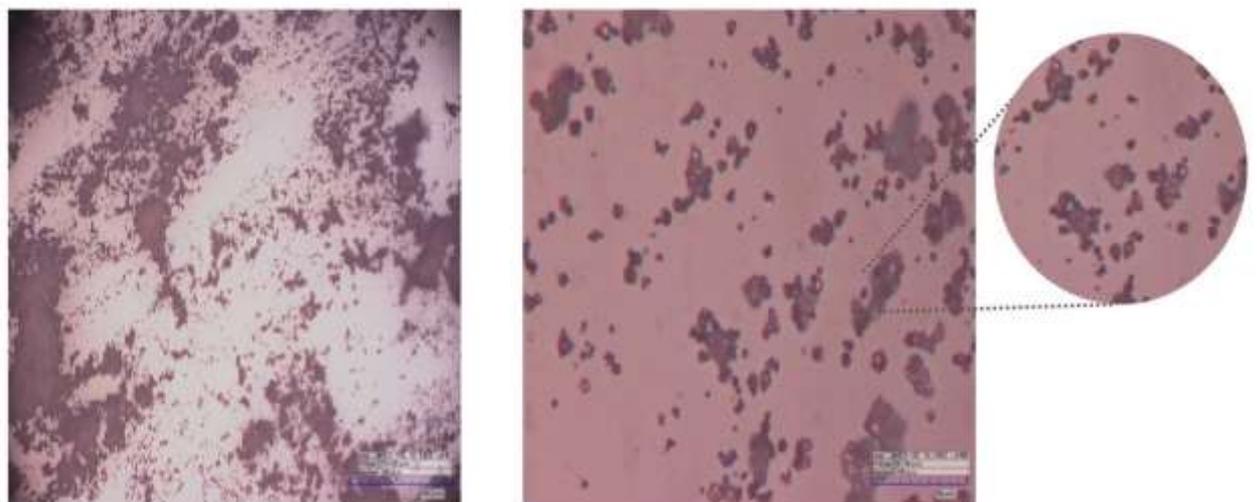
Fonte: dados da pesquisa. Ampliações de 140X e 1400X

Figura 13 - Fotomicrografias das micropartículas sem o fármaco.



Fonte: dados da pesquisa. Ampliações de 140X e 1400X.

Figura 14- Fotomicrografias das micropartículas com o fármaco.



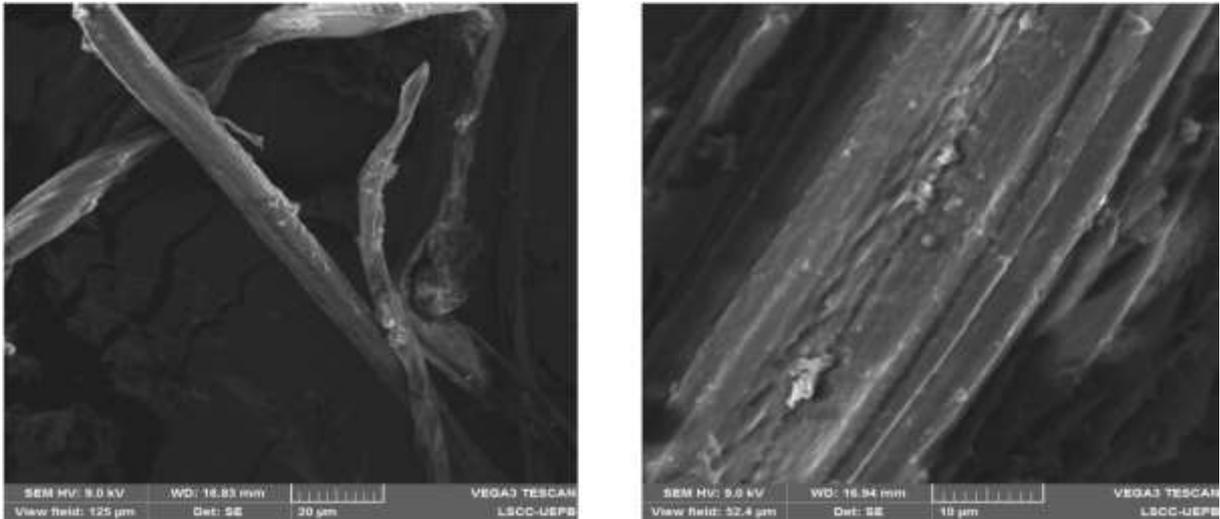
Fonte: dados da pesquisa. Ampliações de 140X e 1400X.

As MPSF e MPCF apresentam-se como pó fino, branco e pouco aderente a superfícies de vidro. As fotomicrografias obtidas através do microscópio óptico, evidenciam que estas apresentam estruturas de formato esférico, na escala micrométrica, em aglomerados que podem ter sido formados durante a secagem, devido ao processo de emulsificação ou pela presença da umidade na amostra (BRASSECO et al., 2019).

5.4.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

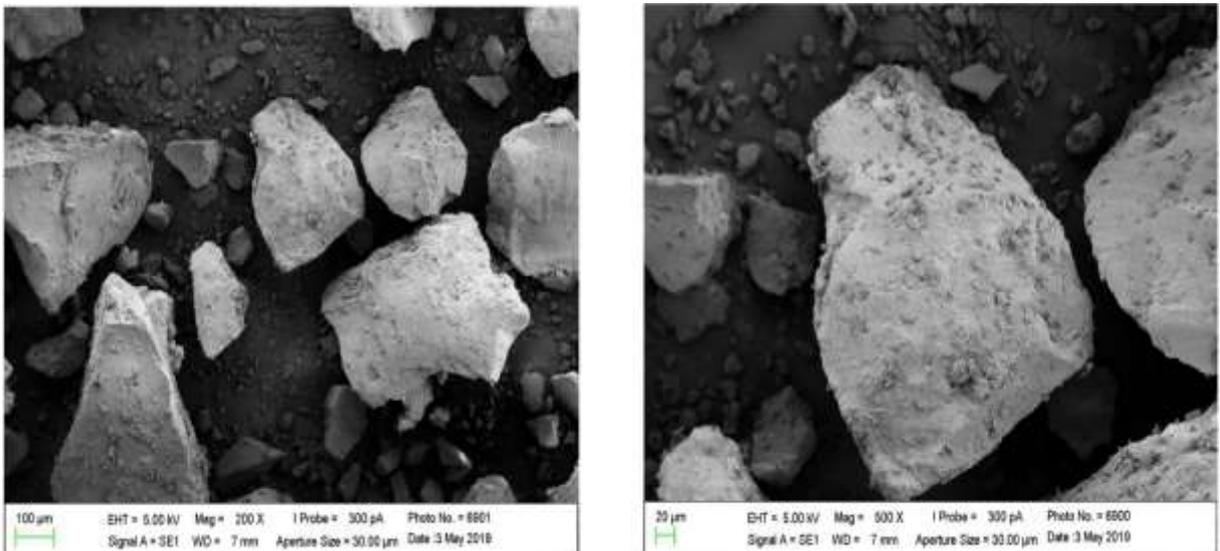
A análise morfológica obtida por meio do MEV permitiu avaliar as amostras em relação a sua morfologia. A imagem obtida da celulose e acetato de celulose está apresentada na figura 15 e 16 respectivamente.

Figura 15– Fotomicrografias da celulose obtidos por MEV.



Fonte: dados da pesquisa. Aumento de 200x e 500x

Figura 16 - Fotomicrografias do acetato de celulose obtidos por MEV.



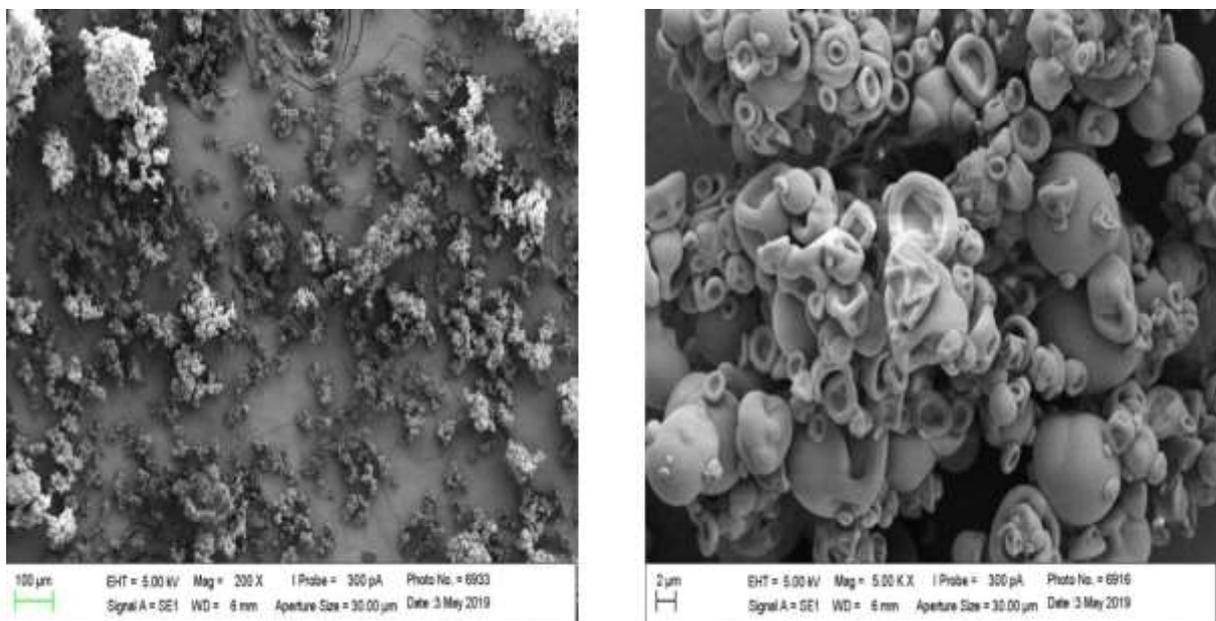
Fonte: dados da pesquisa. Aumento de 200x e 500x.

A imagem da celulose através do MEV difere-se do acetato de celulose por revelar-se com uma estrutura de rede com superfície fibrosa, característico de materiais lignocelulósicos, como reportado na literatura por Melikoglu et al. (2019). Já após sua acetilação é perdido sua

característica fibrosa, aparenta ser estruturalmente lisa, com formas e dimensões irregulares e com rugosidades suaves em sua superfície. Essa mudança morfológica pode ser explicada pela substituição dos grupos hidroxila das unidades de glicose por grupos acetila, que antes do processo de acetilação estavam envolvidas na ligação de hidrogênio inter e intra-molecular, dando origem à estrutura da rede (AMARAL et al., 2019; GOSWAMI; DAS, 2019).

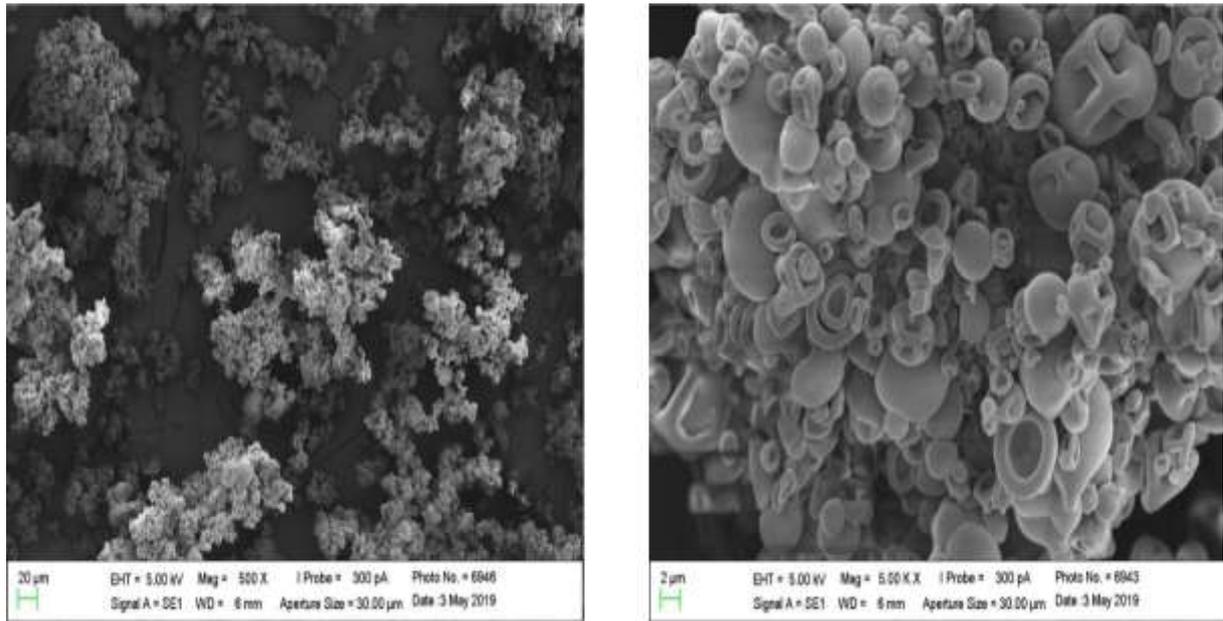
Para as MPSF e as MPCF apresentadas na figura 17 e 18 respectivamente, ambas evidenciam partículas em formato esférico, com superfície aparentemente lisa, com pouca rugosidade e tamanhos variados. O formato esférico facilita o escoamento do material e os tamanhos variados as partículas menores acomodam-se nos interstícios das maiores, facilitando acomodação das partículas (MATOS-JR et al., 2017). Em geral, observa-se que a maioria das partículas são agregadas provavelmente devido aos processos de secagem por spray-dryer ou durante as etapas de emulsificação como relato por (BRASSESCO et al., 2019). Já a presença de deformidades visivelmente presentes em algumas partículas de acordo com Ye, Woo e Selomulya (2019) deve-se a transferência mais rápidas de calor e massa da gota, ou seja, ao processo de secagem mais rápido, que estruturalmente também podem ser observadas em sistemas microparticulados com características semelhantes produzidas por Guerreiro et al. (2019), obtidos pelo mesmo processo de secagem, como também a energia fornecida (fótons de elétrons) do equipamento pode ter promovido uma menor proteção das micropartículas na superfície favorecendo sua deformação.

