

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PESQUISA E DESENVOLVIMENTO
DE FÁRMACOS E MEDICAMENTOS

***Incorporação de polímeros gastrorresistentes à
sistema multiparticulado
a base de quitosana***

GISELLE FARIA OLIVEIRA

ARARAQUARA
2005

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PESQUISA E DESENVOLVIMENTO
DE FÁRMACOS E MEDICAMENTOS

***Incorporação de polímeros gastroresistentes à
sistema multiparticulado
a base de quitosana***

MESTRANDA: Giselle Faria Oliveira

ORIENTADOR: Prof. Dr. Raul Cesar Evangelista

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre em Ciências Farmacêuticas.

ARARAQUARA - SP
Julho - 2005

Ficha Catalográfica

Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

O48i Oliveira, Giselle Faria
Incorporação de polímeros gastrorresistentes a sistema multiparticulado a base de quitosa. / Giselle Faria Oliveira . – Araraquara, 2005.
159 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas
Orientador: Raul Cesar Evangelista

1. Microencapsulação. 2. Sistema de liberação colônico. Quitosana. Tecnologia farmacêutica. I. Evangelista, raul Cesar, orient. II. Título.

CDD: 615.4

CAPES:40300005

Autor: GISELLE FARIA OLIVEIRA

Título da Dissertação:

**“INCORPORAÇÃO DE POLÍMEROS GASTRORRESISTENTES À
SISTEMA MULTIPARTICULADO A BASE DE QUITOSANA”**

**DISSERTAÇÃO APRESENTADA PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE
MESTRE**

Comissão Examinadora

- 1) Prof. Dr. Raul Cesar Evangelista**
- 2) Prof^a.Dr^a. Ruth Meri Lucinda Silva**
- 3) Prof^a.Dr^a. Ana Dorís de Castro**

Aprovado em 18 de agosto de 2005

Manual de Sobrevida

Depois de algum tempo você ainda é capaz de aprender a diferença, a sutil diferença entre dar a mão e acorrentar uma alma. E você aprende que amar não significa apoiar-se, e que companhia nem sempre significa segurança ou proximidade. E começa aprender que beijos não são contratos, tampouco promessas de amor eterno. Começa a aceitar suas derrotas com a cabeça erguida e olhos radiantes, com a graça de um adulto - e não com a tristeza de uma criança. E aprende a construir todas as suas estradas no hoje, pois o terreno do amanhã é incerto demais para os planos, ao passo que o futuro tem o costume de cair em meio ao vão.

Depois de um tempo você aprende que o sol pode queimar se ficarmos exposto a ele durante muito tempo. E aprende que não importa o quanto você se importe: algumas pessoas simplesmente não se importam... E aceita que não importa o quão boa seja uma pessoa, ela vai feri-lo de vez em quando e, por isto, você precisa estar sempre disposto a pedoá-la.

Aprende que falar pode aliviar dores emocionais. Descobre que se leva um certo tempo para construir confiança e apenas alguns segundos para destruí-la; e que você, em um instante, pode fazer coisas das quais se arrependerá para o resto da vida. Aprende que verdadeiras amizades continuam a crescer mesmo a longas distâncias, e que, de fato, os bons e verdadeiros amigos foi a nossa própria família que nos permitiu conhecer. Aprende que não temos que mudar de amigos: se compreendermos que os amigos mudam (assim como você), perceberá que seu melhor amigo e você podem fazer qualquer coisa, ou até coisa alguma, tendo, assim mesmo, bons momentos juntos.

Descobre que as pessoas com quem você mais se importa na vida são tomadas de você muito cedo, ou muito depressa. Por isso, sempre devemos deixar as pessoas que verdadeiramente amamos com palavras brandas, amorosas, pois cada instante que passa carrega a possibilidade de ser a última vez que as veremos; aprende que as circunstâncias e os ambientes possuem influência sobre nós, mas somente nós somos responsáveis por nós mesmos; começa a compreender que não se deve comparar-se com os outros, mas com o melhor que se pode ser.

Descobre que se leva muito tempo para se tornar a pessoa que se deseja tornar, e que o tempo é curto. Aprende que não importa até o ponto onde já chegamos, mas para onde estamos, de fato, indo - mas, se você não sabe para onde está indo, qualquer lugar servirá.

