



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) **BR 102016030051-7 A2**

(22) **Data do Depósito:** 20/12/2016

(43) **Data da Publicação:** 17/07/2018



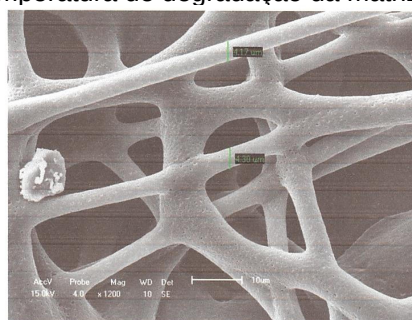
(54) Título: TAPETES POLIMÉRICOS MICROFIBRILARES BIODEGRADÁVEIS RADIOESTERILIZÁVEIS COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE AMINOÁCIDOS E VITAMINAS PARA SUPLEMENTAÇÃO NUTRICIONAL

(51) Int. Cl.: A61K 47/10; A61K 47/14

(73) Titular(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO, UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO (UFRPE)

(72) Inventor(es): PATRÍCIA LOPES BARROS DE ARAÚJO; ELMO SILVANO DE ARAÚJO; INGRID SUELY MELO DE LIMA

(57) Resumo: TAPETES POLIMÉRICOS MICROFIBRILARES BIODEGRADÁVEIS RADIOESTERILIZÁVEIS COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE AMINOÁCIDOS E VITAMINAS PARA SUPLEMENTAÇÃO NUTRICIONAL. O dispositivo microfibrilar radiosterilizável reivindicado no relatório, tem por finalidade a liberação controlada de vitaminas do complexo B e aminoácidos essenciais, sendo trabalhado com as vitaminas B2, B5 e B9 e os aminoácidos L-fenilalanina e L-histidina. As fibras têm como público alvo prisioneiros de guerras, pacientes com graves distúrbios metabólicos e países com baixo índice nutricional. Em foco no desenvolvimento desse dispositivo foram realizados determinados métodos, tais como as imagens por microscopia eletrônica de varredura, indicando a presença de fibras em escala micrométrica; a difratometria de raio-X, que confirmou as interações cristalinas e indicou o grau de cristalinidade. Sendo realizados também o DSC por meio da variação de entalpia de fusão, fornecendo dados de apoio a determinação do grau de cristalinidade de cada fibra, e análises térmicas TGA, em que as substâncias bioativas adicionadas não alteraram a temperatura de degradação da matriz (...)



TAPETES POLIMÉRICOS MICROFIBRILARES BIODEGRADÁVEIS
RADIOESTERILIZÁVEIS COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA
DE AMINOÁCIDOS E VITAMINAS PARA SUPLEMENTAÇÃO NUTRICIONAL

[001] O relatório presente revela um dispositivo fibrilar em escala micrométrica, constituído por polímeros hidrofílicos e hidrofóbicos em diversas proporções. Este dispositivo tem por aplicação a liberação controlada de vitaminas hidrossolúvel e/ou aminoácidos, seja por via cutânea, subcutânea ou oral

[002] O produto, com aspecto de tapete formado por fibras, contém uma ou mais micronutrientes, cuja liberação pode ser modulada conforme a proporção utilizada entre os polímeros e a carga ativa. Os diâmetros das fibras também são controlados pela proporção entre os componentes do sistema, dentre outros fatores. O material produzido poderá ser utilizado em pesquisas científicas, como também no campo nutricional e farmacêutico para pacientes subnutridos ou com deficiência de micronutrientes.

[003] Fibras em escala nano ou micrométrica pertencem a uma classe de materiais que tem aplicação com alto valor agregado quando comparada às formas convencionais de entrega de drogas. Isto se deve à alta razão entre a área superficial e o peso, a baixa densidade, o volume reduzido e o pequeno tamanho dos poros (HSU et al., 2010; UPPAL et al., 2011). Além disso, a flexibilidade e a morfologia aprimoram o uso do material em relação a outras estruturas, por exemplo, tapetes fibrilares não apresentam a tendência de aglomeração sofridas pelas nano e micropartículas de esférico (ANDRADY, 2008). Outro fator inerente a estruturas fibrilares, sejam organizadas ou aleatórias, é a maior rigidez e alta resistência axial (ZHANG, 2005).

[004] Por causa dessas características, tais materiais vêm sendo aplicados em diversas áreas e produtos, incluindo o uso em biossensores, sistemas de filtração, curativos, vasos sanguíneos artificiais, engenharia de tecidos e sistemas de liberação controlada de cargas ativas (FRIDRIKH et al., 2003; LEE et al., 2009; GARG, BOWLIN, 2011). Como carreadores de

liberação lenta de substâncias bioativas, o dispositivo promove diminuição dos efeitos colaterais, e retarda a degradação indesejável dos componentes bioativos.

[005] Por serem radioesterilizáveis e biocompatíveis, os tapetes fibrilares revelados neste relatório podem ser implantáveis. Esta forma de administração é extremamente vantajosa para pacientes como prisioneiros de guerra, que tendem a desenvolver doenças graves em consequência de avitaminoses crônicas causadas pela má-nutrição severa durante os meses ou mesmo anos de encarceramento (Cohen; Cooper, 1954; Hunt et al., 2008). Outros possíveis candidatos ao uso são os diabéticos e os que recebem quimioterapia, além de ser indicada para países com baixo índice nutricional, em situações extremas (PUCCI et al., 2008).

[006] As microfibras são fabricadas pelo processo de eletrofiação (*electrospining*). A técnica é a mais empregada para síntese de nano e microfibras, é um processo simples, de fácil manipulação, de produção de grande quantidade de fibras ultrafinas e de baixo custo (ZHOU et al., 2010; COSTA et al., 2012). De acordo com Taylor (1964), a eletrofiação consiste na deposição de fibras poliméricas em uma placa coletora, empregando uma força eletrostática através da introdução de uma solução polimérica em um alto campo elétrico, da ordem de KV.

[007] O sistema possui uma seringa contendo a solução polimérica acoplada a uma agulha conectada a uma fonte contínua de alta tensão, e uma placa coletora aterrada. O fluxo da solução através da agulha é regulado por uma bomba de infusão acoplada à seringa. A fonte de alta tensão produz um excesso de carga positiva sobre a ponta da agulha e um excesso de carga negativa se acumula sobre a placa coletora. A agulha e a placa carregadas criarão um campo eletromagnético em direção à placa coletora, que exerce força eletrostática sobre qualquer material que esteja carregado no interior da câmara (RAMAKRISHNA et al., 2005). A carga na ponta da agulha em excesso induzirá cargas na solução polimérica que se movimentará em direção

à placa coletora. A solução perde rapidamente o solvente por vaporização e o polímero se deposita sobre a placa coletora em forma de fios finos (SCHUEREN et al, 2010).

[008] Os materiais utilizados para confecção das fibras podem conter copolímeros em blocos, homopolímeros, ou camadas intercaladas de copolímero e homopolímero, além das substâncias bioativas. Os polímeros podem ser hidrofóbicos (Pfob), como, os poliésteres de cadeias lineares e os polímeros hidrofílicos (Pfil), por exemplo, Poli (óxido de etileno), Poli (ácido acrílico), Poli (óxido propileno), Poliacrilamida, dentre outros, dependendo da aplicação planejada.

[009] A modulação da liberação das substâncias bioativas pode ser feito pela variação pela variação nos parâmetros de eletrospinação, tais como, solvente ou mistura de solventes, fluxo do solvente, voltagem aplicada, calibre da agulha, distância entre a agulha e a placa coletora. Além destes fatores, o tipo de substância bioativa carregada nas fibras promove taxas diferentes de liberação.