Figura 17 – Microscopia eletrônica de varredura das micropartículas sem o fármaco



Fonte: dados da pesquisa. Aumento de 500x e 5000

Figura 18 – Microscopia eletrônica de varredura das micropartículas com o fármaco



Fonte: dados da pesquisa. Aumento de 500x e 5000x

5.4.3. Propriedades físico-químicas das micropartículas

As propriedades físico-químicas das micropartículas otimizadas são apresentadas na tabela 2. Como relatado anteriormente o método de secagem por spray-dryer pode não exibir uniformidade no tamanho das partículas, no entanto a média dos diâmetros foi na ordem entre 1842 a 1857 nm, garantindo dessa forma a formação de micropartículas com baixo valor de PDI de 0,278 para as MPCF, expressando uma distribuição de tamanho estreita, ou seja, a maioria das micropartículas estão na mesma faixa de tamanho e a técnica utilizada foi eficiente para produção de partículas de tamanho homogêneo pois valores de $PDI < 0,3$ são geralmente valores ótimos para indicar distribuição homogênea de sistemas microparticulados. O valor do PDI das MPCF houve um ligeiramente aumento em comparação com as MPSF, fenômeno comumente observado após incorporação do fármaco na matriz polimérica (RIZVI et al., 2019; ZHANG et al., 2009).

Tabela 2 – Propriedades físico-químicas das MPSF e MPCF.

Parâmetros	MPSF	MPCF
Tamanho de partícula (nm)	1842,74 ± 4,100	1857,36 ± 1,300
PDI	0,229 ± 0,040	0,278 ± 0,008
Potencial zeta (mV)	-3,79 ± 0,260	-4,45 ± 1,120

Fonte: dados da pesquisa.

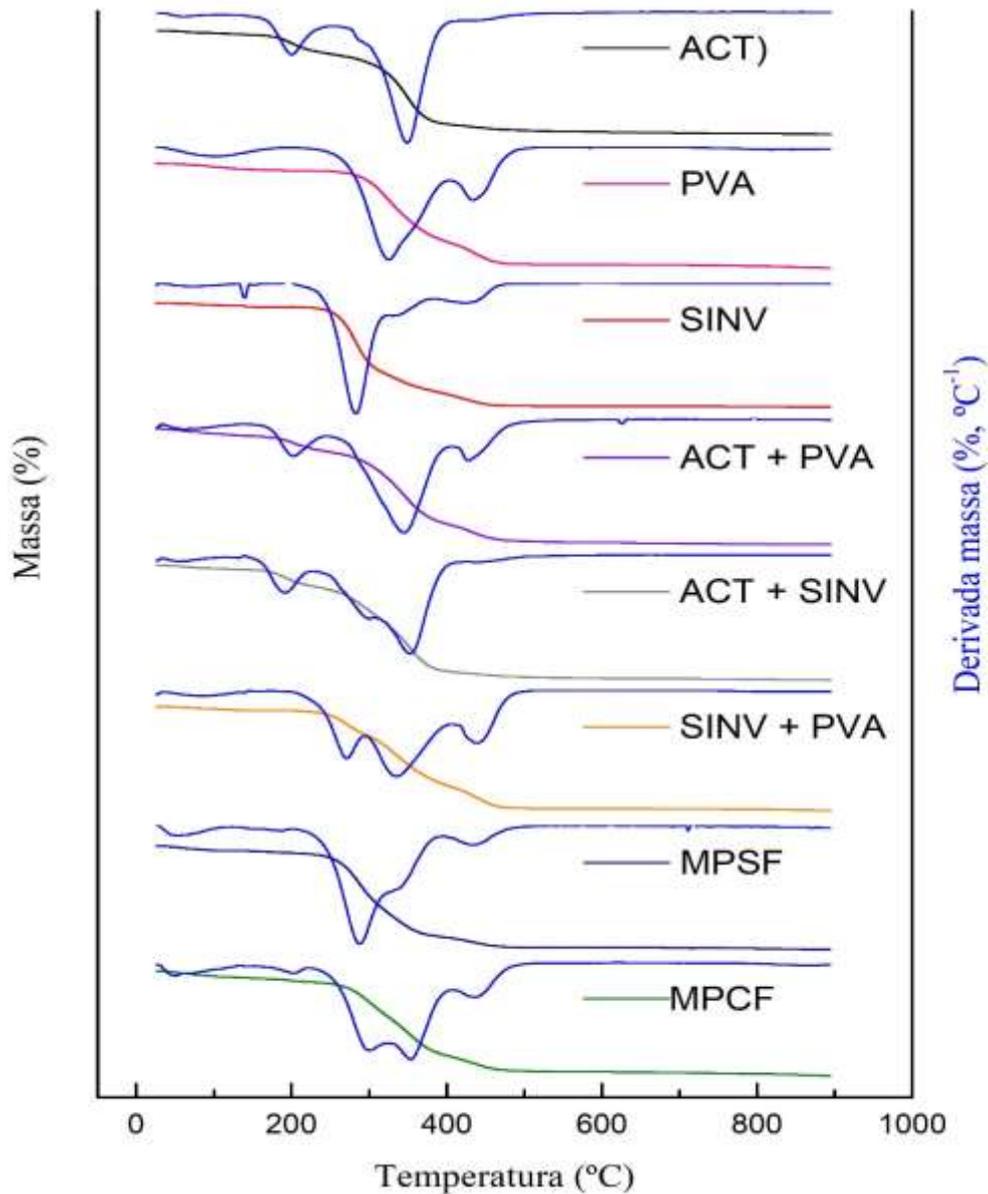
O potencial zeta é a medida da carga superficial líquida e a estabilidade de muitos sistemas coloidais está diretamente relacionada a magnitude do seu potencial zeta. Os valores de potencial zeta próximo ao zero configuram ausência de carga superficial das micropartículas, o que pode levar à agregação das partículas, já valores altos de potencial zeta conferem estabilidade a dispersão coloidais, impedindo a agregação devido à repulsão eletrostática entre partículas com carga semelhante. MPCF mostraram um potencial zeta cerca de -4,45 mV o que não é significativamente diferente da MPSF -3,79 mV. Os valores propõem que o baixo rendimento obtidos pelo método de secagem na obtenção das micropartículas deve-se ao potencial zeta reduzido, por ter uma característica de agregação mesmo antes do processo de secagem, como pode ser observado pela análise morfológica das micropartículas. Como também pode ser elucidado devido as camadas do polímero nas micropartículas deslocarem o plano de cisalhamento para uma distância maior da superfície da partícula levando, portanto, a uma redução do potencial zeta medido (HONARY; ZAHIR, 2013).

5.4.4 Comportamento térmico das micropartículas

5.4.4.1 Termogravimetria (TGA)

A análise termogravimétrica (TGA) é uma análise térmica em que a variação de massa da amostra (perda ou ganho de massa) é determinada como uma função da temperatura e/ou tempo, enquanto a amostra é submetida a uma programação controlada de temperatura e atmosfera. Importante na área farmacêutica pois fornece informações sobre reações de decomposição, oxidação, e de processos físicos como vaporização, sublimação e dessorção. A análise térmica do composto de acetato de celulose, álcool polivinílico, sinvastatina e micropartículas sem e com o fármaco estão apresentados na figura 19 na faixa de temperatura de 25-900 °C e as respectivas temperaturas com a perda de massa estão mostradas na tabela 3. Os resultados obtidos do TGA para o acetato de celulose nas temperaturas entre 31-214°C compreende a faixa média de temperatura atribuída a fase de dessorção de água e evaporação de compostos voláteis com perda de massa de $\Delta m = 4,335\%$. Nas temperaturas de 214 °C-402 °C, representa a maior perda de massa em torno de $\Delta m = 72,182\%$, ao qual está relacionada com a decomposição pirolítica do esqueleto da cadeia polimérica do acetato de celulose e a decomposição das cadeias de lignina e hemiceluloses (GOSWAMI; DAS, 2019). Já nas temperaturas entre 402-605 °C temos a carbonização e degradação do polímero com perda de peso de $\Delta m = 22,485\%$, revelando uma alta estabilidade térmica para o acetato de celulose.

Figura 19 – Curvas de TG das amostras.



Fonte: dados da pesquisa

Por outro lado, para a curva termogravimétrica do PVA ocorre e três etapas de degradação, a primeira etapa corresponde a evaporação da água fisicamente absorvida (39-224 °C, $\Delta m = 6,82\%$), a segunda etapa (224-397 °C, $\Delta m = 70,8\%$) deve-se a desidratação da cadeia molecular do PVA e a terceira etapa (397-560 °C, $\Delta m = 22,35\%$) ocorre as principais cisões da cadeia de PVA. Como foi previsto por (VANJERI et al., 2019).

A decomposição térmica da sinvastatina ocorre em quatro etapas. A primeira etapa ocorre em temperaturas 38-145 °C com uma perda de massa de $\Delta m = 3,61$. A segunda perda de massa ocorre no intervalo de temperatura de 198-330 com perda de massa de $\Delta m = 69,89\%$ decorrente da degradação do fármaco, a terceira etapa ocorre com 330-382°C perda de massa

$\Delta m = 14,15\%$ e a última etapa com perda de massa $\Delta m = 12,25\%$ entre a temperatura de 382-483 °C.

Para a mistura binária do ACT + PVA é composto por quatro etapas de decomposição, iniciando em 31 °C com uma perda de umidade de 6,40%, a perda máxima de peso entre 200 e 400 °C atribuída à degradação de ACT e PVA. Já terceira etapa de peso entre 400 e 500 °C está relacionada ao principal evento de degradação térmica do PVA.

As curvas da mistura de ACT + SINV mostraram decomposição térmica em cinco etapas, o primeiro entre 40-138 °C referente a desidratação, o segundo e o terceiro evento referentes a decomposição térmica e a quarta e a última referente a carbonização da mistura. Não ocorrendo redução da estabilidade térmica da sinvastatina quando em mistura,

A mistura do PVA + SINV foi realizado em quatro etapas, iniciando em 39°C correspondendo a evaporação da água, a segunda entre 181-296 °C com perda de massa $\Delta m = 37,8\%$ comportamento semelhante da sinvastatina e do terceiro estágio entre 296-408 °C com perda de massa de $\Delta m = 37\%$ e a última entre 408-568 °C com perda de massa de $\Delta m = 19,72\%$ decorrentes da degradação do fármaco e das principais cadeias do PVA.

Tendo em vista os eventos relacionados do fármaco e dos polímeros adicionados na formulação, a degradação das MPSF e MPCF foram avaliadas por TGA. A dessorção da água adsorvida, que acontece na faixa de 60-100 °C e o principal evento de perda de massa tem início próximo a 300 °C. Embora sejam qualitativamente semelhantes, as curvas apresentam deslocamentos quantitativos que modificam a estabilidade térmica. O gráfico demonstrou que para as MPSF na faixa de temperatura entre 205-327 °C houve uma perda de massa de $\Delta m = 56,00\%$, já para as MPCF houve uma perda de massa de $\Delta m = 37,15\%$ com uma faixa de temperatura maior de degradação entre 224-326°C. Portanto, a antecipação dos eventos das MPSF pode estar relacionada com maior estabilidade térmica das micropartículas na presença de sinvastatina na formulação em comparação com as MPSF. Devido as formulações obterem uma maior proporção do álcool polivinílico podem ter propiciado os eventos de degradação serem semelhantes ao do polímero.

Tabela 3 – Resultados de decomposição térmica através da análise de termogravimetria.

Amostra	Eventos	Faixa de temperatura (°C)	Massa (%)
Acetato de celulose	1	31-214	4,335
	2	214-402	72,182
	3	402-605	22,485
PVA	1	39-224	6,82
	2	224-397	70,80
	3	397-560	22,35
Sinvastatina	1	38-145	3,61
	2	198-330	69,83
	3	330-382	14,15
	4	382-483	12,25
ACT + PVA	1	31-155	6,40
	2	155-245	12,31
	3	245-408	60,15
	4	408-570	16,45
SINV + ACT	1	40-138	4,04
	2	138-228	14,49
	3	228-309	23,27
	4	309-427	47,68
	5	427-578	8,00
SINV + PVA	1	39-144	4,30
	2	181-296	37,8
	3	296-408	37,0
	4	408-568	19,72
Micropartícula sem fármaco	1	31-121	5,00
	2	121-205	2,47
	3	205-318	56,00
	4	318-398	27,71
	5	398-515	8,76
Micropartícula com fármaco	1	32-134	7,82
	2	134-224	4,52
	3	224-326	37,15
	4	326-408	40,76
	5	408-510	8,75

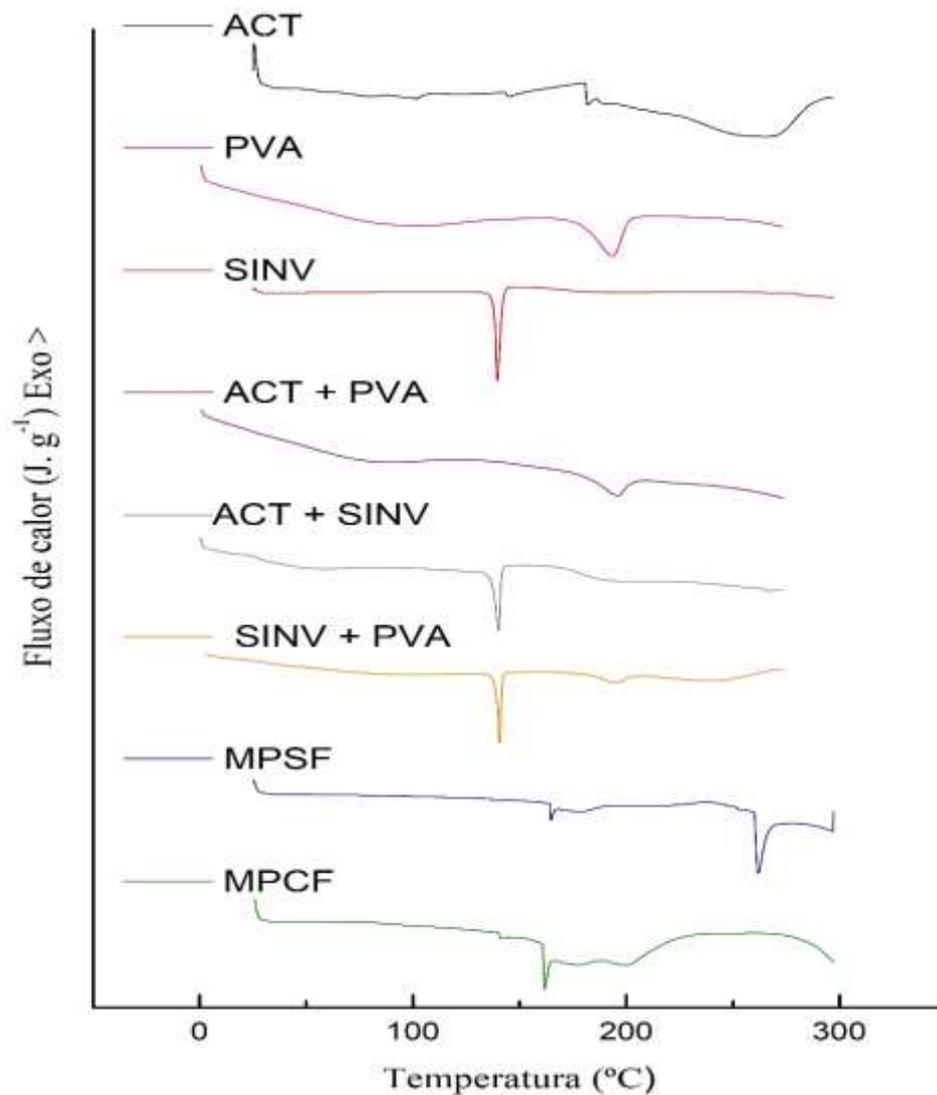
Fonte: dados da pesquisa

5.4.4.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A DSC é utilizada para medir a diferença de fluxo de calor entre uma substância e um material de referência em função de um programa de aquecimento ou resfriamento. Na área

farmacêutica é utilizada na caracterização térmica e determinação da pureza de fármacos, estudos de compatibilidade entre os constituintes da formulação e identificação de polimorfismo com determinação das entalpias de cada forma cristalina. As propriedades térmicas da sinvastatina pura, acetato de celulose e as micropartículas sem e com fármaco foram avaliados por DSC, os gráficos são exibidos na figura 20.