Aprende que: ou você controla seus atos e temperamento, ou acabará escravo de si mesmo, pois eles acabarão por controlá-lo; e que ser flexível não significa ser fraco ou não ter personalidade, pois não importa o quão delicada ou frágil seja uma situação, sempre existem dois lados a serem considerados, ou analisados.

Aprende que heróis são pessoas que foram suficientemente corajosas para fazer o que era necessário fazer, enfrentando as consequências de seus atos. Aprende que paciência requer muita persistência e prática. Descobre que, algumas vezes, a pessoa que você espera que o chute quando você cai, poderá ser uma das poucas que o ajudará a levantar-se. Aprende que maturidade tem mais a ver com os tipos de experiências que se teve - e o que você foi capaz de aprender com elas -, do que com quantos aniversários você celebrou.

Aprende que há muito mais dos seus pais em você do que você supunha. Aprende que nunca se deve dizer a uma criança que sonhos são bobagens: poucas coisas são tão humilhantes e seria uma tragédia se ela (a criança) acreditasse nisto! Aprende que quando se está com raiva se tem o direito de se estar com raiva, mas isso não nos dá o direito de sermos cruéis...

Descobre que só porque alguém não o ama - do jeito que você deseja ser amado - não significa que esse alguém não o ame com tudo o que pode, pois existem pessoas que nos amam, mas simplesmente não sabem demonstrar (ou vivenciar) o que poderia ser um grande amor.

Descobre que nem sempre é suficiente perdoar ou ser perdoado por alguém: algumas vezes, o mais importante é perdoar a si mesmo. Assim, da mesma forma, não é suficiente amar as pessoas e ser amado por elas: é igualmente fundamental que amemos a nós mesmos! Aprende que com a mesma severidade com que julgamos, em algum momento poderemos ser condenados... Aprende que não importa em quantos pedaços o seu coração foi partido: simplesmente o mundo não irá parar para que você possa consertá-lo.

Aprende que o tempo não é algo que possa voltar atrás. Portanto, plante, você mesmo, seu jardim e decore sua alma - ao invés de esperar eternamente que alguém lhe traga flores. E você aprende que, realmente, tudo pode suportar; que realmente é forte e que pode ir muito mais longe - mesmo após ter pensado não ser capaz. E que realmente a vida tem seu valor, e, você, o seu próprio e inquestionável valor perante a vida.

William Shakespeare

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Às pessoas especiais que a vida me concedeu:

Ao meu marido André, por seu apoio, carinho, incentivo que permitiram que eu continuasse este trabalho e principalmente por tudo o que você é e significa para mim.

Aos meus filhos, Felipe e Ana Luiza, que são o que faz tudo valer a pena, agradeço sempre pelo privilégio de ter vocês em minha vida.

Aos meus avós Olga e Armando (em memória), pelo carinho, cuidado, apoio, por tudo e principalmente por sempre acreditarem e torcerem por mim.

Aos meus pais, Luiz Antônio e Olga, pelo carinho, por terem despertado em mim o interesse pela pesquisa científica, e principalmente, pelo apoio incondicional e incentivo em todos os momentos da minha vida.

Aos meus irmãos, Ricardo e Alexandre, pelo carinho, apoio, amizade e companheirismo.

Aos meus sogros, Vera e Eduardo, pelo carinho, compreensão e, sobretudo pela ajuda e apoio o que foi essencial para que eu pudesse terminar este trabalho.

AGRADECIMENTOS

A elaboração deste trabalho envolveu a colaboração de muitas pessoas sem as quais a sua realização seria praticamente impossível. Entre elas quero agradecer especialmente:

Ao Prof. Dr. Raul, pela oportunidade de crescimento não só profissional, mas também pessoal, pela amizade, incentivo e apoio.

A todos os professores do Laboratório de Farmacotécnica, Maria Palmira Daflon Gremião, Ana Dóris de Castro, Anselmo Gomes de Oliveira pelo apoio incentivo, ensinamentos, e amizade.

Ao Prof. Dr. João Aristeu da Rosa e a Maria Zenaide do Laboratório de Parasitologia por disponibilizar o uso do microscópio e por auxiliar as análises morfológicas, granulométricas e de intumescimento das partículas.

Ao Prof. Dr. Luiz Antônio Andrade Oliveira e a Profa. Dra. Olga Maria Mascarenhas de Faria Oliveira do Instituto de Química da Unesp, pela ajuda com a interpretação das análises de infravermelho, pela orientação, pelo apoio, por todas as dúvidas esclarecidas e pelo incentivo.