[010] Outro mecanismo de controle de liberação de fármacos, neste dispositivo, é o uso de camadas intercaladas de microfibras de natureza diferentes. Um exemplo é o uso de uma camada interna de blenda de Pfob e Pfil, recoberta dos dois lados por polímeros Pfob. Esta estrutura em forma de sanduíche de fibras promove liberação inicial extremamente lenta, pois polímeros do tipo poliésteres hidrofóbicos, tais como a PCL ou o PLLA, que se degradam em poucos anos (QIN et al., 2010). Durante o processo de degradação das camadas externas, as camadas internas passam a entrar em contatos os fluidos biológicos e iniciam um processo mais acelerado de liberação.

[011] As substâncias bioativas são cargas inseridas na matriz polimérica, que trarão benefícios ao organismo. Foram escolhidas como modelos vitaminas hidrossolúveis e aminoácidos essenciais. As vitaminas hidrossolúveis foram riboflavina, ácido pantotênico e ácido fólico (Vitaminas B2, B5 e B9). A

riboflavina é precursora das coenzimas participantes da cadeia transportadora de elétrons, tais como a flavina adenina dinucleotídeo (FAD) e a flavina mononucleotídeo (FMN) (SOUZA, 2005). Sua deficiência pode levar a sintomas como paralgesia (insensibilidade à dor), câibras, estomatite angular, queilose (afecção dos lábios), vascularização corneana (olhos vermelhos e com coceira) e dermatose. (FRANCO, 2000; BATISTUZZO, 2006). O ácido pantotênico faz parte da Coenzima A e proteína carreadora do grupo acil (ACP), funcionando como doador ou receptor de prótons e envolvendo-se no metabolismo de ácidos graxos, aminoácidos e carboidratos, na síntese de colesterol, hormônios esteróides, neurotransmissores, porfirinas e hemoglobina (FOX, 1990; BENDER, 1999).

[012] O ácido pantotênico também participa da oxidação de ácidos graxos, piruvato e α -cetoglutarato e responsável pela acetilação de fármacos, por exemplo a sulfadimidina e isoniazida (MITTERMAYR et al., 2004). A deficiência está associada às desordens metabólicas e energéticas (KELLY, 2011). Por fim, o ácido fólico que é fundamental para eritropoiese normal e o processo de multiplicação celular, sendo indispensável à síntese do DNA e consequentemente a divisão celular (WILSON et al., 2007; IYER, TOMAR, 2009). Em caso de deficiência sintomas como anemia megaloblástica, doenças cardiovasculares, trombose venosa, úlceras, infertilidade, feridas e desconfortos na pele e na boca são geralmente observados (COUSSIRAT, 2010).

[013] Os aminoácidos essenciais utilizados como modelos foram a L-fenilalanina e L-histidina. A fenilalanina não é sintetizada no organismo humano, devido ao seu anel aromático (BEHRMAN, 2002; KIM et al., 2004). Essa é importante na síntese de proteínas do organismo, em que uma mínima porção é direcionada diretamente para síntese e a maior parte convertida em outro aminoácido, a tirosina, que além de participar da síntese protéica, será precursora de neurotransmissores e hormônios (CLARK, 2010; GONÇALVES et al., 2010). A deficiência no organismo pode levar a síndrome de abstinência

e *déficit* de desenvolvimento, devido à diminuição dos níveis de tirosina (JORDE et al., 2004). A histidina regula os níveis de metais essenciais, auxilia no desenvolvimento e a manutenção da mielina, constitui a pele, matriz ósseas, ligamentos, órgãos e músculos, e ainda precursora do hormônio histamina (MURRAY, 2003; COX, NELSON, 2006). Possui também propriedades anti-inflamatória e antioxidante. Em caso de deficiência, pode haver diminuição das concentrações plasmáticas de proteínas, incluindo glicoproteína rica em histidina, que por sua vez prejudica a resposta imune (JONES et al., 2005).

[014] A invenção reivindicada tem por finalidade a confecção e caracterização de microfibras poliméricas, biodegradáveis, biocompatíveis, radioesterilizáveis, contendo vitaminas do complexo B e aminoácidos essenciais, cujo os dados relevantes são descritos a seguir.

[015] Os tapetes microfibrilares constituídos por blenda terão aplicação direta no campo nutricional e farmacêutico por apresentar inúmeras vantagens, tais como fabricação simples, de baixo custo, gerando grandes quantidades de fibras ultrafinas, que são biodegradáveis, biocompatíveis e apresenta-se com maior superfície de contato com o meio biológico (ZHOU et al., 2010). Além de diminuir efeitos colaterais e serem direcionadas ao tecido alvo.

[016] O produto reivindicado nesse relatório, os tapetes microfibrilares constituídos por blenda foram obtidos utilizando os aparatos de eletrospinning constituído da bomba de infusão Electrospinning Starting Kit da LINARI, seringa de vidro, conectada a agulhas de calibres variado, placa coletora e uma fonte geradora de tensão. As soluções poliméricas usadas para confecção das fibras foram preparadas pela mistura das massas dos polímeros Poli(ϵ -caprolactona) e Poli(óxido de etileno), nas proporções: 9:1, 7:3, 5:5 e 2:8, com ainda adição de 0,2 a 10% (em massa) da substância bioativa. Os solventes orgânicos utilizados foram clorofórmio, diclorometano e acetona e as soluções poliméricas foram agitadas por períodos de 24 a 72 horas em temperatura ordinária.

[017] Os parâmetros usados para eletrospiação foram: a distância de 5 a 15 cm entre a ponta da agulha e a placa coletora, fluxo de 0,1 a 3,0 mL.h⁻¹, voltagem de 5 a 50 kV, agulhas de calibre 20 a 27 e seringa de 10 mL. O pleno domínio destes parâmetros é o primeiro requisito para se conduzir adequadamente a eletrospiação, pois os mesmos exercem influência sobre a qualidade, a morfologia e o tamanho das fibras obtidas (ARAÚJO, 2016).

[018] A caracterização das microfibras foi realizada por diversos métodos, por exemplos, micrografia eletrônica de varredura (MEV) (JSM 5900 – JEOL, USA), para identificação da morfologia. Difratomia de raios-X (DR-X) (D8 Advanced – BRUKER, Germany) para análise das interações químicas através da estrutura cristalina (CULLYTI, 2001). Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) e Análise Termogravimétrica (TGA) (TGA/DSC 2 STAR[®] System - METTLER-TOLEDO, USA), para avaliar interações entre os componentes do dispositivo e medir a estabilidade térmica das composições. Foi realizado também o teste de degradação hidrolítica *in vitro*, em que os tapetes microfibrilares foram imersos em solução tampão fosfato salina (PBS), pH em torno de 7,4 e temperatura de 37°C. Esse teste foi usado para observar a perda da massa por hidrólise ou lixiviação do material polimérico e/ou pequenas moléculas das substâncias bioativas incorporadas.

[019] Foram determinadas também a taxa de eficiência de incorporação das substâncias bioativas (EI%), e a taxa de liberação dessas substâncias das fibras, por meio de análise quantitativa por espectrometria no UV-Vis de soluções de diálise dos dispositivos, contra solução tampão fosfato salina à temperatura de 37° C em vários períodos. Por fim, as substâncias bioativas foram radioesterilizadas por radiação gama ⁶⁰Co, com doses de 25 kGy (recomendada pela Farmacopeia Brasileira, 2010) e analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Sunfire, water - ALLIANCE e 2695, EUA) para detecção de subprodutos.

[020] As micrografias de eletrônicas de varredura mostraram fibras com diâmetros entre 1 a 10 µm. As fibras carregadas com vitamina B2 ou com

fenilalanina (Figuras 1 e 4 do anexo) apresentaram poros em suas estruturas. As imagens das fibras carregadas com vitamina B5 (Figura 2 do anexo) mostram presença de pérolas (materiais poliméricos aglomerados entre as fibras, com formato esférico) e nas imagens da vitamina B9 e da Histidina (Figuras 3 e 5 do anexo), fibras com superfícies mais lisas.