Figura 20 – Curvas de DSC das amostras.



Fonte: dados da pesquisa

A curva de DSC para o acetato de celulose apresenta um evento endotérmico com máxima de 80°C associada a dessorção da água ligada a estrutura do derivado celulósico. Podendo ser atribuído à interação da água com a matriz polimérica. Evento também observado em (CANDIDO et al., 2017). A faixa de temperatura que caracteriza a transição reversível do estado vítreo para o estado maleável sem ocorrência da mudança estrutural, devido a mobilidade

das cadeias da fase amorfa, pode ser observada na temperatura de 181 °C, denominada de temperatura de transição vítrea. O pico exotérmico em 186 °C está associado ao processo de cristalização do polímero. Correlacionando com os dados da análise termogravimétrica um amplo evento endotérmico entre 220-300 °C sugere-se está relacionado ao processo de degradação gradual do polímero.

As medidas de DSC para amostra do PVA, é possível identificar dois eventos endotérmicos, o que acontece em temperatura mais baixa de 98,53°C é característico da desidratação do polímero. Com um pico endotérmico com um máximo em 194,16 °C, sendo este atribuído ao ponto de fusão do PVA semicristalino.

A curva de DSC da sinvastatina pura apresentou um evento endotérmico acentuado em 139,62 °C com valor de entalpia em torno $\Delta H = 49,81$ J/g, característico do ponto de fusão do fármaco cristalino. O Merck Index (2013) preconiza que os cristais de sinvastatina possuem ponto de fusão entre 135-138 °C, já dados da literatura foi caracterizada o DSC com faixa compreendida entre 136-140°C para mesma razão de aquecimento (10 °C/min). Nenhum evento de transição cristalina apareceu e não houve duplicidade de ponto de fusão, descartando a princípio a presença de polimorfos na sinvastatina. Desta forma, a partir dos dados experimentais obtidos, o grau de pureza para a sinvastatina corresponde ao percentual de 99,45%, inferindo-se que a substância analisada tem alto grau de pureza e que a diferença de temperatura pode ser explicada pela razão de aquecimento e equipamento utilizado durante a análise (ANZAR et al., 2018; LU et al., 2019; PARHI; PADILAM, 2018).

Nenhum pico característico da fusão da sinvastatina foi encontrado na curva de DSC obtida a partir da MPCF, sendo semelhantes ao dos polímeros. A ausência da transição de fase possui evidências de que a sinvastatina (SINV) está em seu estado amorfo, sugerindo que o mesmo esteja homogeneamente disperso na matriz polimérica ao nível molecular do sistema (HARISA; BADRAN, 2015). Esses resultados estão de acordo ao encontrado por Webber et al., (2018) em que o processo de encapsulação ou a menor quantidade do fármaco em comparação com a dos polímeros utilizados na formação das micropartículas, podem ter propiciado amorfização do fármaco.

Para a mistura do ACT + PVA são observados dois eventos endotérmicos, no entanto um evento largo em torno de 78,05°C pode ser devido a desidratação dos polímeros. Nota-se que a temperatura de fusão do conteúdo do PVA permaneceu aproximadamente inalterada em torno de 179,76°C.

Já a curva de DSC das misturas binárias PVA+SINV e ACT+SINV, afim de avaliar se ocorre interações entre elas observa-se picos endotérmicos característico de fusão da

sinvastatina que são bem definidos e intactos a uma faixa de temperatura de 137-139°C, como da sinvastatina pura, sugerindo que houve manutenção do estado cristalino do fármaco após a mistura com os polímeros. Por isso, pode-se sugerir que não houve interação física entre o fármaco e os excipientes na formação das micropartículas. Quanto ao ΔH (J/g) dessas misturas, houve redução de cerca de 50% de seu valor em relação à sinvastatina pura, visto que se trata de misturas físicas na proporção 1:1.

Tabela 4 – Resultados dos eventos calorimétricos das amostras.

Amostra	Evento	T_{pico} (°C)	ΔH (J.g⁻¹)
ACT	Primeiro	144,18	0,2529
	Segundo	181,82	0,8845
	Terceiro	186,00	0,3890
	Quarto	268,82	25,18
PVA	Primeiro	98,53	41,30
	Segundo	194,16	40,08
SINV	Primeiro	139,62	49,81
ACT + PVA	Primeiro	78,50	9,903
	Segundo	179,76	11,36
ACT + SINV	Primeiro	50,36	19,64
	Segundo	137,15	22,64
	Terceiro	190,17	17,38
SINV +PVA	Primeiro	139,09	17,47
	Segundo	182,74	11,91
	Terceiro	249,22	36,86
MPSF	Primeiro	164,78	2,338
	Segundo	261,88	25,37
MPCF	Primeiro	140,92	0,5217
	Segundo	161,76	3,591

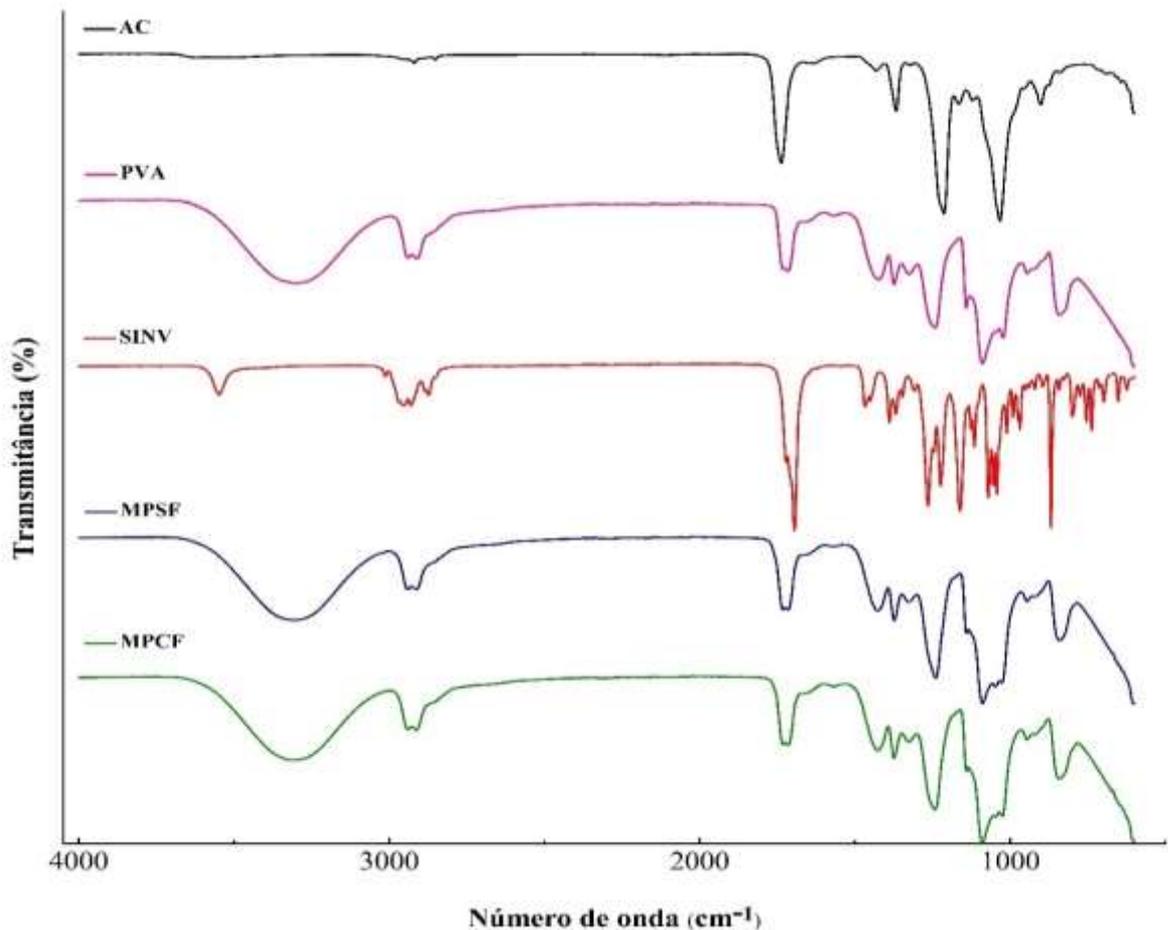
Fonte: dados da pesquisa

5.4.5 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia de Infravermelho com Transformada em Fourier (FTIR) foi utilizada para confirmar a presença de grupos funcionais específicos em micropartículas de acetato de

celulose carregadas com sinvastatina, avaliando-se a possível interação do fármaco com a matriz polimérica e a integridade de encapsulação das micropartículas de acetato de celulose. As bandas de absorção para o ACT, PVA, SINV, MPSF e as MPCF estão apresentadas na figura 21.

Figura 21 – Espectro de FTIR para o acetato de celulose (AC), álcool polivinílico (PVA), sinvastatina (SINV), micropartícula sem o fármaco (MPSF) e micropartícula com o fármaco (MPCF).



Fonte: dados da pesquisa

O acetato de celulose produzido a partir da celulose extraída do *Agave sisalana* mostrou um perfil do espectro na região do infravermelho, através de FTIR, semelhante ao esperado para este polímero. As bandas que corroboram para essas mudanças foram: bandas de baixa intensidade entre 3700 e 3200 cm^{-1} , que são atribuídos ao estiramento de grupos hidroxilas remanescentes na estrutura química do polímero, como resultado da substituição dos grupos OH livre pelos grupos acetil, obtendo uma confirmação qualitativa do grau de substituição do polímero comparada com a intensidade da banda de absorção do grupamento carbonil; banda intensa em 1745 cm^{-1} , atribuída ao estiramento da ligação C = O do grupo éster

que está presente na estrutura do grupo acetil; ascensão da banda em 1368 cm^{-1} , correspondendo a vibração de ligação CH, que está presente na estrutura do grupo acetil; uma banda intensa em 1035 cm^{-1} referente a vibração da ligação C – O, responsável pela ligação entre a celulose, em 1033 cm^{-1} correspondendo a ligação C-O-C de vibração de anel de piranose e o grupo acetil e banda em 900 cm^{-1} para as vibrações de deformação dos grupos COC, CCO e CCH (CANDIDO; GODOY; GONÇALVES, 2017; PANDELE et al., 2018).

Para o PVA uma intensidade de absorbância típica a 3305 cm^{-1} atribuída ao grupo OH. A banda aguda visto em 2945 cm^{-1} denota o alongamento CH dos grupos alquila, enquanto que as bandas em 1424 e 1373 cm^{-1} indicam vibrações de CH. O estiramento carboxílico (C=O) é observada em 1722 cm^{-1} . Já em 1095 e 838 cm^{-1} indicam o estiramento C-O correspondente aos grupos do álcool (QI et al., 2018; WANG et al., 2019).

O espectro do FTIR da sinvastatina apresentou-se uma banda específica em 3548 cm^{-1} resultante de vibrações de alongamento OH do álcool, em 3008 cm^{-1} referente ao estiramento olefínico C-H, 2937 cm^{-1} e 2875 cm^{-1} estiramento assimétrica e simétrico de vibração de alongamento de C-H da metila e metileno. Além disso em 1700 cm^{-1} e 1694 cm^{-1} associado ao estiramento C=O de lactona e C=O do éster, em 1468 cm^{-1} e 1392 cm^{-1} nota-se a vibração de flexão da metila e do metileno C-H e 1273 cm^{-1} refere-se a vibração de flexão lactona e éster C-O-C. Em 1073 cm^{-1} referente ao estiramento do álcool secundário do estiramento C-O e por fim em 870 cm^{-1} a vibração C-H da olefina trissubstituída (BALATA et al., 2016; PARHI; PADILAM, 2018; YASAEI et al., 2019).

Os resultados das MPSF e das MPCF pode-se afirmar que não houve diferenças, promovendo praticamente sobreposições. No entanto para as micropartículas contendo a sinvastatina, as bandas de absorção característica do fármaco desapareceram, deslocaram-se ou substituíram-se pelas bandas dos polímeros indicando o aprisionamento da sinvastatina em micropartículas na matriz polimérica, que podem ser parcialmente atribuídas ao baixo teor de carga de sinvastatina e maior quantidade dos polímeros presentes no sistema. Resultados e conclusões semelhantes foram encontrados por alguns autores para o mesmo princípio ativo como para outros bioativos incorporados em sistemas poliméricos. As principais banda de absorção encontra-se na tabela 5 (FATHI et al., 2018; GAVINI; KONIJETI; NAGARAJU, 2015; PAULO; SANTOS, 2018).