Aos técnicos e funcionários do Departamento de Fármacos e Medicamentos, em especial a Margarete, Fátima, Angélica e Osmar, pelo auxílio, apoio e amizade.

Aos meus colegas e amigos do curso em especial a Beatriz, Cíntia, Thalita, Priscila, Tina, Luana, Maria Cristina, Rubiana, Danieli, Andréia, Helen, Arnóbio, Marlus, Fernando, Maria Carolina pelas horas de descontração, alegria e incentivo.

Aos meus amigos Thiago e Livia pelo apoio, incentivo, amizade e carinho. Que os nossos caminhos possam se cruzar novamente!

A todos os funcionários da biblioteca da faculdade, em especial ao Moacir e a Maria Irani, pelo apoio, orientação, paciência. e carinho.

A Laura, Sônia e Cláudia da secretaria de pós-graduação, pelo apoio e auxílio nas horas de aflição.

A Capes pelo apoio financeiro

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE QUADROS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS

I.INTRODUÇÃO.....	22
II.FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	26
III.OBJETIVOS.....	66
IV.MATERIAIS E MÉTODOS.....	67
1. MATERIAIS.....	67
1.1. <i>Materias-Primas</i>	67
1.2. <i>Equipamentos Analíticos</i>	68
MÉTODOS.....	69
1. CARACTERIZAÇÃO DOS POLÍMEROS.....	69
1.1. <i>Purificação da Quitosana</i>	69
1.2. <i>Determinação do grau de desacetilação da QS</i>	68
1.3. <i>Análise no Infravermelho Da Quitosana</i>	70
2. CARACTERIZAÇÃO DO FÁRMACO-MODELO, TRIANCINOLONA (TC)	71
2.1 <i>Determinação do pico de máxima absorção da TC na região do ultravioleta</i>	71
2.2. <i>Curvas analíticas para quantificação do fármaco</i>	71
2.3. <i>Solubilidade</i>	72
2.4. <i>Análise da TC na região do infravermelho</i>	72
3. PREPARAÇÃO DAS CÁPSULAS INERTES.....	72
3.1. <i>Preparação das cápsulas inertes de PC:QS</i>	72
3.2. <i>Preparação das cápsulas com polímeros gastrorresistentes</i>	73
4. CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS INERTES.....	74
4.1. <i>Análise Morfológica</i>	74

4.2. Análise granulométrica.....	75
4.3. Análise de intumescimento.....	75
5. PREPARAÇÃO DAS CÁPSULAS CONTENDO TRIANCINOLONA (TC).....	76
6. CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS CONTENDO FÁRMACO (TC).....	77
6.1 Determinação do teor e eficiência de encapsulação.....	77
6.2. Validação da metodologia de Teor e eficiência encapsulação.....	79
6.3. Ensaio de liberação in vitro do fármaco (TC).....	83
7. ANÁLISE DOS ESPECTROS DOS COMPLEXOS NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO.....	84
V. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	85
1. CARACTERIZAÇÃO DOS POLÍMEROS.....	85
1.1. Purificação da Quitosana (QS).....	85
1.2. Determinação do grau de desacetilação d QS.....	86
1.3. Análise na região do infravermelho de Quitosana.....	89
2. CARACTERIZAÇÃO DO FÁRMACO-MODELO TRIANCINOLONA (TC).....	90
2.1. Estudo da solubilidade do fármaco.....	90
2.2. Determinação do pico de absorção máxima da TC na região do ultravioleta.....	91
2.3. Curvas analíticas para quantificação do fármaco por espectrofoto metria na região do ultravioleta.....	92
2.4. Análise na região do infravermelho da triancinolona.....	95
3 CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS INERTES.....	96
3.1. Obtenção das cápsulas inertes.....	96
3.2. Características morfológicas.....	97
3.3. Análise granulométrica.....	100
3.4. Propriedades de Intumescimento.....	103
4. CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS CONTENDO FÁRMACO (TC).....	111
4.1. Análise morfológica.....	111
4.2. Análise granulométrica.....	114

4.3. Determinação do diâmetro médio das partículas.....	116
4.4. Análise quantitativa do fármaco (TC) incorporado nas partículas.....	117
4.5. Determinação do teor e eficiência de encapsulação.....	121
4.6. Análise de intumescimento das partículas contendo fármaco.....	122
5. ANÁLISE NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DO COMPLEXO POLIELETROLÍTICO.....	126
6. ENSAIO DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> DO FÁRMACO.....	132
VI. CONCLUSÃO.....	143
VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	145