[021] Os resultados do DR-X demonstraram picos sobrepostos aos dos polímeros PCL e PEO da blenda, conforme a tabela 1 do anexo. O primeiro pico de intensidade discreta foi encontrado em $2\theta = 19,35^\circ \pm 0,11$, sendo associado ao PEO, cuja estrutura é helicoidal e o plano cristalográfico [120] (PEREIRA, 2008). Nessas microfibras carregadas os deslocamentos ocorridos nos ângulos indicam que as cargas promoveram uma microtensão nos cristalitos, ocasionando aumento das distâncias interplanares (KAHN, 2012). Isto, sugere que as cargas no interior da matriz interagiram com os polímeros. O segundo e o terceiro picos são característico da PCL uma estrutura ortorrômbica. O segundo pico apresenta plano cristalográfico [110] e foi determinado em $2\theta = 21,5^\circ \pm 0$, sendo de intensidade forte, o que estabelece uma cristalinidade alta (KOLBUK, 2013). O ângulo foi observado em todas fibras carregadas sem deslocamento. O terceiro pico, de intensidade média, foi identificado em $2\theta = 23,78^\circ \pm 0,03$, com plano cristalográfico [200] e com deslocamento nas fibras contendo as substâncias bioativas (SOLANO, 2013; GONÇALVES, 2015).

[022] As medidas de percentuais de cristalinidade dos dispositivos foram realizadas por DR-X e por DSC. Os resultados de DR-X foram obtidos pelo método de Ruland [1961], uma estimativa do grau de cristalinidade calculada subtraindo a área do halo amorfo, aproximada para uma gaussiana, da “área total” resultando na medida da cristalinidade estimada. Valores altos de cristalinidade apresentam certa dificuldade para biocompatibilidade, pois dificultam a absorção do dispositivo pelo organismo (SHARMA, 1995; FDA, 1996; NEVES, 2002). De acordo com a Tabela 2, o percentual de cristalinidade para as estruturas microfibrilares não-carregados foi em torno de 60% e para

as fibras contendo vitaminas, a cristalinidade variou entre 69 a 78%, enquanto para as que contêm aminoácidos, foi em torno de 75%.

[023] O grau de cristalinidade calculado por DSC, através da variação da entalpia de fusão cristalina, mostram resultados semelhantes aos encontrados no DR-X. A cristalinidade foi maior para as fibras com aminoácidos. Em relação à blenda, o grau de cristalinidade foi inferior nas fibras com as vitaminas B5 e B9, dados na Tabela 1. As análises termogravimétricas (Tabela 2) apresentaram temperatura de início de decomposição térmica (T_i) entre 386° a 394° C, valores próximos ao da blenda sem aditivos, que mostrou $T_i = 392^\circ$ (para referência, variações de até 10° C nesse valor são consideradas dentro do erro instrumental do aparelho TGA/DSC 2SF – METTLER TOLEDO). A temperatura de máxima taxa de degradação ($T_{m\acute{a}x}$) (Tabela 3) das fibras contendo as substâncias bioativas variou entre 411° e 413° C, as quais comparando com as microfibras não-carregadas pode-se observar que não promoveram nenhuma alteração considerável, visto que a $T_{m\acute{a}x}$ foi de 412° C. Assim, a presença das cargas não diminuiu a estabilidade das matrizes poliméricas utilizadas na confecção dos tapetes microfibrilares.

[024] Na degradação hidrolítica os tapetes microfibrilares não-carregados demonstraram menos perda de massa, quando comparado com os carregados (Figura 6). Para ambos tapetes microfibrilares a taxa de perda de massa foi mais acentuada no período de 10 dias, principalmente nos 5 primeiros dias, o que foi relacionado com a lixiviação da parte hidrofílica da blenda. Entre as fibras contendo as substâncias bioativas, as fibras com a vitamina B5 demonstraram maior percentual de perda massa, em torno de 14%, enquanto que a carregada com vitamina B2 apresentou a menor perda, cerca de 7%

[025] Em relação ao percentual de incorporação das cargas bioativas nos tapetes microfibrilares todas apresentaram acima de 95%, (Tabela 4). Na liberação *in vitro*, a vitamina B5 apresentou maior taxa de liberação entre as vitaminas, sendo cerca de 35% liberados em 30 dias (Figura 7). De acordo com

Ball (2004) e Kelly (2011) a vitamina B5 pode vim interferir na hidrofiliçidade da matriz, porque qualquer alteração no pH faz com que ocorra lixiviação da vitamina, visto que a liberação de poliéster no meio vem acidifica-lo. Entre os aminoácidos a L-Histidina, também apresentou uma alta taxa de liberação, próximo a 75% no período de 30 dias.

[026] A quantidade diária das substâncias bioativas liberadas foram em torno de 0,03 mg/dia para vitamina B2, 0,5 mg/dia para vitamina B5 e 0,3 mg/dia para vitamina B9. Para os aminoácidos a doses foram de 0,13 a 0,02 mg/dia para L-fenilalanina e 1,5 a 0,1 mg/dia para L-histidina. As doses diárias foram obtidas a partir de 2 g de blenda, carregadas com 26 mg das substâncias bioativas. Essas doses foram inferiores as recomendadas que são de 1,6, 6, 0,4, 100 e 150 mg/dia, para vitaminas B2, B5, B9, L-fenilalanina e L-histidina, respectivamente (BATISTUZZO, 2006; SILVA, 2013). A utilização dessas quantidades foi apenas para teste, com resultados positivos para aplicação futura com doses diárias recomendadas e uso dual.

[027] Foram realizados experimentos de irradiação em dose de esterilização, 25 kGy, tendo como modelo a vitamina B2 e B9 e o aminoácido L-fenilalanina. Análises de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), não evidenciaram a presença de subprodutos de radiólise nas amostras irradiadas (Figuras 8, 9 e 10, respectivamente). Estes resultados indicam que as substâncias bioativas apresentam boa estabilidade radiolítica em doses equivalentes à dose padrão de radioesterilização.

[028] Os dispositivos microfibrilares apresentados neste relatório são capazes de incorporar mais de 95% das cargas bioativas e tendem a liberar menos de 40% das vitaminas e 10% da L-fenilalanina em um período de 30 dias. Além de poderem ser radioesterilizados por radiação gama, dose 25 kGy. Esses resultados corroboram para o dispositivo de liberação controlada com finalidades nutricionais, em que pacientes venha necessitar de tratamento a longo prazo, visto que a maioria das cargas bioativas são liberadas lentamente.

[029] Lista de referência bibliográficas

[030] ANDRADY, A. L. **Science and technology of polymer nanofibers**, New York: John Wiley & Sons, 2008.

[031] ARAÚJO, P.L.B; ARAÚJO, E.S; SILVA, K.A; LIMA, I.S.M; GONÇALVES, N.A. Nano ou microfibras poliméricas biodegradáveis para liberação controlada de fármacos. **BR1020160142865**, 2016.

[032] BALL, G.F.M. Vitamins: Their Role in the Human Body. **Blackwell Publishing**. London, 2004.

[033] BATISTUZZO, J. A. O. Formulário Médico Farmacêutico. 3ªed. São Paulo: **Pharmabooks**, 2006.

[034] BEHRMAN, Richard E; KLIERGMAN, Robert M.; JENSON, Hal B. **Tratado de Pediatria**. 16. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 2353, 2002.

[035] BENDER, D.A. Optimum nutrition: thiamin, biotin and pantothenate. **Proc. Nutr. Soc.**, v. 58, p.427-433, 1999.

[036] CLARK, H. L. M. Remoção de fenilalanina por adsorvente produzido a partir da torta prensada de grãos defeituosos de café. **Dissertação de mestrado**. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, Brasil, 2010.