Tabela 5 – Principais bandas observadas nos espectros de FTIR das amostras

Amostras	O-H	C-H	C-O	C=O	C-O-C
AC	3552	2917	1035	1745	1033
PVA	3305	2945	1095	1722	-
SINV	3548	3008	1043	1700	1273
MPSF	3299	2945	1087	1715	-
MPCF	3309	2943	1087	1715	-

Fonte: dados da pesquisa

5.4.6 Difração de raios-X (DRX)

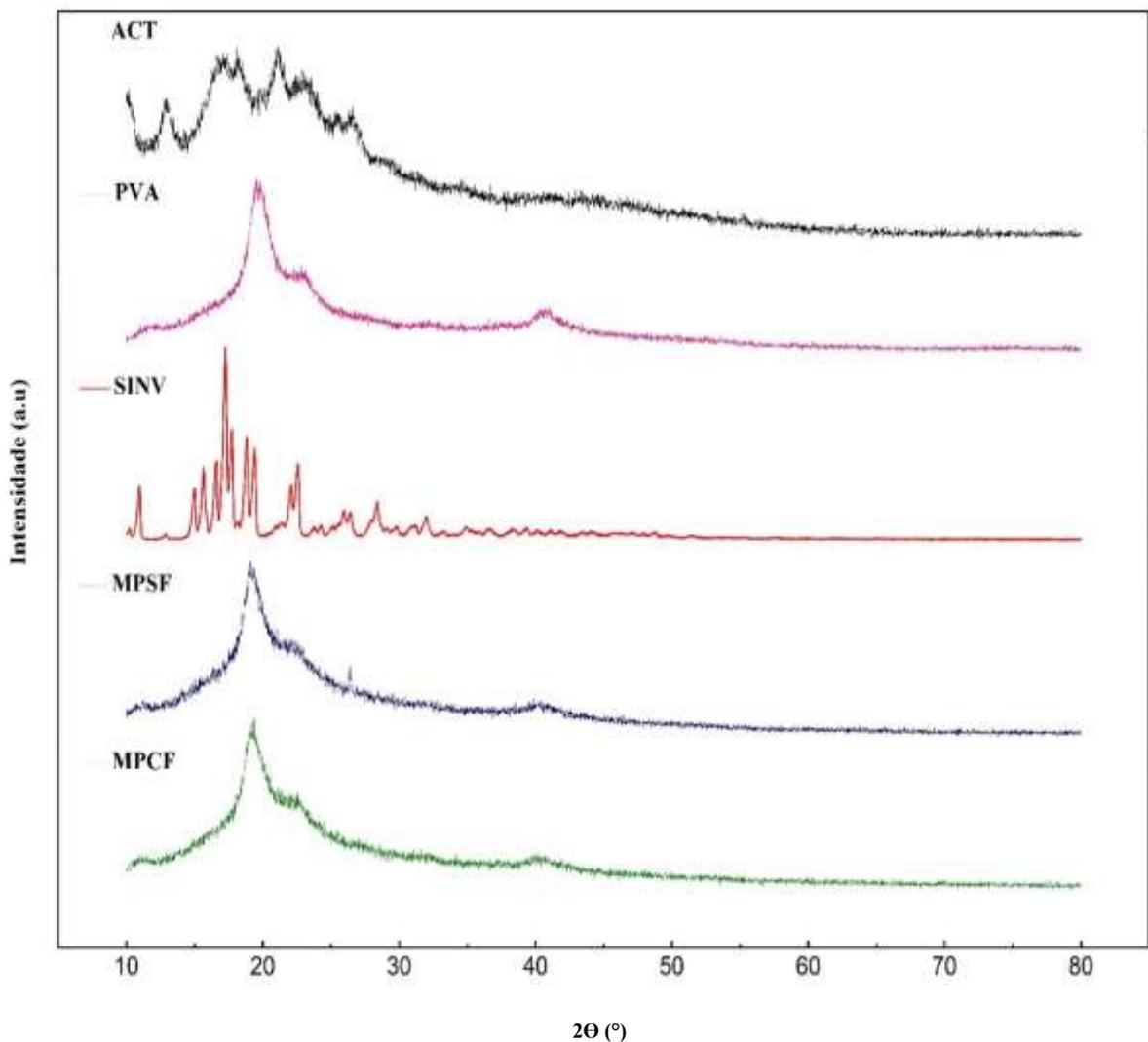
A figura 22 representa os difratogramas de raio X do acetato de celulose, sinvastatina, PVA, MPSF e das MPCF, sendo a melhor técnica para caracterização de estrutura cristalina dos materiais. Analisando o difratograma para o acetato de celulose apresentando amplo halo a $2\theta=20^\circ$, também conhecidos como halo de Van der Waalls característico de regiões amorfas que é normalmente encontrado nos polímeros orgânicos (FREITAS; SENNA; BOTARO, 2017; WAN DAUD; DJUNED, 2015). Reflexões próximo de $2\theta=10^\circ$, $12,76^\circ$ indicam que a posição do pico é advertida a geração de um distúrbio, demonstrando que a celulose foi acetilada, sendo atribuídas a principal característica da região semi-cristalina do acetato de celulose. Essa menor exibição da cristalinidade deve-se ao fato de que as ligações de hidrogênio inter e intra-moleculares da celulose foram quase completamente quebradas durante a substituição dos grupos hidroxila pelos grupos acetila (CHEN et al., 2016).

O padrão de difração para o PVA revela três reflexões principais em $2\theta=19,5^\circ$, $22,7^\circ$, $40,7^\circ$. Com reflexões semi-cristalinas amplas e alargadas principalmente em $2\theta=19,5^\circ$, $22,7^\circ$ que é resultado das fortes ligações de hidrogênio intermoleculares e intramoleculares entre a cadeia molecular do PVA (ELASHMAWI; MENAZEA, 2019).

A análise dos difratogramas de raio X da sinvastatina demonstra um padrão típico de difração de raio X bruto. Revelando vários picos de difração localizado em $2\theta=10,9^\circ$, 13° , $14,92^\circ$, $15,58^\circ$, $16,54^\circ$, $17,32^\circ$, $17,7^\circ$, $18,88^\circ$, $19,36^\circ$, característico de fármaco com natureza cristalina, com reflexões dominantes (dubleto) em torno de $17,5^\circ$. Esse padrão é compatível com o relatado na literatura para a forma polimórfica I. Caracterizado como sendo a forma sólida mais estável quando comparada com as três identificadas até o momento (LU et al., 2019; QIAO et al., 2017).

A natureza cristalina da sinvastatina pura pode ser perdida durante a microencapsulação devido ao método de evaporação do solvente utilizado na preparação. Por isso, ao observar os padrões de difração acima mencionados da sinvastatina para as MPCF, sugere-se que o fármaco está disperso molecularmente na matriz de acetato de celulose, formando assim um sistema matricial e que confirma claramente que a sinvastatina não se cristalizou na matriz lipídica (QIAO et al., 2017). Apresentando-se com uma reflexão de maior intensidade em $2\theta=19,34^\circ$ que está associada a organização das cadeias poliméricas. Em conjunto com a análise do DSC observa-se uma boa concordância com os resultados, sugerindo a presença da sinvastatina distribuído no núcleo lipídico sólido em uma forma amorfa.

Figura 22 – Difratogramas das amostras.



Fonte: dados da pesquisa

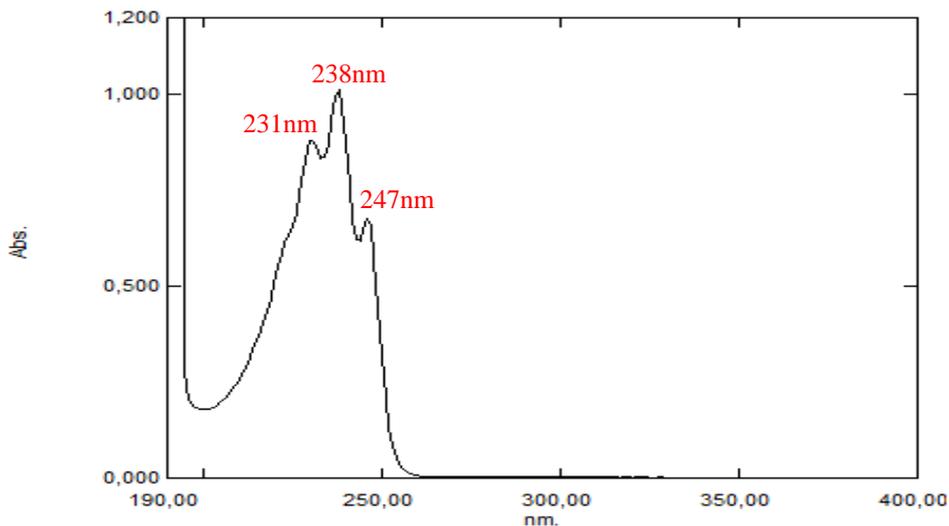
5.4.7 Avaliação cinética de liberação do fármaco a partir do sistema

5.4.7.1 Validação do método analítico para a quantificação da sinvastatina.

Para a validação por espectrofotometria de absorção no ultravioleta/visível (UV/VIS) do método de doseamento da sinvastatina incorporado nas micropartículas de acetato de celulose, utilizou-se os parâmetros: seletividade, linearidade, exatidão, repetibilidade (precisão intracorrida) e robustez exigidos pela resolução RDC. 166/2017 que dispõe sobre validação de métodos analíticos e dá outras providências.

A varredura espectrofotométrica na região de 190 a 400 nm, de uma solução de fármaco em solução de lauril sulfato de sódio (0,5%) na concentração de 1 mg/mL apresentou-se no comprimento de onda de 238 nm com o valor máximo de absorbância para a sinvastatina, como observado na figura 23. Desta forma, para a validação do método de quantificação bem como nas posteriores análises realizadas, foi utilizado o comprimento de onda de 238 nm.

Figura 23 – Espectro de varredura de 190 a 400nm, apresentando três picos de absorção, sendo o comprimento de onda de 238 nm correspondente à absorção máxima do fármaco.

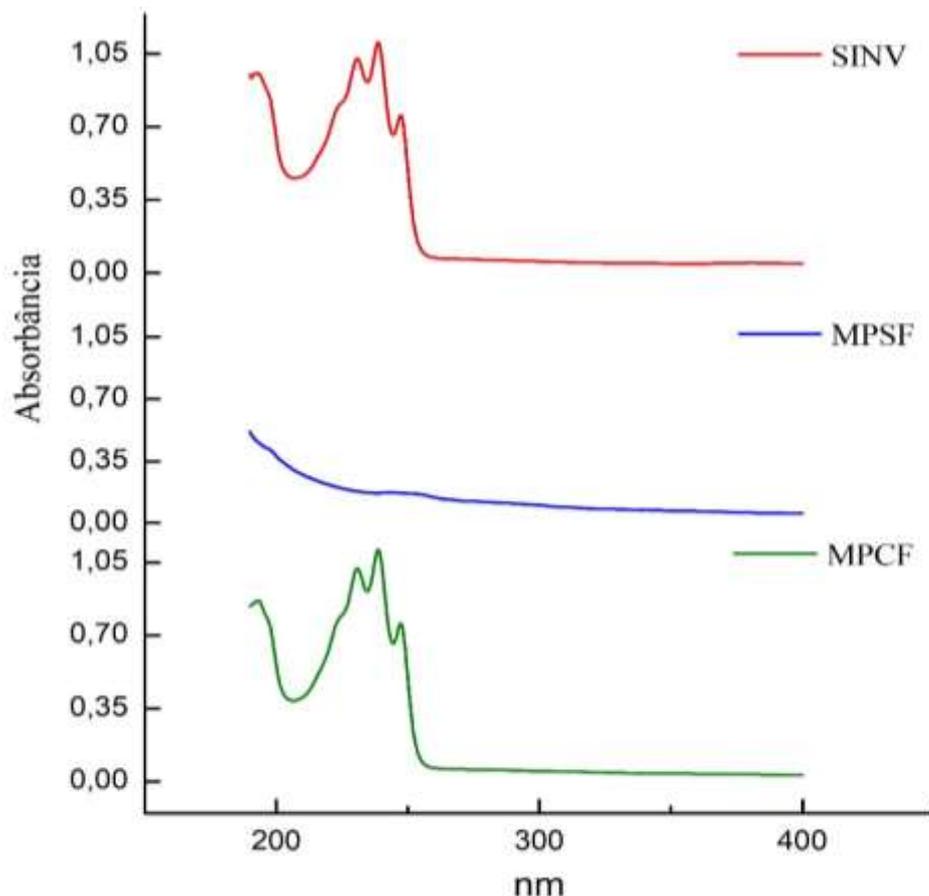


Fonte: dados da pesquisa.

A seletividade do método está relacionada com o evento de detecção de uma amostra mesmo na presença de outros componentes. Por isso para verificar a seletividade foram obtidos espectros de varredura da solução de SINV, MPSF e MPCF (Figura 24) em uma faixa de comprimento de onda de 190 nm a 400 nm. No qual, pode ser observado que no espectro da sinvastatina mostraram-se três picos de absorção característico do fármaco, para as MPSF os três picos não foram observados e possivelmente a presença do pico máximo deve estar abaixo de 190 nm, já para as MPCF mostraram a prevalência dos três picos característicos da SINV.

Portanto, a metodologia analítica específica a sinvastatina mesmo na presença de outros constituintes da micropartícula que podem estar presentes (traços do polímero acetato de celulose e PVA), impurezas ou produtos de degradação, demonstrando seletividade.

Figura 24 – Espectro de varredura das MPSF e MPCF evidenciando a formação dos picos característicos do fármaco.



Fonte: dados da pesquisa.

O método proposto por espectrofotometria através da linearidade foi construído em uma faixa de concentração mínima de $3\mu\text{g/mL}$ e uma concentração máxima de $30\mu\text{g/mL}$, que pode ser descrita através da equação $y = 0,05993x + 0,02647$, enquadrados em faixa analítica especificada. A fim de comprovar estatisticamente se os dados apresentam a suposta relação linear entre a concentração ($\mu\text{g/mL}$) e a absorvância na linearidade, foi utilizada a análise de variância (ANOVA) da regressão para o teste da significância do modelo, utilizando a estatística t-student para obter o teste de hipóteses. As hipóteses a serem testadas pela análise de variância na regressão são: hipótese nula (H_0) não há correlação linear significativa entre a concentração e a absorvância e a hipótese alternativa (H_1) diz que há correlação linear entre as variáveis.