LISTA DE FIGURAS

Figura 01	Trato gastrintestinal (TGI).	20
Figura 02	Estrutura da quitina e celulose	44
Figura 03	Estrutura molecular da QS	45
Figura 04	Esquema simplificado da obtenção de QS	46
Figura 05	Estrutura molecular da PC	49
Figura 06	Representação da ligação de cálcio a cadeia de PC	50
Figura 07	Estrutura molecular do FHPMC	53
Figura 08	Estrutura molecular do AFC	55
Figura 09	Estrutura molecular da TC	57
Figura 10	Fotomicrografia de quitosana antes e após o processo de purificação, respectivamente (aumento de 40 vezes).	79
Figura 11	Curva analítica da NAG em ácido acético 0,01 mol/L	81
Figura 12	Primeira derivada do espectro de soluções de ácido acético e de soluções de NAG	82
Figura 13	Espectro na região do infravermelho da quitosana purificada	83
Figura 14	Espectro na região do ultravioleta da TC	84
Figura 15	Curva analítica de TC em tampão fosfato 50 mM, pH 7,4, a 242 nm (n=3)	86
Figura 16	Curva analítica de TC em tampão fosfato 10 mM, pH 5,0, contendo 2% de enzima pectinase, em 242 nm (n=3)	87
Figura 17	Curva analítica de TC em HCl 1mol/L, pH 1, a 242 nm (n=3)	88
Figura 18	Espectro na região do infravermelho da TC	89
Figura 19	Fotomicrografia de cápsulas da formulação FH-0,5 (aumento de 10x).	91
Figura 20	Fotomicrografias das partículas do lote FH-05 antes do processo de secagem.	92
Figura 21	Distribuição de frequência e frequência acumulada do tamanho das partículas do lote FH-05	93
Figura 22	Distribuição de frequência e frequência acumulada do tamanho das partículas do lote AF-05	94
Figura 23	Distribuição de frequência tamanho de partículas do lote FH-1,0	94
Figura 24	Perfil de Intumescimento (%) em função do tempo dos sem TC	97

	em meio gástrico simulado pH 1,0 (n=3)	
Figura 25	Fotomicrografias (figuras A; B e C) de cápsulas com polímeros gastrorresistentes submetidas ao ensaio de intumescimento em meio gástrico simulado, no início e após 2 horas	98
Figura 26	Intumescimento (%) em função do tempo dos lotes AF-0,5 e FH-0,5 em pH 3,0 (n=3).	100
Figura 27	Intumescimento em função do tempo das partículas sem fármaco, nos diferentes meios que simulam o TGI	107
Figura 28	Fotomicrografia de partículas de FH05TC (aumento de 40x).	104
Figura 29	Foto das partículas do lote FH05TC antes do processo de liofilização.	105
Figura 30	Fotomicrografias eletrônicas de varredura de cápsulas dos lotes com TC aumento de 50 e 500x, respectivamente.	105
Figura 31	Fotomicrografias eletrônica de varredura de corte de partículas contendo fármaco. Aumento de 500 e 2000x, respectivamente.	106
Figura 32	Distribuição do tamanho das partículas AF05TC	107
Figura 33	Distribuição do tamanho das partículas FH05TC	108
Figura 34	Distribuição do tamanho das partículas FH1TC	108
Figura 35	Espectro de absorção da TC com interferentes (matriz) e sem interferentes.	110
Figura 36	Curva analítica de TC, obtida por espectroscopia na região do UV em 242nm (n=3).	111
Figura 37	Perfil de intumescimento (%) em pH 1 dos lotes contendo TC	116
Figura 38	Perfil de intumescimento (%) em pH 7,4 dos lotes contendo TC	117
Figura 39	Espectro na região do infravermelho da mistura física de PC e QS e dos polímeros isoladamente	120
Figura 40	Espectro da mistura física de a: PC:QS:FH e b: PC:QS:AF	121
Figura 41	Espectro na região do infravermelho A: partículas PC:QS controle e B: partículas com polímero AFC (AF05TC).	122
Figura 42	Espectro na região do infravermelho A: partículas PC:QS- controle e B: partículas com FHPMC (FH05TC)	122
Figura 43	Esquema representativo do aparato de cesta	126
Figura 44	Perfil de liberação da TC em meio gástrico simulado	128