[037] COHEN B, COOPER M. A. Follow-Up Study of World War II Prisoners of War. **VA Medical Monograph**. p. 1-81, 1954.

[038] COSTA, R. G. F. et al. Eletrofiação de Polímeros em Solução. Parte I: Fundamentação Teórica. **Revista Polímeros**, v. 22, n. 2, p. 170-177, 2012.

[039] COUSSIRAT, C. Prevalência de deficiência de vitamina b12 e ácido fólico e sua associação com anemia em idosos atendidos em um hospital universitário. 2010. **Dissertação** (Mestre em Gerontologia Biomédica) Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

[040] COX, M.M., NELSON, D.L. Lehninger principles of biochemistry. 4ª ed. Omega, 2006.

[041] CULLITY, B. D.; STOCK, S. R. Elements of X-ray diffraction. Prentice-Hall: NJ, 3. ed., 2001.

[042] FOOD E DRUG ADMINISTRATION, 1996. Guidance Document for Testing Biodegradable Polymer Implant Devices. <http://www.fda.gov/medicaldevices/deviceregulationandguidance/guidancedocuments/ucm080265.htm> Acessado no dia 08 de novembro de 2016 as 21h.

[043] FOX, H.M. Pantothenic acid. In: MACHLIN, J. **Handbook of Vitamins**. 2.ed. New York: Marcel Dekker, cap.11, p.437-458, 1990.

[044] FRANCO. G, Tabela de Composição Química dos Alimentos, 9ª edição, editora Ateneu, 2000.

[045] FRIDRIKH, V., YU, J. H., P.BRENNER, M., RUTLEDGE G. C. **Physical Review Letters**, v. 90, id. 144502, 2003.

[046] GARG, K.; BOWLIN, G. L. **Biomicrofluidics**, v. 5, p. 013-403, 2011.

[047] GONÇALVES, V.S.S., FERREIRA T.R.A.S, VALADARES, B.L.B. **Rev. Simbio-Logias**, v.3, n.5, 2010.

[048] GONÇALVES, N.A. **Nanofibras de poli(ε-caprolactona) e poli(óxido de etileno): fabricação pela técnica de eletrofiação e efeitos radiolíticos**. 2015. Dissertação (em Tecnologias Energéticas e Nucleares) – Universidade Federal de Pernambuco.

[049] HSU, F., HUNG, Y., LIOU, H., SHEN, C., **Acta Biomaterialia**, v. 6, p. 2140-2147, 2010.

[050] IONASHIRO, M., ROCCO, J. A. F. F., LIMA, J. E. S. A., FRUTUOSO, G., IHA, K, MATOS, J. R., SUÁREZ-IHA, M. E. V.

Thermal degradation of a composite solid propellant examined by DSC. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 75, n. 2, p. 551–557, 2004.

[051] IYER, R., TOMAR, S.K., Folate: A functional food constituent. **J Food Sci.**, v. 74, n. 9, p.114-22, 2009.

[052] JONES, A.L., HULETT, M.D., PARISH, C.R. Histidine-rich glycoprotein: A novel adaptor protein in plasma that modulates the immune, vascular and coagulation systems. **Immunology and Cell Biology**, v. 83, p. 106–118, 2005.

[053] JORDE, L.B.; CAREY, J.C.; BAMSHAD, M.J.; WHITE, R.L. Genética Médica. Rio de Janeiro: **Elsevier**, p. 415, 2004.

[054] KAHN, H; ANTONIASSI, J; SHIMIZU, V; JULIANA, D. Copper ore type definition from Sossego Mine using X-ray diffraction and cluster analysis technique . · **REM: R. Esc. Minas, Ouro Preto**, v. 65(4), p. 561-566, 2012.

[055] KELLY, G.S. Pantothenic Acid Monograph. **Altern Med Rev.**, v. 16, n. 3, 2011.

[056] KIM, W., ERLANDSEN, H., SURENDRAN, S., STEVENS, R. C., GAMEZ, A., MICHOLS-MATALON, K., TYRING, S. K., MATALON, R. Trends in Enzyme Therapy for Phenylketonuria. **Molecular Therapy**, v.10, p.220-224, 2004.

[057] KOŁBUK, D.; SAJKIEWICZ, P.; K. MANIURA-WEBER, K.; FORTUNATO, G. Structure and morphology of electrospun polycaprolactone/gelatine nanofibres. **European Polymer Journal**, v. 49, p. 2052–2061, 2013.

[058] LEE, J. Y., BASHUR, C. A., GOLDSTEIN, A. S., SCHMIDT, C. E. Polypyrrole-coated electrospun PLGA nanofibers for neural tissue applications. **Biomaterials**, v. 30, n. 26, p. 4325-4335, 2009.

[059] LI, Y-F.; RUBERT, M.; ASLAN, H.; YU, Y.; HOWARD, K.A.; DONG, M.; BESENBACHER, F.; CHEN, M. Ultraporous interweaving electrospun

microfibers from PCL–PEO binary blends and their inflammatory responses. **Nanoscale**, v. 6, p.3392–3402, 2014.

[060] MEDIDINANET, 26-09-2014.
<http://www.medicinanet.com.br/bula/2194/endofolin.htm>. Acessado no dia 28 de setembro de 2016 às 23:45.

[061] MITTERMAYR, R.; KALMAN, A.; TRISCONI, M.J.; HEUDI, O. Determination of vitamin B5 in a range of fortified food products by reversed-phase liquid chromatography-mass spectrometry with electrospray ionisation. **J. Chromatogr. A**, v.1032, p.1-6, 2004.

[062] MURRAY, R.K., GRANNER, D.K., MAYER, P.A., RODWELL, V.W., Harper's Illustrated Biochemistry, 26th Ed., **McGraw-Hill Medical**, New York, p. 14-60, 2003.

[063] NEVES, E. **Obtenção de material Vitrocerâmico a partir de cinza pesada de carvão mineral**. 2002. Tese (Em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Santa Catarina.

[064] PUCCI, N.D.; FONTES, B.; POGGETTI, R.S. Avaliação de um esquema de realimentação utilizado após 43 dias de jejum voluntário. **Rev. Nutr.**, v. 21, n. 5, p. 503-512, 2008.

[065] QIN, L.; QIU, J.; LIU, M.; DING, D.; SHAO, L.; LÜ, S.; ZHANG, G.; ZHAO, Y.; FU, X. Mechanical and thermal properties of poly(lactic acid) composites with rice straw fiber modified by poly(butyl acrylate). *Chemical Engineering Journal*, 2010.

[066] RAMAKRISHNA, S., FUGIHARA, K., TEO, W.E., LIM, T.C., MA, Z. An Introduction to Electrospinning and nanofibers. **World Scientific**, 2005.

[067] STEPHEN C. HUNT, S. C., ORSBORN, M., CHECKOWAY, H., BIGGS, M. L., MCFALL, M., TAKARO, T. K. Later Life Disability Status following Incarceration as a Prisoner of War. **Military Medicine**, v. 173, n. 7, p. 613-618, 2008.

[068] SCHUEREN, L.V., MOLLET, T., CEYLAN, Ö., CLERCK, K.D. The development of polyamide 6.6 nanofibres with a pH-sensitive function by electrospinning. **European Polymer Journal**, v. 46, p. 2229–2239, 2010.

[069] RULAND, W., X-ray determination of crystallinity and diffuse disorder scattering, **Acta Crystallogr**, v.14, p.1180, 1961.

[070] SHARMA, R.; RAY, A. R. V.; **Macromol. Chem. Phys.** C35, 327, 1995.

[071] SILL, T.J., RECUM, H. A. Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering. **Biomaterials**, v. 29, p. 1989-2006, 2008.

[072] SILVA, J. W. M. Síndrome da Realimentação. **International Journal of Nutrology**, v.6, n.1, p. 28-35, 2013.