A seguir a tabela da análise de variância na regressão (ANOVA) pode ser definida conforme tabela 6.

Tabela 6 – Análise de Variância na Regressão (ANOVA).

	GI	SQ	MQ	F₀ (calculado)
Modelo	1	8,0011899	8,0011899	F _{1,28} 31284,90875
Residual	28	0,007161067	0,000255752	-
Falta de Ajuste	8	0,003173733	0,000396717	F _{8,20} 1,989884635
Erro puro	20	0,003987333	0,000199367	-
Total	29	8,008350967	-	-

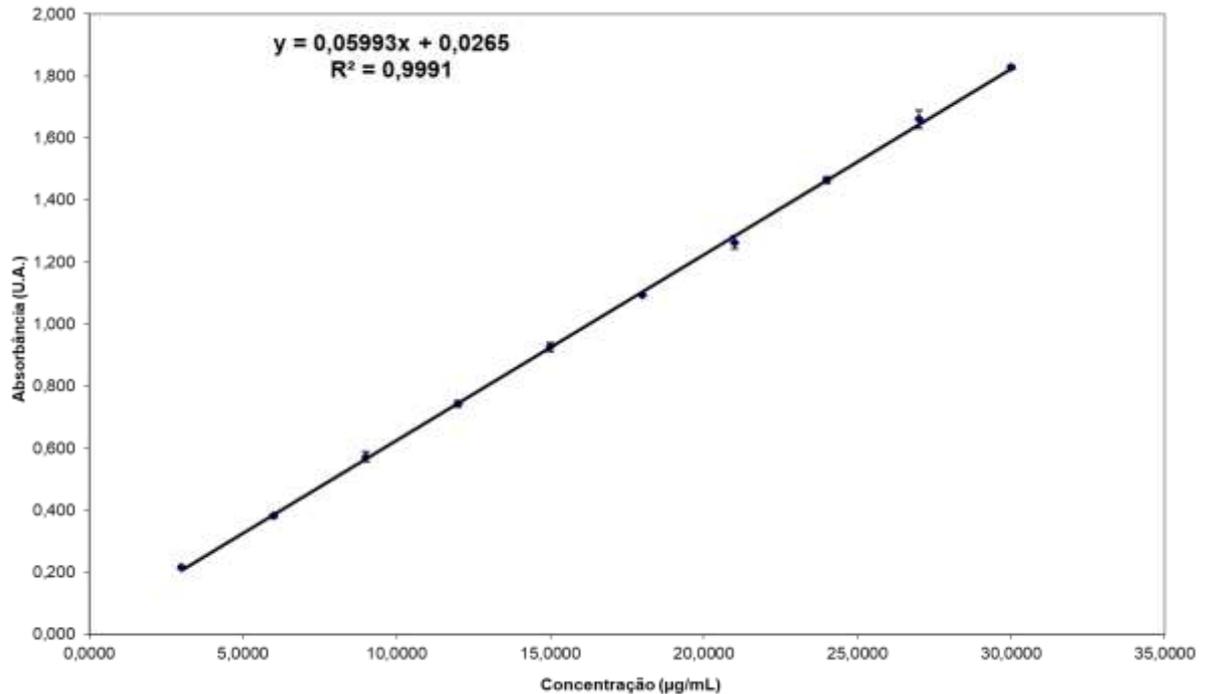
*gl: graus de liberdade; SQ: soma de quadrados; MQ: quadrados médios.

Fonte: dados da pesquisa.

A estatística do modelo tem distribuição F de Fisher-Snedecor com 1 grau de liberdade ao nível de significância de 5%. Estes valores esperados nos sugerem que o valor de $F_{0(1,28)}$ calculado é maior que o $F_{tabela(1,28)}$ que corresponde na tabela de distribuição 4,196. Portanto deve-se rejeitar H_0 , com evidências estatísticas de que há correlação linear entre a absorvância e concentração da sinvastatina. Para avaliar se o modelo de regressão linear é adequado, o teste da falta de ajuste (Lack Of Fit) é utilizado pois assume que a normalidade, independência e homocedasticidade das variâncias dos resíduos sejam válidos. As hipóteses a serem testadas pelo teste da falta de ajuste são: hipótese nula (H_0) modelo linear adequado e para hipótese alternativa (H_1) modelo linear inadequado. Ao nível de significância de 5% o valor de $F_{c8,20}$ calculado é menor que o $F_{8,20}$ tabelado que assume um valor no modelo de distribuição tabelado de $F_{t8,20}=2,447$. Portanto, aceita-se H_0 e conclui que a falta de ajuste não é significativa com evidências estatísticas que o modelo utilizado é adequado.

Medidas de associação como o coeficiente de determinação (R^2) irá representar a proporção de variabilidade de y explicada pela variáveis regressoras. Assim, quanto mais próximo o R^2 estiver de 1, maior é a explicação da variável resposta pelo modelo ajustado e quanto melhor o modelo de regressão se ajustar a seus dados, maior o valor de R^2 . O R^2 determinado pelo modelo de regressão do estudo foi de 0,9991 para um intervalo de confiança de 95%. Esse valor nos diz que 99,91% da absorvância obtida da sinvastatina pode ser explicada por sua concentração. A curva analítica da sinvastatina, demonstrando sua linearidade encontra-se na figura 25.

Figura 25 – Curva analítica das soluções da sinvastatina em lauril sulfato de sódio a 0,5% nas concentrações de 3 a 30 µg/ml.



Fonte: dados da pesquisa.

Enquanto que a distribuição F é usada para realizar teste de hipóteses da equação da reta de regressão como um todo, a distribuição t é usada para realizar testes de hipóteses dos coeficientes da reta de regressão. Portanto a significância do coeficiente de regressão foi determinada através do teste *t-student*, com os resultados previstos na tabela 7. Utilizando a tabela de distribuição t, para $H_0: B=0$ e para $H_1: B \neq 0$ pode-se observar que valor-p dos coeficientes são $< 0,05$ evidenciando que a hipótese nula é falsa. Desta forma, podemos afirmar com 95% de confiança que o coeficiente angular da reta é diferente de zero, ou seja, são estatisticamente significativos.

Tabela 7 – Teste de significância do coeficiente angular

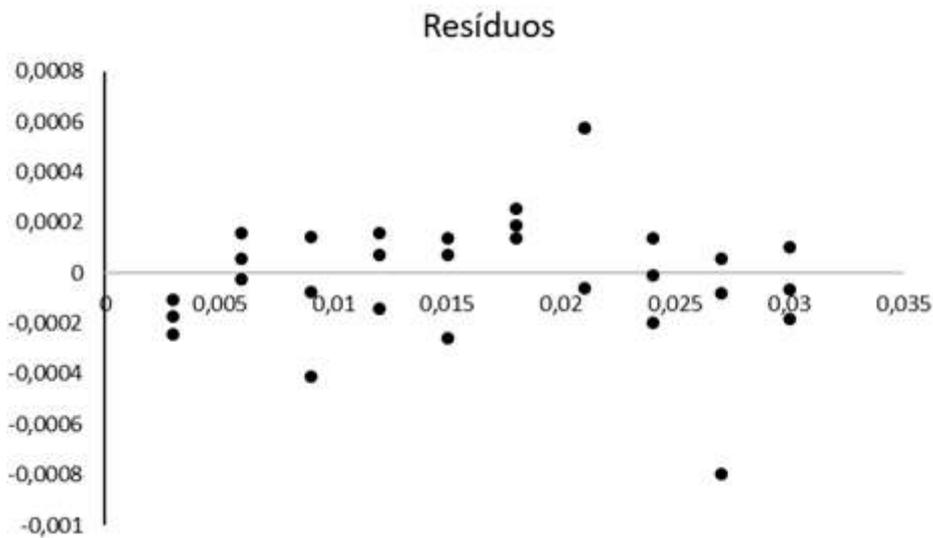
	Coefficientes	Erro padrão	Estatística t	Valor-p	95% inferiores	95% superiores
Interseção	0,026466	0,006307	4,196108	0,000248	0,013546	0,039387
Variável X	0,059933	0,338845	176,8754	3,12E-44	59,23924	60,62743

Fonte: dados da pesquisa.

Para que os resultados sejam confiáveis, as precisões do modelo ajustado devem ser avaliados. Com análise dos resíduos é possível investigar a adequabilidade de um modelo de

regressão. Através da análise gráfica dos resíduos, como demonstrada na figura 26, pode-se concluir que cada resíduo encontra-se próximo a zero, com variância constantes e concentrados entre -0,001 a 0,0008 e que aproximadamente a quantidade dos valores positivos e negativos dos resíduos encontram-se equivalentes, indicando aleatoriedade. Por isso pode-se sugerir que o modelo é adequado advertindo um comportamento esperado para distribuição dos erros.

Figura 26 – Distribuição da análise dos resíduos.



Fonte: dados da pesquisa

O teste de Durbin-Watson foi utilizado para detectar estatisticamente a dependência nos resíduos de uma análise de regressão. A estatística do teste é dada por $D_w = 1,742724$. Assim com $n=30$ e $k=1$ variável explicativa temos que $d_L=1,25$ e $d_U=1,38$. Considerando que a hipótese H_0 irá nos dizer que não existe autocorrelação entre os resíduos e o H_1 nos dirá que há autocorrelação. Como $d_U=1,38 < 1,742724 \leq 4-d_U=2,62$, não rejeitamos H_0 e, portanto, podemos afirmar que ao nível de confiança de 95%, que os resíduos são independentes.

A partir da curva analítica foram calculados os parâmetros de sensibilidade do método, sendo eles, o LD de $0,3116 \mu\text{g/mL}$ e o LQ de $1,0387 \mu\text{g/mL}$. Analisando os valores do método proposto apresentam-se com excelente sensibilidade, visto que durante a dissolução/liberação do fármaco se espera quantificar valores muito baixos de concentração até valores mais elevados. Já que o LD tem como proposta determinar a menor quantidade do analito em uma amostra detectada e o LQ a menor quantidade de analito, em uma amostra que pode ser determinada quantitativamente com precisão e exatidão. Desta forma, assegura-se que o método proposto é capaz de detectar e quantificar uma ampla faixa de concentrações com segurança.

Já através da precisão e exatidão do método de quantificação foram confirmadas pela proximidade entre os valores de concentração percentual, apresentados na tabela 8 e 9. Os dados obtidos para a repetibilidade e precisão intermediária apresentaram um coeficiente de variação inferiores a 5%, o que indica que não houve variação significativa entre os resultados obtidos, demonstrando, portanto, a precisão e exatidão do método proposto (BRASIL, 2017).

Tabela 8 – Precisão

Analistas	Dia	Concentração	Média das absorbâncias	DP	CV(%)
Analista 1	1	15 µg/mL	0,9277	0,0119	1,2785
	2	15 µg/mL	0,9480	0,0327	3,4518
Analista 2	1	15 µg/mL	0,9568	0,0247	2,5833
	2	15 µg/mL	0,9760	0,0127	1,3057

*DP: desvio padrão; CV: Coeficiente de variação.

Fonte: dados da pesquisa

Tabela 9 – Exatidão

Nível	Média das absorbâncias	DV	CV(%)	Concentração teórica	Concentração real	Exatidão
Baixo	0,2093	0,0025	1,2022	3 µg/mL	3,04 µg/mL	101,55%
Médio	0,9426	0,0105	1,1143	15 µg/mL	15,28 µg/mL	101,91%
Alto	1,8637	0,0235	1,2611	30 µg/mL	30,66 mg/mL	102,21%

*DP: desvio padrão; CV: Coeficiente de variação.

Fonte: dados da pesquisa

Para a robustez foram realizadas análises de variações do pH da solução (pH 1,4 e 7,4) em triplicata do nível médio de concentração (15 µg/mL) como mostrada na tabela 10. O método é de fundamental importância na validação, para que os analistas possam conhecer determinados fatores que possam resistir a pequenas e deliberadas variações no processo analítico. Os resultados apresentaram-se dentro das especificações exigidas pela legislação, o coeficiente de variação menor que 5% e a exatidão manteve-se no intervalo de confiança entre 101 a 101%, encontrando-se dentro das especificações exigidas pela legislação, obtendo assim um método robusto evidenciado nos resultados da precisão e exatidão do método.

Tabela 10 – Robustez

Modificação	Média das absorvâncias	Concentração Teórica (µg/mL)	Concentração real ± DP	Precisão CV (%)	Exatidão
pH 1,4	0,9270	15	0,0150 ± 0,024	2,6693	100,0742
pH 7,4	0,9363	15	0,0151 ± 0,009	0,0090	101,1073

*DP: desvio padrão; CV: Coeficiente de variação.

Fonte: dados da pesquisa.

5.4.7.2 Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação é um dos parâmetros de otimização essenciais na determinação da quantidade de fármaco que está no interior da partícula relacionada com a quantidade de fármaco adicionada no início do processo. Alguns estudos comprovam que diversos fatores são capazes de influenciar a quantidade de fármacos associada aos sistemas microestruturados como propriedades físico-químicas do fármaco, características da superfície da partícula, quantidade de fármaco adicionada a formulação, pH do meio e o tipo de tensoativo adsorvido a matriz polimérica.

As micropartículas exibiram uma alta eficiência de incorporação para sinvastatina em torno de 98,92 % ± 2,6 compatível com outros estudos apresentados na literatura (GUERREIRO, F. et al, 2019; BRAGAGNI, M. et al, 2018) que utilizaram métodos experimentais semelhantes para a produção das micropartículas. Portanto, considera-se que a incorporação da sinvastatina a fase interna do sistema foi satisfatória.