Figura 45	Perfil de liberação em meio entérico simulado.	130
Figura 46	Perfil de liberação do fármaco, em meio colônico simulado contendo enzima.	132
Figura 47	Perfil de liberação do fármaco em meio gástrico e entérico simulados.	134

LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Rendimento do processo de purificação de quitosana	79
Tabela 02	Solubilidade da TC em diferentes meios de dissolução.	84
Tabela 03	Dados das curvas de analítica em diferentes meios	85
Tabela 04	Composição dos lotes de cápsulas PC:QS controle preparados (n=3)	90
Tabela 05	Composição dos lotes preparados de cápsulas sem fármaco PC: QS:FHPMC e PC: QS:AFC (n=3)	90
Tabela 06	Média dos diâmetros obtidos e seus desvios (n = 220)	95
Tabela 07	Intumescimento (%) das partículas dos lotes AF-0,5; FH-0,5 e PC:QS em meio gástrico simulado pH 1,0 (n=3)	97
Tabela 08	. Intumescimento (%) das partículas dos lotes AF-0,5; FH-0,5 e PC:QS em pH 3,0 (n=3)	99
Tabela 09	Perfil de Intumescimento (%) das partículas do lote FH-0,5 (PC:QS:FHPMC-0,5%), nos diferentes valores de pH que simulam o TGI	101
Tabela 10	Perfil de intumescimento (%) das partículas do lote FH-1,0 (PC:QS:FHPMC-1,0) , nos diferentes valores de pH que simulam o TGI	101
Tabela 11	Perfil de intumescimento (%) das partículas do lote AF-0,5 (PC:QS:AFC-0,5), nos diferentes valores de pH que simulam o TGI.	101
Tabela 12	Perfil de intumescimento (%) das partículas do lote PC:QS (lotes controle), nos diferentes valores de pH que simulam o TGI.	102
Tabela 13	Composição dos lotes preparados de cápsulas contendo fármaco(n=3).	104
Tabela 14	Diâmetro médio do tamanho das partículas dos lotes preparados	109
Tabela 15	Coeficiente de correlação das amostras empregadas no teste de precisão (n=3)	112
Tabela 16	Percentual de recuperação da TC contida nas partículas (n=3)	113

Tabela 17	Limites de detecção e quantificação de TC em 242 nm	113
Tabela 18	Teor e eficiência de incorporação de TC dos lotes preparados	114
Tabela 19	Perfil de Intumescimento (%) em meio gástrico simulado dos lotes com TC	116
Tabela 20	Perfil de Intumescimento (%) em meio entérico simulado dos lotes com TC	117

LISTA DE QUADROS

Quadro 01	Enzimas presentes na flora intestinal humana	33
Quadro 02	Valores de pH do intestino	35
Quadro 03	Limiares de pH dos polímeros gastrorresistentes mais utilizados	58

LISTA DE ABREVIATURAS

AF-05 – complexo polieletrólito formado por PC:QS:AFC-0,5%

AF05TC – complexo polieletrólito formado por PC:QS:AFC-0,5%:TC

AFC – acetofalato de celulose

DE – grau de esterificação

FH-05 – complexo polieletrólito formado por PC:QS:FHPMC-0,5%

FH05TC – complexo polieletrólito formado por PC:QS:FHPMC-0,5%:TC

FH-1 – complexo polieletrólito formado por PC:QS:FHPMC- 1%

FH1TC – complexo polieletrólito formado por PC:QS:FHPMC-1%:TC

FHPMC - Ftalato de hidroxipropilmetil celulose

GD – grau de desacetilação

GG - goma guar

HPMC – Hidroxipropilmetil celulose

IV - infravermelho

LD - limite de detecção

LQ - limite de quantificação

NAG – n-acetil glicosamina

PC – Pectina

PC:QS – complexo polieletrólito formado por PC e QS utilizadas como controle

PC:QS:TC - complexo polieletrólito formado por PC, QS e TC utilizadas como controle

PEG - polietilenoglicol

QS – Quitosana

TC – Triancinolona

TGI – Trato gastrintestinal

UFC/mL – unidades formadoras de colônia

UV – ultravioleta

RESUMO

Sistemas multiparticulados com potencial de liberação específica na região colônica vêm sendo investigados. Dentre as diferentes abordagens para obter liberação específica de fármacos no cólon, o uso de polímeros degradáveis por bactérias colônicas é a mais promissora atualmente. A proposta deste trabalho é, então, a obtenção de um sistema que associe biodegradabilidade específica e liberação pH dependente de fármaco.