[073] SOUZA, A. C. S. D. et al. Riboflavina: uma vitamina multifuncional. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 887-891, 2005.

[074] TAYLOR, G. I. **Proceedings of the Royal Society of London Series A**, v. 280, p. 383, 1964.

[075] UPPAL R., RAMASWAMY, G. N., ARNOLD, C., GOODBAND, R., WANG, Y., **Journal of Biomedical Materials Research B: Applied Biomaterials**, v. 97B, p. 20-29, 2011.

[076] VIANA, L.A., BURGOS, M.G.P.A., SILVA, R.A. Refeeding syndrome: clinical and nutritional relevance. **Arq Bras Cir Dig**, v. 25, n. 1, p. 56-59, 2012.

[077] WILSON, R.D., JOHNSON, J.A., WYATT, P., ALLEN, V., GAGNON, A., LANGLOIS, S., BLIGHT, C., AUDIBERT, F., DÉSILETS, V., BROCK, J.A., KOREN, G., GOH, Y.I., NGUYEN, P., KAPUR, B. Genetics Committee of the Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada and The Motherrisk Program. Pre-conceptional vitamin/folic acid supplementation 2007: the use of folic acid in combination with a multivitamin supplement for the prevention of neural tube defects and other congenital anomalies. **J Obstet Gynaecol Can.**, v. 29, n.12, p. 1003-26, 2007.

REIVINDICAÇÕES

1. PROCESSO DE ELETROFIÇÃO DOS TAPETES POLIMÉRICOS MICROFIBRILARES BIODEGRADÁVEIS RADIOESTERILIZÁVEIS COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE AMINOÁCIDOS E VITAMINAS PARA SUPLEMENTAÇÃO NUTRICIONAL, visto que a confecção das fibras pelo método de eletrofiação (*electrospinning*) já existe, porém este é caracterizado por:
 - a) Confecção das microfibras pelo método de eletrofiação, com fibras poliméricas PCL/PEO com adição de 0,2 a 10% em massa das vitaminas do complexo B;
 - b) Confecção das microfibras pelo método de eletrofiação, com fibras poliméricas PCL/PEO com adição de 0,2 a 10% em massa dos aminoácidos essenciais;
2. PROCESSO DE ELETROAFIÇÃO DOS TAPETES POLIMÉRICOS MICROFIBRILARES BIODEGRADÁVEIS RADIOESTERILIZÁVEIS COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE AMINOÁCIDOS E VITAMINAS PARA SUPLEMENTAÇÃO NUTRICIONAL; De acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo mesmo procedimento, porém sendo aplicado diretamente para as vitaminas B2, B5 e B9.
3. PROCESSO DE ELETROFIÇÃO DOS TAPETES POLIMÉRICOS MICROFIBRILARES BIODEGRADÁVEIS RADIOESTERILIZÁVEIS COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE AMINOÁCIDOS E VITAMINAS PARA SUPLEMENTAÇÃO NUTRICIONAL; De acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo mesmo procedimento, porém sendo aplicado diretamente para aos aminoácidos essenciais, L-fenilalanina e L-histidina.

4. PROCESSO DE CONFECÇÃO DOS TAPETES POLIMÉRICOS MICROFIBRILARES BIODEGRADÁVEIS RADIOESTERILIZÁVEIS COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE AMINOÁCIDOS E VITAMINAS PARA SUPLEMENTAÇÃO NUTRICIONAL; de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por tapetes microfibrilares carregados por vitamínicos do complexo B e/ou aminoácidos essenciais, radioesterilizáveis por radiação gama ^{60}Co , dose 25 kGy.

ANEXO

Figura 1:

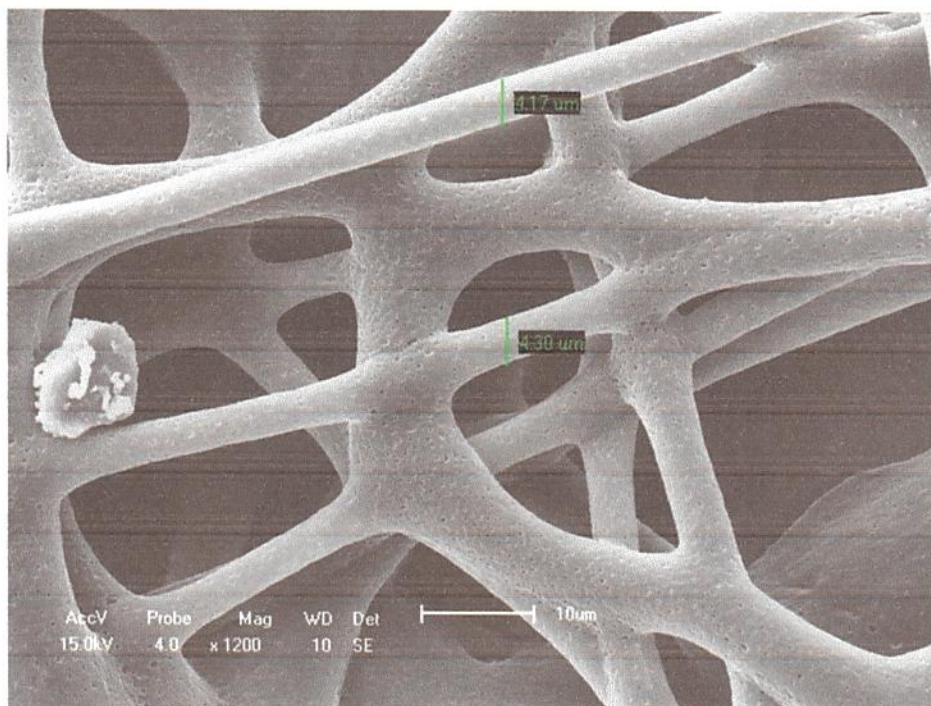


Figura 2:

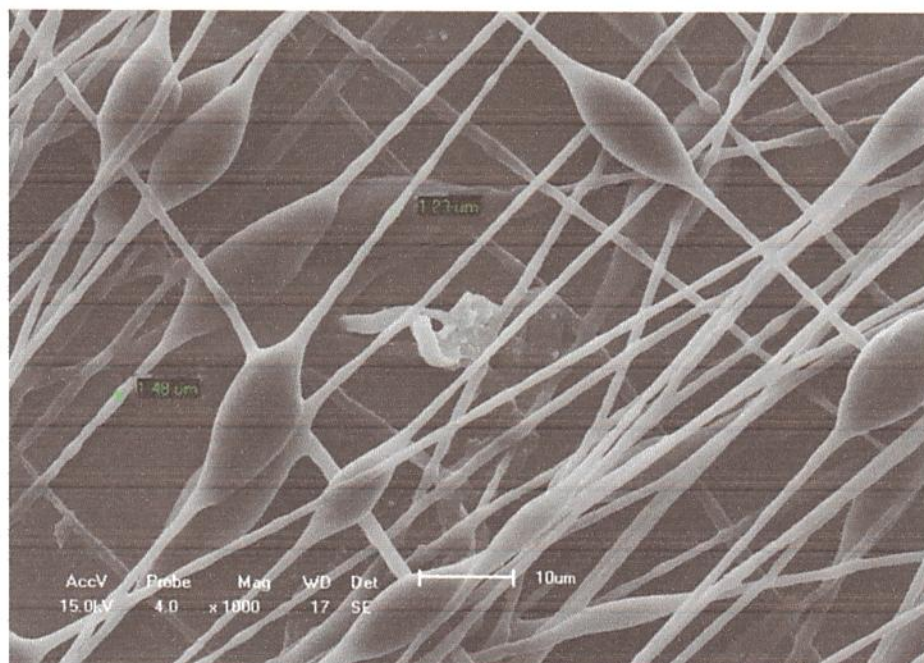


Figura 3:

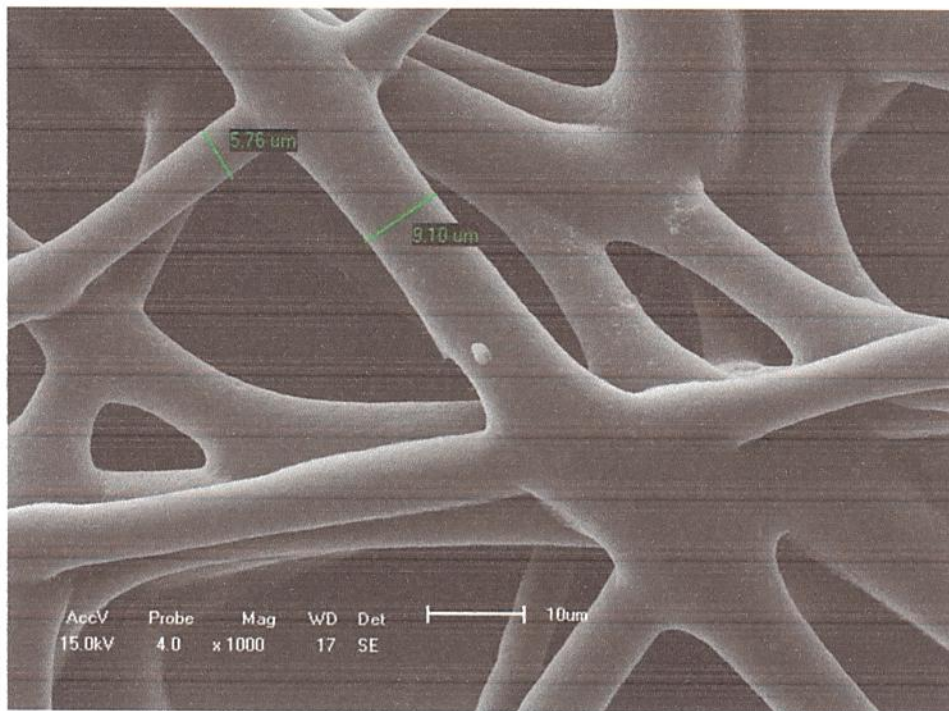


Figura 4:

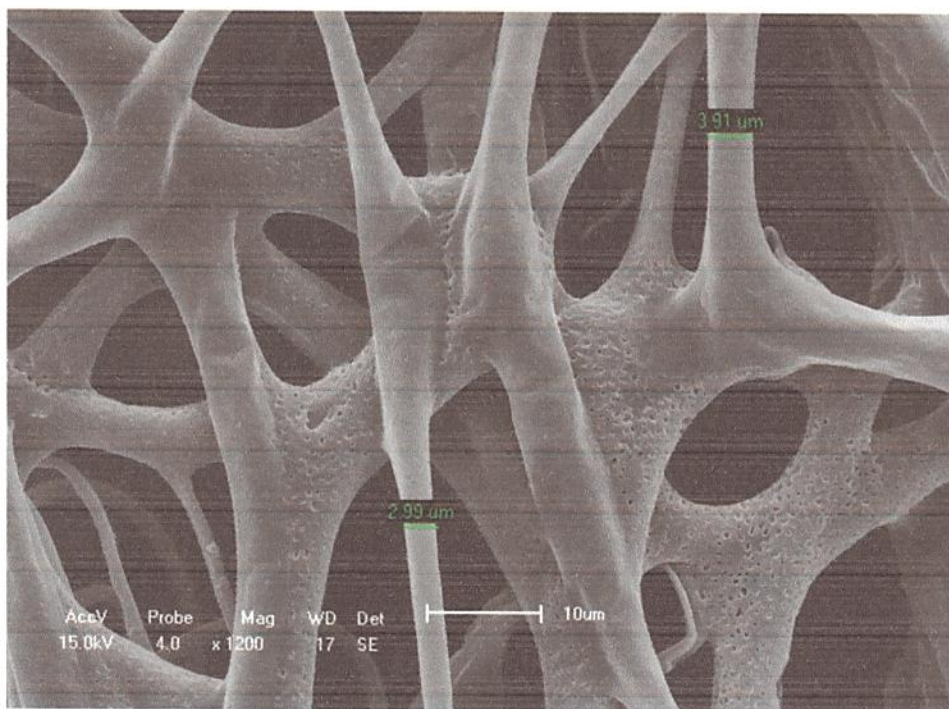


Figura 5:

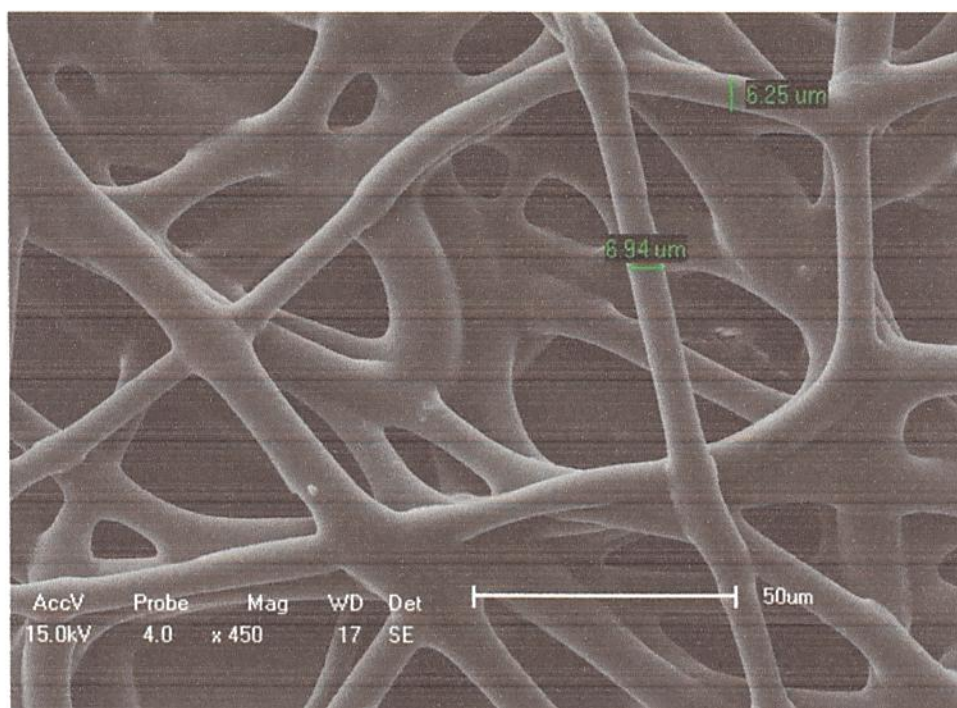


Tabela 1:

ADITIVOS	ÂNGULO DE DIFRAÇÃO (2θ)		
	PCL		PEO
-----	21,5°	23,7°	19,1°
Vitamina B2	21,5°	23,8°	19,5°
Vitamina B5	21,5°	23,8°	19,2°
Vitamina B9	21,5°	23,8°	19,4°
L-Fenilalanina	21,5°	23,8°	19,4°
L-Histidina	21,5°	23,8°	19,2°

Tabela 2:

Fibras	ΔH_f (J.g ⁻¹)	DSC (X%)	DR-X (X%)
PCL/PEO	- 37,49	62	60
PCL/PEO + Vit. B2	- 41,83	67	78
PCL/PEO + Vit. B5	- 33,53	59	69
PCL/PEO + Vit. B9	- 32,23	51	71
PCL/PEO + L-Fenilalanina	- 41,28	66	75
PCL/PEO + L-Histidina	- 50,34	80	71

Tabela 3:

Fibras	T _i (°C)	T _{máx} (°C)	T _f (°C)
PCL/PEO	392	412,31	430
PCL/PEO + Vit. B2	389	411,57	428
PCL/PEO + Vit. B5	390	412,26	430
PCL/PEO + Vit. B9	386	411,20	434
PCL/PEO + L-Fenilalanina	391	413,26	430
PCL/PEO + L-Histidina	394	413,45	434

Figura 6:

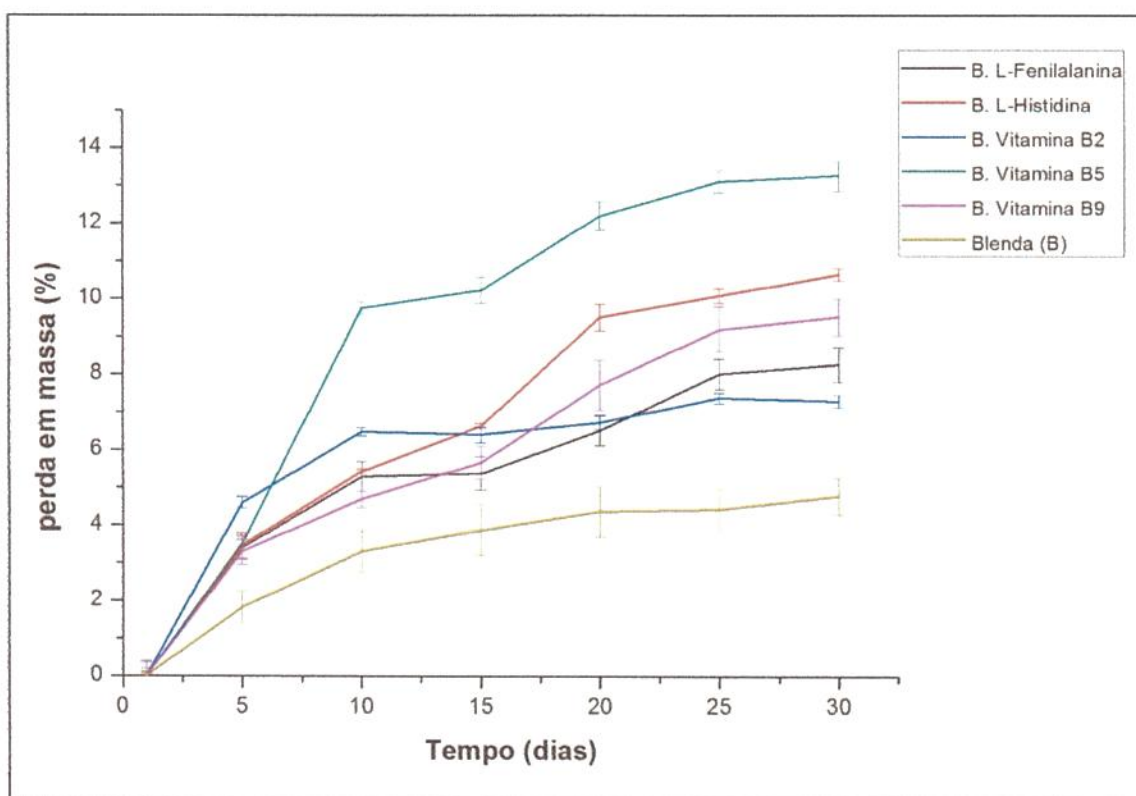


Tabela 4:

Fibras	EI (%)
PCL/PEO + Vit. B2	99,80
PCL/PEO + Vit. B5	98,05
PCL/PEO + Vit. B9	99,33
PCL/PEO + L-Fenilalanina	99,76
PCL/PEO + L-histidina	99,46

Figura 7:

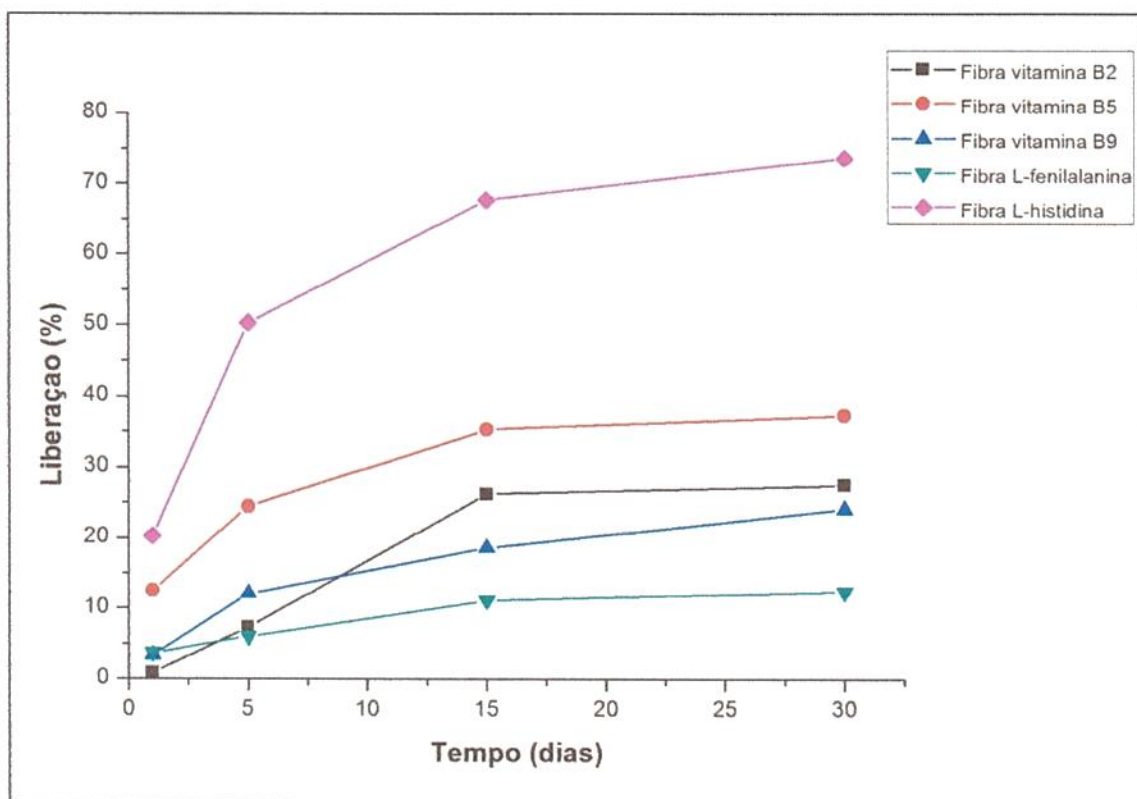


Figura 8:

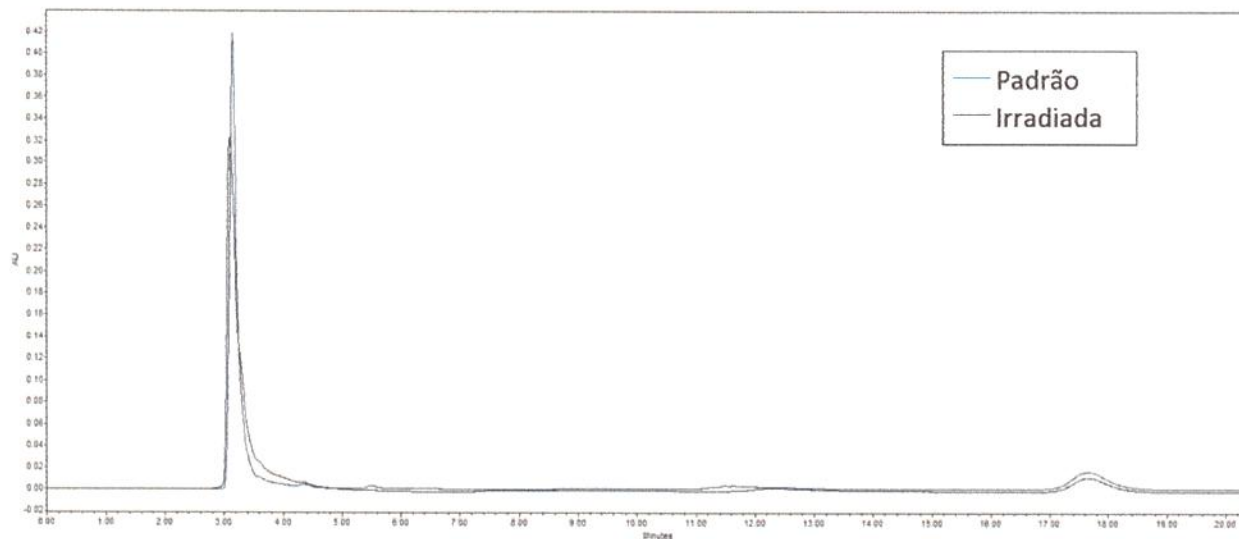


Figura 9:

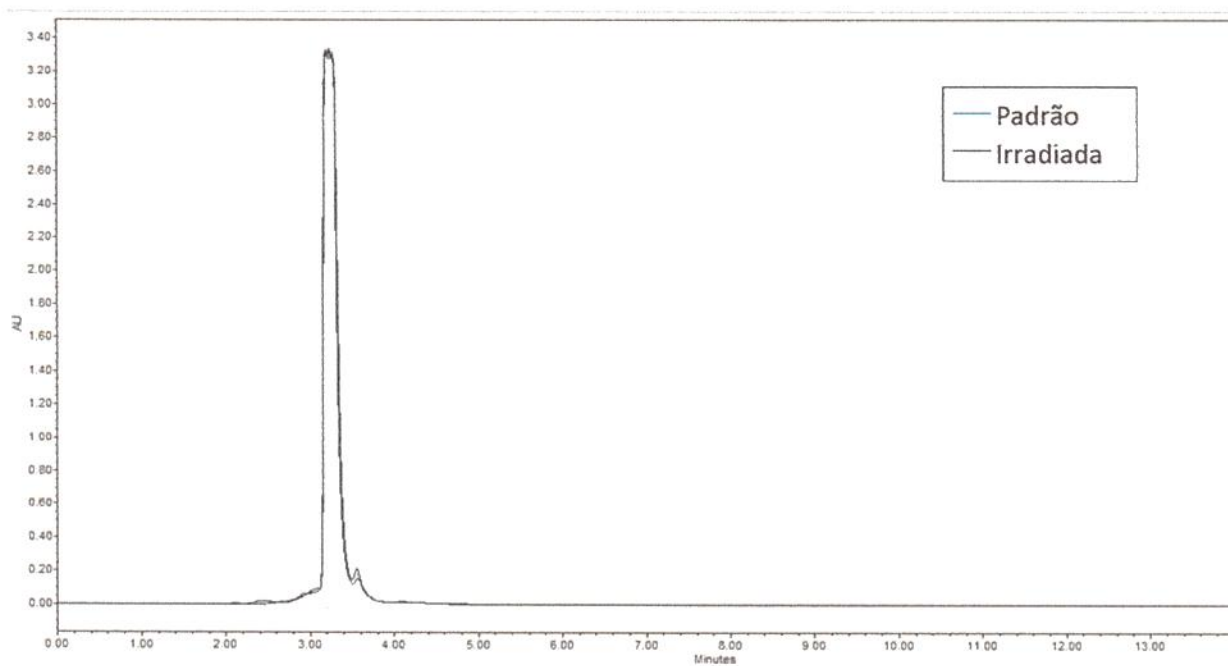
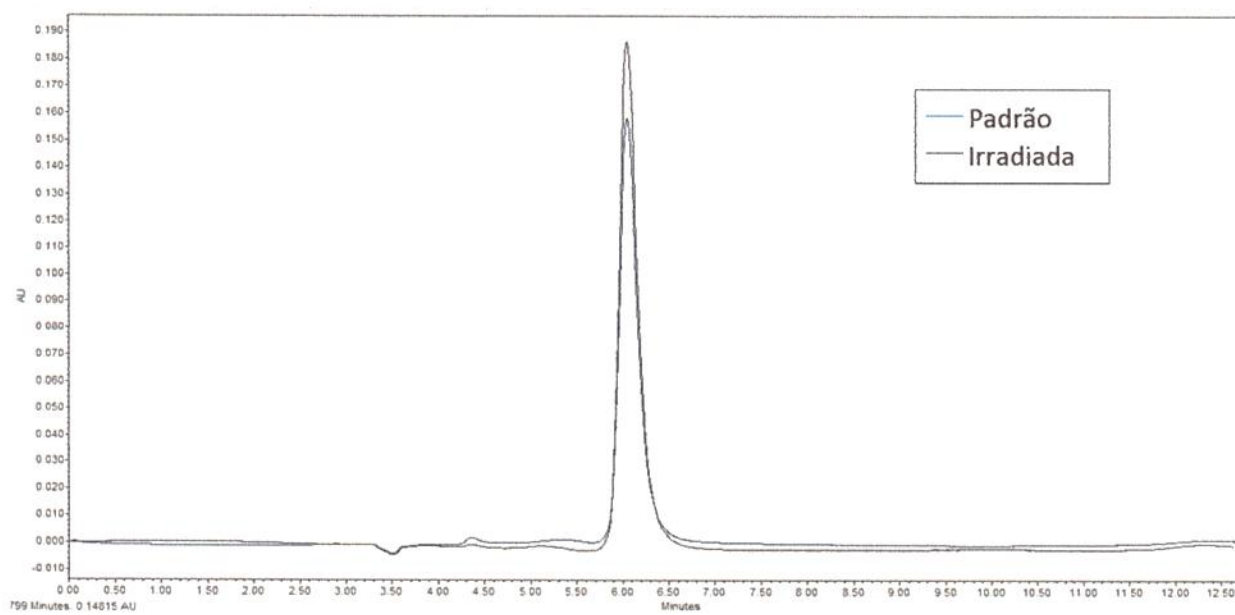


Figura 10:



RESUMO

TAPETES POLIMÉRICOS MICROFIBRILARES BIODEGRADÁVEIS
RADIOESTERILIZÁVEIS COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA
DE AMINOÁCIDOS E VITAMINAS PARA SUPLEMENTAÇÃO NUTRICIONAL

O dispositivo microfibrilar radiosterilizável reivindicado no relatório, tem por finalidade a liberação controlada de vitaminas do complexo B e aminoácidos essenciais, sendo trabalhado com as vitaminas B2, B5 e B9 e os aminoácidos L-fenilalanina e L-histidina. As fibras têm como público alvo prisioneiros de guerras, pacientes com graves distúrbios metabólicos e países com baixo índice nutricional. Em foco no desenvolvimento desse dispositivo foram realizados determinados métodos, tais como as imagens por microscopia eletrônica de varredura, indicando a presença de fibras em escala micrométrica; a difratometria de raio-X, que confirmou as interações cristalinas e indicou o grau de cristalinidade. Sendo realizados também o DSC por meio da variação de entalpia de fusão, fornecendo dados de apoio a determinação do grau de cristalinidade de cada fibra, e análises térmicas TGA, em que as substâncias bioativas adicionadas não alteraram a temperatura de degradação da matriz polimérica. Os resultados dos testes *in vitro* realizados, mostraram lixiviação na matriz polimérica na degradação hidrolítica, principalmente as que continha a vitamina B5; na taxa de liberação das cargas bioativas das fibras, essas retiveram em sua maioria as cargas, como também demonstraram um percentual superior a 95% de eficiência de incorporação. Finalmente, os tapetes microfibrilares radioesterilizados com doses de 25 kGy não apresentaram subprodutos pós radiação gama.