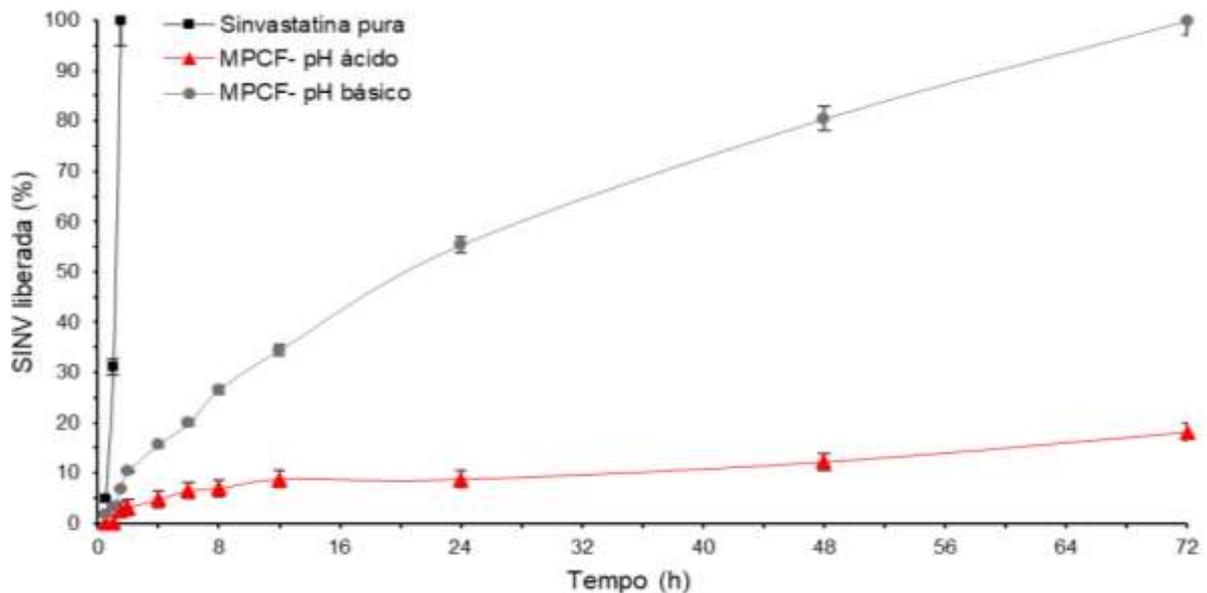
5.4.7.3 Estudo de liberação *in vitro* da sinvastatina

A liberação *in vitro* de fármacos avalia a quantidade de fármaco liberado em função do tempo, a partir de uma forma farmacêutica. Os métodos de diálise para determinar o perfil de liberação de fármacos tem sido amplamente utilizado em sistemas poliméricos, para orientar o desenvolvimento da formulação, facilitando o controle de qualidade e no melhor dos casos, estabelecer a correlação *in vitro-in vivo* da formulação (YU et al., 2019).

O perfil de liberação das micropartículas contendo a sinvastatina foi avaliada em meio ácido (pH 1,2) e meio básico (pH 7,2) à temperatura corporal (37°C), simulando o pH estomacal e intestinal respectivamente, comparando com o fármaco puro. Devido à sua baixa solubilidade aquosa, o lauril sulfato de sódio (0,5% p/v) foi utilizado como meio de liberação para dissolver a sinvastatina liberada e, assim, manter as condições *sink* do sistema, ou seja, que a

concentração do fármaco liberado no meio de dissolução não exceda 10% da sua saturação no meio selecionado. A figura 27 apresenta o perfil de liberação *in vitro* da sinvastatina através das micropartículas e a substância pura.

Figura 27 – Perfis de liberação *in vitro* das MPCF no fluido gástrico simulado e no fluido intestinal por 72 horas a 37 °C. Os dados são expressos como média \pm DP (n = 3).



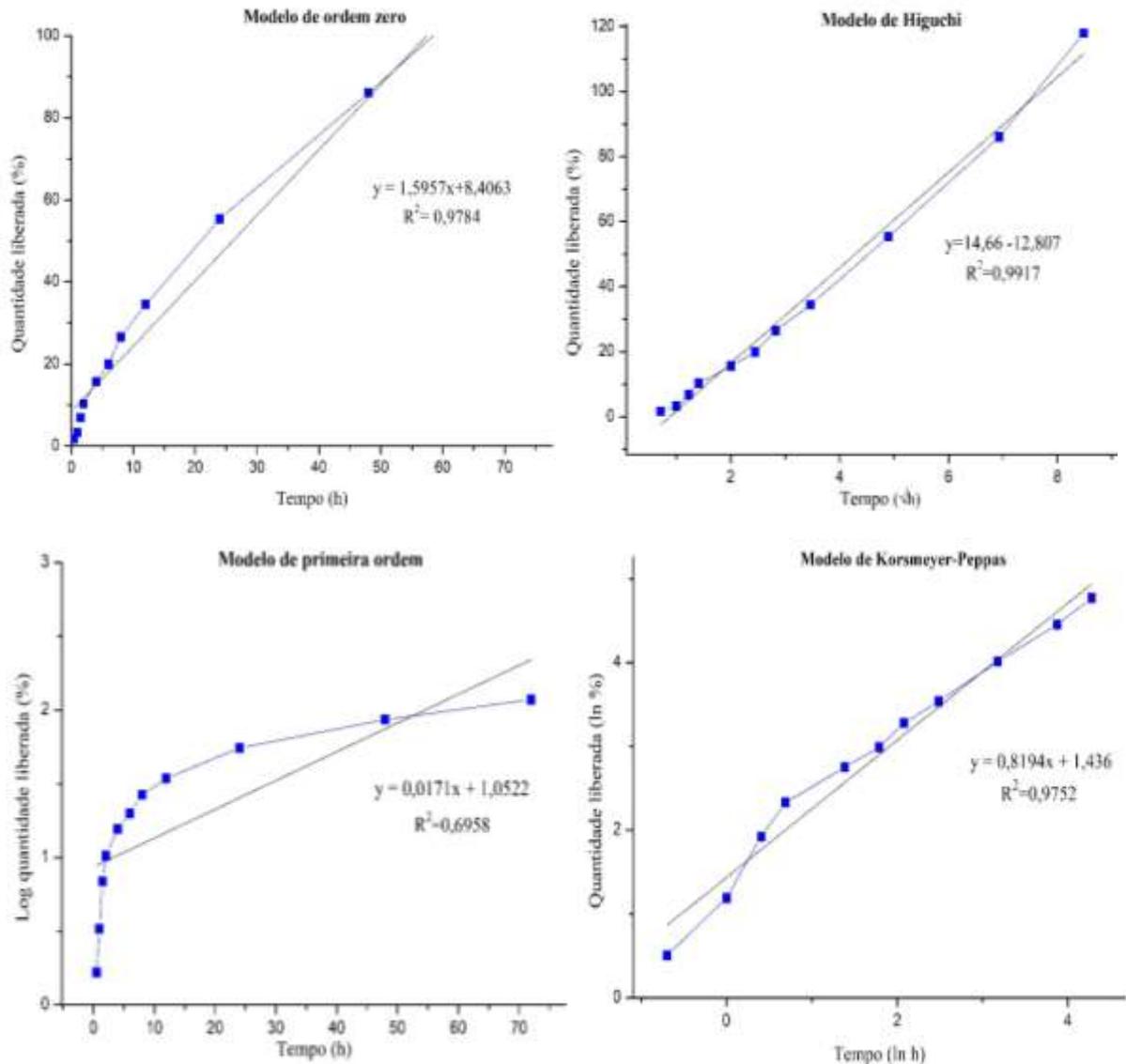
Fonte: dados da pesquisa

Graficamente foi demonstrado uma liberação controlada das micropartículas durante um período de 72h, o que difere do fármaco puro que liberou de forma contínua e crescente. Os resultados revelam que nas primeiras 2 horas iniciais \pm 10,28% de sinvastatina no meio básico foi liberado e \pm 3,21% em meio ácido. Uma menor liberação do fármaco em meio acidificado pode ser devido a característica do polímero acetato de celulose, pois contem grupos carboxilas que permanecem completos no pH ácido, ou seja, são totalmente protonados e portanto insolúveis no pH baixo (1 a 3) do estômago, mas ionizam e se tornam solúveis no pH mais alto (5,5 a 7) do intestino delgado, diminuindo a liberação do fármaco na região gástrica e liberando de maneira mais completa para serem absorvidos no intestino. Como a liberação ocorre lentamente, o fármaco não será eliminado em forma livre, obtendo uma absorção maior (CHAVAN et al., 2019; EDGAR et al., 2001).

Após obter os valores da quantidade acumulada de sinvastatina liberada em função do tempo, uma interpretação quantitativa desses dados foi utilizada através de modelos matemáticos, para elucidar o mecanismo de liberação envolvido em função da característica da formulação. A tabela 11 e figura 28 mostra os modelos matemáticos que foram aplicados ao perfil de liberação da sinvastatina, utilizando como critério de escolha de melhor ajuste entre

os modelos cinéticos o valor mais alto do coeficiente estatístico de determinação (r^2), sendo estes modelos de ordem zero, primeira ordem, Higuchi, Korsmeyer-Peppas.

Figura 28 – Modelos cinéticos de liberação das micropartículas com fármaco.



Fonte: dados da pesquisa

A liberação da sinvastatina seguiu o modelo cinético de Higuchi, como visto na tabela 11, a boa linearidade foi confirmada pelo coeficiente de determinação, onde o valor encontrado para este modelo foi maior em comparação com outros modelos cinéticos. Higuchi descreve o mecanismo de liberação de fármaco por um processo de difusão baseado na lei de Fick dependente da raiz quadrada do tempo, ou seja, a diferença inicial da concentração do fármaco entre o saco de diálise e o meio irá induzir a passagem do fármaco através desta. De acordo com esse modelo, a liberação envolve a penetração do fluido corporal nos poros, dissolução da

molécula do fármaco e difusão dessas moléculas através dos poros (SOLANKI et al., 2019; WU et al., 2020).

Tabela 11 – Valores do coeficiente de determinação (R^2) obtido ajustando o perfil de liberação de sinvastatina com diferentes modelos matemáticos.

Modelo cinético	Equação	Coeficiente de determinação (R^2)
Ordem zero	$F = K_0t + b$	0,9784
Primeira ordem	$F = 100 (1 - e^{-kt})$	0,6958
Higuchi	$F = K_H \sqrt{t} + b$	0,9917
Korsmeyer-Peppas	$F = k_p t^n$	0,9752

F = quantidade de fármaco liberado no tempo t; k1, K_H , K_0 e k_p = constantes da taxa de liberação para diferentes equações; n e b expoentes de liberação.

A utilização de polímeros biodegradáveis nas micropartículas para liberação de fármacos, pode ocorrer pela difusão do fármaco presente na região superficial das partículas, tanto na superfície externa quanto na superfície dos poros formados pelo processo de microencapsulação ou pela degradação do polímero, onde as moléculas de fármaco localizadas nessa região são difundidas da matriz polimérica para o meio receptor no interior da micropartícula em função do gradiente de concentração. Portanto a geometria e estrutura da rede dos poros são importantes neste processo de liberação, bem como os constituintes da formação das micropartículas desempenham um papel importante na liberação da sinvastatina (SOLANKI et al., 2019; WU et al., 2020).

A partir dos dados do perfil de liberação foram determinados matematicamente o *lag time* e o fluxo baseado no modelo de cinética obedecido para formulação, como descrito na tabela 12.

Tabela 12 – Parâmetros cinéticos de liberação

Parâmetros cinéticos	MPCF
Modelo cinético	Higuchi
Lag time (h)	1,71
Fluxo J ($\mu\text{g}/\sqrt{h}$)	469,8

Foi possível observar que a cada raiz do tempo foi capaz de liberar 469,8 µg de sinvastatina. Além de que a sinvastatina incorporada demorou cerca 1,71 horas para alcançar uma velocidade de liberação constante.

Nesse sentido, esta análise foi essencial para compreender o perfil de liberação da sinvastatina através das micropartículas, de tal modo que determinou que o fármaco foi liberado de forma prolongada facilitando para que seja absorvido pela corrente de sanguínea do paciente em níveis gradativos durante o dia, diferindo dos medicamentos convencionais que promovem uma liberação rapidamente após a sua administração.

Entre as vantagens que esse sistema oferece consiste na redução da frequência de administração, melhorando a comodidade do paciente com diminuição do risco de esquecimento, obtenção de níveis plasmáticos mais uniformes e como consequência redução dos efeitos colaterais, supressão de administrações noturnas ou durante a madrugada e menor acúmulo do fármaco no organismo.

Em conjunto por sua vez, podem melhorar a adesão do paciente no tratamento, especialmente na terapia crônica, bem como gerar maior economia ao longo do tempo, já que diminui consideravelmente o tempo e os profissionais requeridos para dispensar, administrar e monitorar os pacientes.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

6.1 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As etapas de desenvolvimento e caracterização neste estudo, mostraram-se adequados para obtenção do excipiente farmacêutico, acetato de celulose, oriundo do *Agave sisalana*, afim de servir como base para incorporação de princípios de ativos, atuando como possível sistema de liberação controlada a partir de uma fonte alternativa e biosustentável. Sua síntese foi confirmada através das mudanças na forma, textura e cor durante as modificações químicas dos produtos e pela determinação do grau de substituição que confirmaram a formação do polímero triacetato de celulose. A partir dos resultados obtidos na caracterização, afirma-se que o sistema desenvolvido é viável para o desenvolvimento de sistemas microparticulados de acetato de celulose proveniente de *Agave sisalana* Perrine.

Os métodos analíticos aplicados neste estudo sugerem a incorporação da sinvastatina na matriz polimérica formada com eficiência de encapsulação de 98%, com formação de micropartículas bem-sucedida formulado com ingredientes biodegradáveis e biocompatíveis com distribuição uniforme de tamanho de partícula e morfologia esférica.

Analisando o conjunto de técnicas analíticas aplicadas observou a mudança de cristalinidade do fármaco no sistema e compatibilidade com os outros componentes da formulação, melhorando a solubilização do fármaco na matriz polimérica. O mecanismo de liberação da sinvastatina durante o período de 72h descreveu o modelo cinético Higuchi liberando de forma controlada, constituindo uma potencial formulação para veiculação da sinvastatina e testagem *in vivo*.

6.2 PERSPECTIVAS FUTURAS

Através da obtenção de todos os resultados da pesquisa, pode-se concluir que as micropartículas apresentam grandes perspectivas no âmbito de novos sistemas de liberação de fármacos, devido a todas as características atrativas verificadas ao longo da pesquisa. O estudo visa realizar estudo de citotoxicidade *in vitro* e avaliação *in vivo* da atividade anti-hiperlipidêmica das micropartículas para o tratamento das dislipidemias. Essa nova tecnologia tem o intuito de superar grandes entraves do setor de pesquisa, desenvolvimento e inovação da cadeia produtiva farmacêutica voltadas para a terapia das dislipidemias, gerando um incentivo para realização de pesquisas e aprimoramento que futuramente podem contribuir para os avanços tecnológicos e desenvolvimento de novas formulações no combate a esse tipo de enfermidade.