O método utilizado nas preparações foi o de coacervação complexa, usando para isso quitosana(QS) e Ca^{+2} como componentes catiônicos, e pectina(PC), como componente aniônico. As partículas foram preparadas na proporção 3:1 pela interação polieletrólítica entre PC/QS, respectivamente, com 2% de CaCl_2 e 0,5% de um dos polímeros gastrorresistentes, ftalato de hidroxipropilmetilcelulose (FHPMC) ou acetofalato de celulose (AFC), e 100 mg de triancinolona (TC).

A caracterização das partículas incluiu as análises de granulometria, morfologia, o comportamento de intumescimento e testes de liberação em meios que simulam o trato gastrointestinal. Análises de intumescimento em meio gástrico simulado mostraram que tanto as combinações QS/PC com FHPMC ou AFC, diminuíram a taxa de intumescimento das partículas. Os estudos realizados com as diferentes formulações, mostraram que as partículas com incorporação de AFC tiveram uma diminuição significativa no perfil de intumescimento, levando, conseqüentemente, a uma maior resistência gástrica, não sendo observada liberação do fármaco em até 02 horas de ensaio.

Palavras chaves: Liberação colônica; Quitosana; Pectina; Microencapsulação

ABSTRACT

Multiparticulate systems with the potential for site-specific delivery to the colon have been investigated. Among the different approaches to achieve colon-selective drug delivery, the use of polymers, specifically biodegradable by colonic bacteria, holds great promise. In this work a system, which combines specific biodegradability and pH-dependent release, is presented. Complex coacervation was applied to prepare particles combination chitosan (CS) and Ca^{2+} as a cationic and pectin (PC) as anionic components. The particles have been prepared in the ratio of 3:1 by polyelectrolytic interaction between PC:CS, respectively, with 2% of calcium chloride and 0.5% of enteric polymer, hydroxypropylmethyl cellulose phthalate (HPMCP), or cellulose acetate phthalate (CAP), and 100 mg of triancinolona (TC). The characterization of the microparticles included the analysis of granulometry, morphology, the swelling behavior and dissolution tests in media that simulate the gastrointestinal tract. Swelling assay under simulated gastric condition have shown that both CS:PC combinations with HPMCP or CAP, decreased swelling ratio of the particles. In relation to different formulations studies, dissolution tests showed that particles with CAP lead to significant decrease of swelling behavior, leading, consequently, to a total gastric resistance (no drug liberation up to 2 hours).

Keywords: Colonic delivery; Chitosan; Pectin; Microencapsulation.

I. INTRODUÇÃO

As inovações tecnológicas na área farmacêutica, especialmente os sistemas de liberação controlada de fármacos, têm provocado uma mudança radical no campo da farmacoterapia. Nas décadas anteriores, já era possível prever que, por volta do ano 2.000, poucos fármacos novos seriam sintetizados e que a tecnologia farmacêutica teria um papel fundamental para tornar os fármacos já existentes mais eficientes do ponto de vista de efeito terapêutico e muito mais seletivos em termos de concentração no local de ação, provocando menos efeitos colaterais e ampliando a duração do seu efeito farmacológico.

O desenvolvimento de um novo produto farmacêutico está embasado na necessidade de obtenção de máxima atividade farmacológica com o mínimo de efeitos adversos. Sendo assim, visando uma terapia efetiva, a escolha da via de administração e da forma farmacêutica adequada é etapa decisiva na prática clínica.

De acordo com os princípios básicos da farmacologia, a terapia será mais efetiva quanto mais próximo do local de ação ocorrer a liberação do fármaco (Fell, 1996). Neste sentido, a pesquisa de novos sistemas para a liberação de fármacos em regiões-específicas tem sido alvo, recentemente, de amplos investimentos em tecnologia farmacêutica (ROUGE; BURI; DOELKER, 1996; LEVY, 1998; URQUHART, 2000).

As formulações que objetivam a liberação controlada de fármacos administrados pela via oral, devem atender certos requisitos que possibilitem a sua passagem nas diferentes porções do trato gastrointestinal (TGI), sem que ocorra

liberação e/ou absorção do fármaco em locais inadequados (ZAHIRUL; KHAN, 1996; LIPKA; AMIDON, 1999).