REFERÊNCIAS

- ADIELS, M. et al. Overproduction of very low-density lipoproteins is the hallmark of the dyslipidemia in the metabolic syndrome. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 28, n. 7, p. 1225–1236, 2008.
- AGGARWAL, S.; GOEL, A.; SINGLA, S. Drug Delivery: Special Emphasis Given on Biodegradable Polymers. **Advances in Polymer Science and Technology: An International Journal**, v. 2, n. 1, p. 1–15, 2012.
- AMARAL, H. R. et al. Production of high-purity cellulose, cellulose acetate and cellulose-silica composite from babassu coconut shells. **Carbohydrate Polymers**, v. 210, n. January, p. 127–134, 2019.
- ANZAR, N. et al. Preparation, evaluation and pharmacokinetic studies of spray dried PLGA polymeric submicron particles of simvastatin for the effective treatment of breast cancer. **Journal of Molecular Liquids**, v. 249, p. 609–616, 2018.
- APOLINÁRIO, A. C. et al. Extraction, isolation and characterization of inulin from Agave sisalana boles. **Industrial Crops and Products**, v. 108, n. August 2016, p. 355–362, 2017.
- ARALDI, R. P. et al. Analysis of antioxidant, cytotoxic and mutagenic potential of Agave sisalana Perrine extracts using Vero cells, human lymphocytes and mice polychromatic erythrocytes. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 98, n. December 2017, p. 873–885, 2018.
- ARNAUD, C.; BRAUNERSREUTHER, V.; MACH, F. Toward immunomodulatory and anti-inflammatory properties of statins. **Trends in Cardiovascular Medicine**, v. 15, n. 6, p. 202–206, 2005.
- BAHIA, L. et al. Endotélio e aterosclerose. **Revista da SOCERJ**, v. 17, p. 26–32, 2004.
- BALATA, G. F. et al. Rapid disintegrating tablets of simvastatin dispersions in polyoxyethylene-polypropylene block copolymer for maximized disintegration and dissolution. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 10, p. 3211–3223, 2016.
- BERTACCHE, V. et al. Structural elucidation of an unknown Simvastatin by-product in industrial synthesis starting from Lovastatin. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 45, n. 4, p. 642–647, 2007.
- BEVILACQUA, M. R. et al. Hiperlipidemias e fatores dietéticos: Estudo transversal entre Nipo-Brasileiros. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 51, n. 4, p. 547–558, 2007.
- BRASIL, RE Nº 166 de 24 de julho de 2017. O adjunto da diretoria colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária estabelece o **Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bionalíticos**. Diário Oficial da União, Brasília, 24 jul. 2017.
- BRASSESCO, M. E. et al. Development of alginate microparticles as efficient adsorption matrix for protein recovery. **Process Biochemistry**, v. 80, n. February, p. 157–163, 2019.
- BRAGAGNI, M. et al. Improving the therapeutic efficacy of prilocaine by PLGA microparticles: Preparation, characterization and in vivo evaluation. **International Journal of**

Pharmaceutics, v. 547, n. 1–2, p. 24–30, 2018.

BOTURA, M. B. et al. In vivo anthelmintic activity of an aqueous extract from sisal waste (*Agave sisalana* Perr.) against gastrointestinal nematodes in goats. **Veterinary Parasitology**, v. 177, n. 1–2, p. 104–110, 2011.

BOUITBIR, J. et al. Mechanisms of statin-associated skeletal muscle-associated symptoms. **Pharmacological Research**, n. February, p. 104201, 2019.

BOURICHE, S. et al. Optimization of preparation method by W/O/W emulsion for entrapping metformin hydrochloride into poly (lactic acid) microparticles using Box-Behnken design. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 51, n. September 2018, p. 419–429, 2019.

BOUSSOUSSOU, M. et al. Atmospheric fronts as minor cardiovascular risk factors, a new approach to preventive cardiology. **Journal of Cardiology**, v. 75, n. 2, p. 196–202, 2020.

BRASSESCO, M. E. et al. Development of alginate microparticles as efficient adsorption matrix for protein recovery. **Process Biochemistry**, v. 80, n. February, p. 157–163, 2019.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos **Relação nacional de medicamentos essenciais**: RENAME. Brasília, 2017, 210 f.

BENDJEFFAL, H. et al. Effect of the chelating agents on bio-sorption of hexavalent chromium using *Agave sisalana* fibers. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 26, n. 5, p. 984–992, 2018

BURNS, S. F. et al. Pre-diabetes in overweight youth and early atherogenic risk. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 63, n. 12, p. 1528–1535, 2014.

CALEFFI, T. S. L. Microencapsulação De Polpa De Amora-Preta Por Coacervação E Spray Drying. p. 113, 2014.

CAMPO, V. L.; CARVALHO, I. Estatinas hipolipêmicas e novas tendências terapêuticas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 425–430, 2007.

CAMPOLONGO, G. et al. The combination of nutraceutical and simvastatin enhances the effect of simvastatin alone in normalising lipid profile without side effects in patients with ischemic heart disease. **IJC Metabolic and Endocrine**, v. 11, p. 3–6, 2016.

CANDIDO, R. G.; GODOY, G. G.; GONÇALVES, A. Characterization and application of cellulose acetate synthesized from sugarcane bagasse. **Carbohydrate Polymers**, v. 167, p. 280–289, 2017.

CARR, R. L. Evaluating flow properties of solids. **Chemical Engineering**, New York, v. 72, n. 1, p. 163–168, 1965.

CERQUEIRA, D. A.; RODRIGUES FILHO, G.; MEIRELES, C. S. Optimization of sugarcane bagasse cellulose acetylation. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 69, n. 3, p. 579–582, 2007.

- CERQUEIRA, D. A.; VALENTE, A. J. M.; FILHO, G. R.; BURROWS, H. D. Synthesis and properties of polyaniline-cellulose acetate blends: the use of sugarcane bagasse waste and the effect of the substitution degree. **Carbohydrate Polymers**, v. 78, n. 3, p. 402-408, 2009.
- CHANDIRAN IRISAPPAN, S.; PAVAN KUMAR, B.; NARASIMHA JAYAVEERA, K. Characterization of Glibenclamide loaded cellulose acetate microparticles prepared by an emulsion solvent evaporation method. **Journal of Pharmacy Research**, v. 7, n. 8, p. 766-773, 2013.
- CHAPMAN, M. J. et al. New dimension of statin action on apoB atherogenicity. **Clinical Cardiology**, v. 26, n. S1, p. 7-10, 2003.
- CHAVAN, R. B. et al. Cellulose based polymers in development of amorphous solid dispersions. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 14, n. 3, p. 248-264, 2019.
- CHEN, J. et al. Cellulose acetate fibers prepared from different raw materials with rapid synthesis method. **Carbohydrate Polymers**, v. 137, p. 685-692, 2016.
- CHOI, K. O. et al. Functional enhancement of ultrafine Angelica gigas powder by spray-drying microencapsulation. **Lwt**, v. 101, n. July 2018, p. 161-166, 2019.
- CHRISTIANS, U.; JACOBSEN, W.; FLOREN, L. C. Metabolism and drug interactions of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors in transplant patients: Are the statins mechanistically similar? **Pharmacology and Therapeutics**, v. 80, n. 1, p. 1-34, 1998.
- CRUZ, A. C. et al. Utilização do acetato de celulose produzido a partir da celulose extraída do caroço de manga como matriz para produção de sistemas microparticulados. **Química Nova**, v. 34, n. 3, p. 385-389, 2011.
- DANTAS, P. A. **Géis superabsorventes de propionato acetato de celulose e acetato de celulose: síntese, caracterização e liberação controlada de pesticida**. 2011. Paginação irregular, 125 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Materiais)-Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba, 2011 **Química Nova**, v. 34, n. 3, p. 385-389, 2011.
- FREITAS, R. R. M.; SENNA, A. M.; BOTARO, V. R. Influence of degree of substitution on thermal dynamic mechanical and physicochemical properties of cellulose acetate. **Industrial Crops and Products**, v. 109, n. June, p. 452-458, 2017. .
- FILHO, G. R. et al. Characterization of methylcellulose produced from sugar cane bagasse cellulose: Crystallinity and thermal properties. **Polymer Degradation and Stability**, v. 92, n. 2, p. 205-210, 2007.
- FURTADO, L. M. et al. Miscibility and sustained release of drug from cellulose acetate butyrate/caffeine films. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 55, n. October 2019, p. 101472, 2020.
- OLIVEIRA, E. G. et al. Avaliação da Goma Guar no desenvolvimento de comprimidos matriciais de liberação controlada de teofilina. **Polimeros**, v. 25, p. 54-58, 2015.
- VERNEY, J. C. K.; SANTOS LIMA, M. F.; LENZ, D. M. Properties of SBS and sisal fiber composites: Ecological material for shoe manufacturing. **Materials Research**, v. 11, n. 4, p. 447-451, 2008.
- EDGAR, K. J. Cellulose esters in drug delivery. **Cellulose**, v. 14, n. 1, p. 49-64. 2007.

- EDGAR, K. J. et al. Advances in cellulose ester performance and application.pdf.crdownload. **Prog. Polym. Sci.**, v. 26, p. 1605–1688, 2001.
- EL NEMR, A. et al. Synthesis of cellulose triacetate from cotton cellulose by using NIS as a catalyst under mild reaction conditions. **Carbohydrate Polymers**, v. 130, p. 41–48, 2015.
- ELASHMAWI, I. S.; MENAZEA, A. A. Different time's Nd:YAG laser-irradiated PVA/Ag nanocomposites: Structural, optical, and electrical characterization. **Journal of Materials Research and Technology**, v. 8, n. 2, p. 1944–1951, 2019.
- FAN, X.; LIU, Z. T.; LIU, Z. W. Preparation and application of cellulose triacetate microspheres. **Journal of Hazardous Materials**, v. 177, n. 1–3, p. 452–457, 2010.
- FATIMA, N. et al. Level of hyperlipidemia in blood donors: A correlative study in North Indian population. **Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews**, v. 13, n. 3, p. 2033–2036, 2019
- FATHI, H. A. et al. Nanostructured lipid carriers for improved oral delivery and prolonged antihyperlipidemic effect of simvastatin. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 162, p. 236–245, 2018.
- FIGENBAUM, M.; HUTZ, M. H. Farmacogenética de fármacos hipolipemiantes. **Medicina**, v. 39, n. 4, p. 543–553, 2006.
- FOSTER, T. P.; LEATHERMAN, M. W. Powder characteristics of proteins spray-dried from different spray-dryers. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 21, n. 15, p. 1705–1723, 1995
- GANESAN, P. et al. Development, characterization and solubility enhancement of comparative dissolution study of second generation of solid dispersions and microspheres for poorly water soluble drug. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 10, n. 5, p. 433–441, 2015.
- GARCIA, A. Q. R.; PEREIRA, T. C. B.; DIAS, I. L. T. Study of the flow in the development of acetaminophen powder dispensed into sachet. **Rev. Bras. Farm**, v. 93, n. 4, p. 469–475, 2012.
- GAVINI, V.; KONIJETI, S.; NAGARAJU, S. T. Formulation and characterization of controlled release bioadhesive nanoparticles encapsulated with neostigmine bromide. v. 6, n. 8, p. 3501–3510, 2015.
- GONDIM, T. DE M. et al. Pathophysiological aspects of atherogenic dyslipidemia and impact on homeostasis. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 49, n. 2, 2017.
- GOSWAMI, M.; DAS, A. M. Synthesis and characterization of a biodegradable Cellulose acetate-montmorillonite composite for effective adsorption of Eosin Y. **Carbohydrate Polymers**, v. 206, n. July 2018, p. 863–872, 2019.
- GUERREIRO, F. et al. Spray-drying of konjac glucomannan to produce microparticles for an application as antitubercular drug carriers. **Powder Technology**, v. 342, p. 246–252, 2019.
- GUYOT, J. C. et al. Commentaires relatifs aux méthodes générales d'analyse des formes orales solides récemment introduites dans les pharmacopées française et européenne. **STP**

Pharma Pratiques, Paris, v. 5, n. 6, p. 482-494, 1995.

HADJIPHILIPPOU, S.; RAY, K. K. Lipids and Lipoproteins in Risk Prediction. **Cardiology Clinics**, v. 36, n. 2, p. 213–220, 2018.

HARISA, G. I.; ALOMRANI, A. H.; BADRAN, M. M. Simvastatin-loaded nanostructured lipid carriers attenuate the atherogenic risk of erythrocytes in hyperlipidemic rats. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, p. 62–71, 2017.

HARISA, G. I.; BADRAN, M. M. Simvastatin nanolipid carriers decreased hypercholesterolemia induced cholesterol inclusion and phosphatidylserine exposure on human erythrocytes. **Journal of Molecular Liquids**, v. 208, p. 202–210, 2015.

HAUSNER, H. H. Friction conditions in a mass of metal powder. **International Journal of Powder Metallurgy**, Princeton, v. 13, p. 7-13. 1967.

HONARY, S.; ZAHIR, F. Effect of zeta potential on the properties of nano-drug delivery systems - A review (Part 1). **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 12, n. 2, p. 255–264, 2013.

HOTTA, V. T. et al. Diagnosis and treatment of rare complication after endomyocardial biopsy. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 109, n. 6, p. 618–619, 2017.

HUANG, J. et al. Long noncoding RNA lncARSR promotes hepatic cholesterol biosynthesis via modulating Akt/SREBP-2/HMGCR pathway. **Life Sciences**, v. 203, n. January, p. 48–53, 2018.

JELVEHGARI, M. et al. Effects of process variables on micromeritic properties and drug release of non-degradable microparticles. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, v. 1, n. 1, p. 18-26, 2012.

KASCHUK, J. J.; LACERDA, T. M.; FROLLINI, E. Investigating effects of high cellulase concentration on the enzymatic hydrolysis of the sisal cellulosic pulp. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 138, p. 919–926, 2019.

KHOSHNEVISAN, K. et al. Cellulose acetate electrospun nanofibers for drug delivery systems: Applications and recent advances. **Carbohydrate Polymers**, v. 198, n. June, p. 131–141, 2018.

KOCIJAN, A. et al. Fast analysis of pravastatin in production media. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 822, n. 1–2, p. 311–315, 2005.

KONG, R. et al. Enhanced solubility and bioavailability of simvastatin by mechanochemically obtained complexes. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 534, n. 1–2, p. 108–118, 2017.

KONO, H. et al. NMR characterization of cellulose acetate: Mole fraction of monomers in cellulose acetate determined from carbonyl carbon resonances. **Carbohydrate Polymers**, v. 170, p. 23–32, 2017.

LACY, M. et al. Interactions between dyslipidemia and the immune system and their relevance as putative therapeutic targets in atherosclerosis. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 193, p. 50–62, 2019

- LAM, P. L.; GAMBARI, R. Advanced progress of microencapsulation technologies: In vivo and in vitro models for studying oral and transdermal drug deliveries. **Journal of Controlled Release**, v. 178, n. 1, p. 25–45, 2014.
- LEUNG, W. H.; LAU, C. P.; WONG, C. K. Beneficial effect of cholesterol-lowering therapy on coronary endothelium-dependent relaxation in hypercholesterolaemic patients. **The Lancet**, v. 341, n. 8859, p. 1496–1500, 1993.
- LI, Y. et al. A novel role for CRTCL2 in hepatic cholesterol synthesis through SREBP-2. **Hepatology**, v. 66, n. 2, p. 481–497, 2017.
- LI, Z. et al. Role of esterase mediated hydrolysis of simvastatin in human and rat blood and its impact on pharmacokinetic profiles of simvastatin and its active metabolite in rat. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 168, p. 13–22, 2019.
- LIAKOS, I. L. et al. All natural cellulose acetate—Lemongrass essential oil antimicrobial nanocapsules. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 510, n. 2, p. 508–515, 2016.
- LIMA, S. R.; OLIVEIRA, G. S.; MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A.; CHANG, R. Estudo dos constituintes macromoleculares, extrativos voláteis e compostos fenólicos da madeira de candeia: Moquinia polymorpha (LESS.) DC. **Ciência Florestal**, v. 17, n. 2, p. 145-155, 2007
- LIU, Q. et al. Both gut microbiota and cytokines act to atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice. **Microbial Pathogenesis**, v. 138, n. October 2019, p. 103827, 2020
- LIU, W.; CHEN, X. D.; SELOMULYA, C. On the spray drying of uniform functional microparticles. **Particuology**, v. 22, p. 1–12, 2015.
- LOPES, C. M.; LOBO, J. M. S.; COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: Polímeros hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 41, n. 2, p. 143–154, 2005.
- LU, H. et al. Effect of moisture on flowability of pulverized coal. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 133, p. 326–334, 2018.
- MADSEN, L. et al. Activation of liver X receptors prevents statin-induced death of 3t3-L1 preadipocytes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 283, n. 33, p. 22723–22736, 2008.
- MAGALHÃES, V. C. et al. Burkholderia isolates from a sand dune leaf litter display biocontrol activity against the bole rot disease of Agave sisalana. **Biological Control**, v. 112, n. January, p. 41–48, 2017.
- MARTIN, A. R. et al. Caracterização química e estrutural de fibra de sisal da variedade agave Sisalana. **Polimeros**, v. 19, n. 1, p. 40–46, 2009.
- MATOS-JR, F. E. et al. Effect of feed preparation on the properties and stability of ascorbic acid microparticles produced by spray chilling. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 251–260, 2017
- MELIKOĞLU, A. Y.; BILEK, S. E.; CESUR, S. Optimum alkaline treatment parameters for the extraction of cellulose and production of cellulose nanocrystals from apple pomace. **Carbohydrate Polymers**, v. 215, n. March, p. 330–337, 2019.

- MELO BRITES, M. et al. Bromelain immobilization in cellulose triacetate nanofiber membranes from sugarcane bagasse by electrospinning technique. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 132, n. August 2019, p. 109384, 2020.
- MEIRELES, C. DA S. et al. Characterization of asymmetric membranes of cellulose acetate from biomass: Newspaper and mango seed. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, n. 3, p. 954–961, 2010.
- MEOR MOHD AFFANDI, M. M. R.; TRIPATHY, M.; MAJEED, A. B. A. Solubility enhancement of simvastatin and atorvastatin by arginine: Molecular dynamics and related solution chemistry using viscometric analysis. **Journal of Molecular Liquids**, v. 223, p. 1093–1099, 2016.
- MICHELON, M.; LEOPÉRCIO, B. C.; CARVALHO, M. S. Microfluidic production of aqueous suspensions of gellan-based microcapsules containing hydrophobic compounds. **Chemical Engineering Science**, v. 211, p. 115314, 2020.
- MOHNING, M. P. et al. Phagocytosis of microparticles by alveolar macrophages during acute lung injury requires merTK. **American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 31
- NESTERENKO, A. et al. Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. **Industrial Crops and Products**, v. 42, n. 1, p. 469–479, 2013.4, n. 1, p. L69–L82, 2013
- NAIK, J. B. et al. Development of sustained release micro/nano particles using different solvent emulsification techniques: A review. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v. 3, n. 4, p. 573–590, 2012.
- OLIVEIRA, E. E. 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.
- PANDELE, A. M. et al. Cellulose acetate membranes functionalized with resveratrol by covalent immobilization for improved osseointegration. **Applied Surface Science**, v. 438, p. 2–13, 2018.
- PANG, L. et al. Cellulose based materials for controlled release formulations of agrochemicals: A review of modifications and applications. **Journal of Controlled Release**, v. 316, n. November, p. 105–115, 2019.
- PARHI, R.; PADILAM, S. In vitro permeation and stability studies on developed drug-in-adhesive transdermal patch of simvastatin. **Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University**, v. 56, n. 1, p. 26–33, 2018.
- PAULO, F.; SANTOS, L. Inclusion of hydroxytyrosol in ethyl cellulose microparticles: In vitro release studies under digestion conditions. **Food Hydrocolloids**, v. 84, n. June, p. 104–116, 2018.
- PENG, H. Y. et al. Mesoscale regulation of droplet templates to tailor microparticle structures and functions. **Particuology**, 2019.
- PEREIRA, M. R. 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.

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/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 43, n. 4, p. 491–502, 2007.

PRAJAPATI, S. K. et al. Biodegradable polymers and constructs: A novel approach in drug delivery. **European Polymer Journal**, v. 120, n. August, p. 109191, 2019.

QI, J. et al. Development and blood compatibility assessment of electrospun polyvinyl alcohol blended with metallocene polyethylene and plectranthus amboinicus (PVA/mPE/PA) for bone tissue engineering. **International Journal of Nanomedicine**, v. 13, p. 2777–2788, 2018.

QIAO, F. et al. Silk fibroin-coated PLGA dimpled microspheres for retarded release of simvastatin. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 158, p. 112–118, 2017.

RAY, K. K. et al. Pharmacological lipid-modification therapies for prevention of ischaemic heart disease: current and future options. **The Lancet**, v. 394, n. 10199, p. 697–708, 2019.

REYES, J.; PERALTA-ZAMORA, P.; DURÁN, N. Hidrólise enzimática de casca de arroz utilizando-se celulases. Efeito de tratamentos químicos e fotoquímicos. **Química Nova**, v. 21, n. 2, p. 140–143, 1998

RIBEIRO, R. A. et al. Cost-effectiveness of high, moderate and low-dose statins in the prevention of vascular events in the Brazilian public health system. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 104, n. 1, p. 32–43, 2015.

RIZVI, S. Z. H. et al. Simvastatin-loaded solid lipid nanoparticles for enhanced anti-hyperlipidemic activity in hyperlipidemia animal model. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 560, n. February, p. 136–143, 2019.

ROSENDO, A. B. et al. Farmacogenética e efeito antiinflamatório dos inibidores da HMG-CoA redutase. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 51, n. 4, p. 520–525, 2007.

RONE, M. B.; FAN, J.; PAPADOPOULOS, V. Cholesterol transport in steroid biosynthesis: Role of protein-protein interactions and implications in disease states. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1791, n. 7, p. 646–658, 2009.

SALAÜN, F. et al. Influence of the solvent on the microencapsulation of an hydrated salt. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n. 4, p. 964–974, 2010.

SANTOS, A. C. G. **Micropartículas de triacetato de celulose obtido a partir da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller)**. 2016, 46 f. Trabalho de conclusão (Bacharel em Farmácia)—Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2016.

SARIISIK, E. et al. Interaction of the cholesterol reducing agent simvastatin with zwitterionic DPPC and charged DPPG phospholipid membranes. **Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes**, v. 1861, n. 4, p. 810–818, 2019.

SARWAR, M. B. et al. De novo assembly of *Agave sisalana* transcriptome in response to drought stress provides insight into the tolerance mechanisms. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–14, 2019.

- SEVERINO, P. et al. Polímeros Sintéticos biodegradáveis: Matérias-primas e métodos de produção de micropartículas para uso em drug delivery e liberação controlada. **Polimeros**, v. 21, n. 4, p. 286–292, 2011.
- SHABAN, M. et al. Chemical Engineering & Processing : Process Intensification Anti-biofouling of 2-acrylamido-2-methylpropane sulfonic acid grafted cellulose acetate membranes used for water desalination. **Chemical Engineering & Processing: Process Intensification**, v. 149, n. January, p. 107857, 2020.
- SHARMA, P. et al. Impact of solid carriers and spray drying on pre/post-compression properties, dissolution rate and bioavailability of solid self-nanoemulsifying drug delivery system loaded with simvastatin. **Powder Technology**, v. 338, p. 836–846, 2018.
- SOLANKI, P. et al. Camptothecin encapsulated into functionalized MCM-41: In vitro release study, cytotoxicity and kinetics. **Materials Science and Engineering C**, v. 98, n. January, p. 1014–1021, 2019
- SILVA, A. K. A. et al. Synthesis and characterization of xylan-coated magnetite microparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 334, n. 1–2, p. 42–47, 2007.
- SILVA, O. R.R.F.; COUTINHO, W. M.; CARTAXO, W. V.; SOFIATTI, V.; SILVA FILHO, J. P. L.; CARVALHO, O. S.; COSTA, L. B. **Cultivo do sisal no nordeste brasileiro**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2008. 24 p. (Circular Técnica, 123).
- SUR, S. et al. Recent developments in functionalized polymer nanoparticles for efficient drug delivery system. **Nano-Structures and Nano-Objects**, v. 20, p. 100397, 2019.
- TAVARES, M. T. et al. ENTENDENDO O PROCESSO QUÍMICO DE BIOATIVAÇÃO DA SINVASTATINA POR MÉTODOS EXPERIMENTAIS E COMPUTACIONAIS: UMA AULA PRÁTICA. **Quimica Nova**, v. 39, n. 4, p. 502–506, 2016.
- THOMPSON, G. R.; NAOUMOVA, R. P.; WATTS, G. F. Role of cholesterol in regulating apolipoprotein B secretion by the liver. **Journal of Lipid Research**, v. 37, n. 3, p. 439–447, 1996.
- THE MERCK INDEX. The Royal Society of Chemistry, Fifteenth, 2013.
- VARGAS, M. R. W. **Dispersões sólidas de sinvastina**: preparação, caracterização, no estado sólido utilizando técnicas emergentes e estudo de estabilidade. 2014. 124 f. Tese (Doutorado em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos)–Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2014
- VANJERI, V. N. et al. Thermal and tensile properties study of 4-Hydroxycoumarin doped Polyvinyl alcohol/Chitosan blend films. **Chemical Data Collections**, v. 23, p. 100257, 2019.
- VIEGAS, C.; SILVA BOLZANI, V.; BARREIRO, E. J. OS produtos naturais e a química medicinal moderna. **Quimica Nova**, v. 29, n. 2, p. 326–337, 2006.
- WAN DAUD, W. R.; DJUNED, F. M. Cellulose acetate from oil palm empty fruit bunch via a one step heterogeneous acetylation. **Carbohydrate Polymers**, v. 132, p. 252–260, 2015.
- WANG, J. et al. PVA/CS and PVA/CS/Fe gel beads' synthesis mechanism and their performance in cultivating anaerobic granular sludge. **Chemosphere**, v. 219, p. 130–139, 2019.

- WEBBER, V. et al. Preparation and characterization of microparticles of β -cyclodextrin/glutathione and chitosan/glutathione obtained by spray-drying. **Food Research International**, v. 105, n. July 2017, p. 432–439, 2018.
- WAKE, M. et al. Adherence and persistence to hyperlipidemia medications in patients with atherosclerotic cardiovascular disease and those with diabetes mellitus based on administrative claims data in Japan. **Atherosclerosis**, v. 282, n. September 2018, p. 19–28, 2019
- WU, J. et al. Mechanism of a long-term controlled drug release system based on simple blended electrospun fibers. **Journal of Controlled Release**, 2020
- XAVIER, H. et al. V Brazilian Guidelines of dyslipidemias prevention of atherosclerosis. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 101, n. 4, p. 1–22, 2013.
- XU, D. et al. PAQR3 modulates cholesterol homeostasis by anchoring Scap/SREBP complex to the Golgi apparatus. **Nature Communications**, v. 6, p. 1–15, 2015.
- YASAEI, M. et al. Synthesis and characterization of ZnAl-NO₃ (-CO₃) layered double hydroxide: A novel structure for intercalation and release of simvastatin. **Applied Surface Science**, v. 467–468, n. June 2018, p. 782–791, 2019.
- YE, Q.; WOO, M. W.; SELOMULYA, C. Modification of molecular conformation of spray-dried whey protein microparticles improving digestibility and release characteristics. **Food Chemistry**, v. 280, n. December 2018, p. 255–261, 2019.
- YOSHINARI, M. et al. Controlled release of simvastatin acid using cyclodextrin inclusion system. **Dental Materials Journal**, v. 26, n. 3, p. 451–456, 2007.
- ZAMAN, A. et al. Preparation, Properties, and Applications of Natural Cellulosic Aerogels: A Review. **Energy and Built Environment**, p. 0–40, 2019.
- ZHANG, M. et al. Controllable microfluidic strategies for fabricating microparticles using emulsions as templates. **Particuology**, v. 24, p. 18–31, 2016