Com o desenvolvimento destes sistemas de liberação controlada de fármacos, a terapia oral tornou-se mais efetiva, com nítidos benefícios aos pacientes. Dentre estes benefícios, foi possível diminuir a frequência de administração, a incidência de toxicidade e efeitos colaterais indesejados, além de permitir o uso de baixas doses e a manutenção do fármaco na sua forma intacta até que ele alcance a região-alvo para liberação (ROUGE; BURI; DOELKER, 1996; LEVY, 1998; SINHA, 2003).

Almejando-se a liberação alvo-específica, as abordagens mais frequentes incluem os sistemas com revestimentos pH-dependentes, a ligação covalente do fármaco com carreadores, formulações com propriedades tempo-dependentes ou que são degradadas pela microflora colônica (CHOURASIA; JAIN, 2003).

Entre estes sistemas de liberação controlada, a liberação colônica de fármacos tem tido muito destaque, pois permite, entre outras aplicações, o tratamento tópico da síndrome do intestino irritável e das doenças inflamatórias intestinais, como a colite ulcerativa e a doença de Crohn, que normalmente afetam este órgão (KENYON et al.; 1997; WIKBERG; ULMIUS; RAGNARSSON, 1997; FRIEND, 1998). Além da possibilidade do tratamento das doenças crônicas, o cólon humano também é considerado como uma região favorável à absorção de proteínas e peptídeos com potencial terapêutico, pois apresenta baixa atividade de enzimas proteolíticas (YANG; CHU; FIX, 2002).

Os sistemas de liberação colônica de fármacos administrados por via oral podem ser obtidos por diferentes meios, incluindo os sistemas revestidos e os matriciais, como comprimidos e sistemas multiparticulados (micropartículas e

pellets). Do ponto de vista farmacotécnico, quatro estratégias têm sido estudadas, objetivando o direcionamento do fármaco para o intestino grosso, baseadas em: a) pH do lúmen intestinal; b) tempo de trânsito no intestino delgado; c) pressão causada pelas ondas peristálticas no cólon distal; d) atividade das enzimas bacterianas do cólon. Tanto a liberação controlada pelo pH como a controlada pelo tempo encontram aplicação também na vetorização para o intestino delgado (DRESSMAN et al., 1993; SEMDÉ et al., 2000).

O método pelo qual a liberação do fármaco é desencadeada pela presença de enzimas da flora colônica parece ser o mais interessante no que diz respeito à seletividade (RUBINSTEIN, 1990). Alguns polissacarídeos, como a quitosana (QS) e a pectina (PC), degradáveis pela flora colônica humana, vêm sendo investigados, visando sua aplicação no desenvolvimento de sistemas de liberação colônica, entre eles as microcápsulas (SEMDÉ et al., 2000). O uso destes polímeros naturais como veiculadores de fármacos tem recebido muita atenção no campo farmacêutico, devido ao seu baixo custo e a sua segurança (BERNKOP-SCHNÜRCH, 2000).

Recentemente, nosso grupo de pesquisa desenvolveu sistemas multiparticulados à base de QS, visando à liberação colônica de triancinolona (TC) (LUCINDA-SILVA, 2003), mostrando que os sistemas liberaram parte do fármaco em meio ácido, após sofrerem leve intumescimento. Tendo em vista a busca por um maior controle na liberação do fármaco no TGI superior, este trabalho apresenta o desenvolvimento de sistemas multiparticulados à base de QS:PC, aos quais foram incorporados polímeros gastrorresistentes, aliando assim a liberação pH-dependente com a liberação enzimática. Usou-se como fármaco modelo a triancinolona (TC), que é um antiinflamatório esteroideal empregado no tratamento de inflamações locais do cólon. Para tal, foram utilizados os polímeros acetofalato de celulose e ftalato de

hidroxipropilmetil celulose, que têm em comum um ácido dicarboxílico e ácido ftálico numa forma parcialmente esterificada. Estes polímeros, usados tradicionalmente na obtenção de formas farmacêuticas sólidas gastrorresistentes, sendo ésteres ácidos, são insolúveis em meio gástrico, sendo solúveis em valores de pH acima de 5,0, dificultando, assim, a liberação do fármaco no TGI superior (Sakellariou; Rowe, 1995).

II. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Nestes últimos anos, têm-se constatado um notável crescimento em torno da criação de novos sistemas de liberação de fármacos. Durante esse período, a indústria farmoquímica se destacou no uso e no aproveitamento de matérias primas de baixo custo e fácil acesso para o desenvolvimento de novos materiais poliméricos, o que permitiu o uso de várias técnicas para a encapsulação de muitos compostos em sistemas de multipartículas, como microesferas e microcápsulas, nanoesferas e nanocápsulas, com o intuito de proteger, estabilizar, mascarar os sabores indesejáveis ou modificar as propriedades de liberação. Os sistemas de multipartículas têm suscitado um grande interesse nas formulações orais por apresentarem muitas vantagens, tais como dose única, variabilidade do tempo de trânsito no TGI e a possibilidade de mistura de fármacos com diferentes propriedades de liberação (AZEVEDO, 2002).

O termo multipartículas se refere a estruturas diferentes como microesferas, microcápsulas, nanoesferas e nanocápsulas. Denominam-se esferas aqueles sistemas em que o fármaco encontra-se homogeneamente disperso no interior da matriz polimérica. Desta forma, obtém-se um sistema monolítico, onde não é possível identificar um núcleo diferenciado (OLIVEIRA; et al., 1992).

Micro ou nanocápsulas, ao contrário, constituem os chamados sistemas do tipo reservatório, onde é possível identificar um núcleo diferenciado, que pode ser sólido ou líquido. Neste caso, a substância constituinte do núcleo encontra-se envolvida por uma membrana, geralmente polimérica, isolando o núcleo do meio externo (JOSUÉ et al., 2000).

Quando sistemas de liberação controlada ou sustentada estão sendo desenvolvidos, é essencial avaliar os fatores que podem afetar o seu comportamento. No caso da via oral, via pela qual a maioria dos medicamentos é administrada, é importante conhecer como essas formulações irão comportar-se durante sua passagem pelo ambiente hostil do TGI.

1. O TRATO GASTRINTESTINAL

O TGI consiste em um tubo muscular, com aproximadamente 6 m de comprimento e de diâmetro variável. Estende-se da boca até o ânus e apresenta quatro regiões anatômicas principais: esôfago, estômago, intestino delgado e intestino grosso ou cólon. (Figura 01).

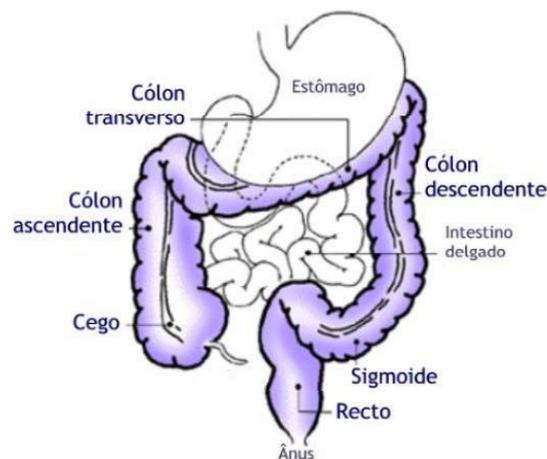


Figura 01. Diagrama do TGI, destacando o cólon e o reto (SPED, 2003).

A influência da motilidade do TGI nas formas farmacêuticas sólidas tem importantes conseqüências na liberação, absorção e biodisponibilidade dos fármacos. Por isso, o conhecimento dos parâmetros e das variáveis fisiológicas que podem influenciar o desempenho de uma forma farmacêutica *in vivo* é fundamental

para o desenvolvimento de produtos com maior eficácia terapêutica e menor incidência de efeitos colaterais.

1.1. O esôfago

A boca é o ponto de entrada para a maioria das formas farmacêuticas (a denominada via de administração bucal ou peroral). Neste ponto, o contato com a mucosa bucal é normalmente breve. Ligando a cavidade bucal ao estômago encontra-se o esôfago. Este é constituído por uma camada muscular grossa, de aproximadamente 250 mm de comprimento e 20 mm de diâmetro, que se liga ao estômago na junção gastresofágica ou óstio-cárdio, como é denominado algumas vezes. O trânsito de formas farmacêuticas no esôfago é extremamente rápido, sendo da ordem de 10 a 14 segundos (CORÁ, 2004).

1.2. O estômago

A região seguinte do TGI a ser alcançada pelos alimentos e pelos medicamentos é o estômago. As principais funções do estômago são: a) atuar como reservatório temporário para os alimentos ingeridos e transferi-los para o duodeno a uma velocidade controlada; b) reduzir os sólidos ingeridos até uma massa uniforme e cremosa, denominada quimo, por meio da ação da digestão ácida e enzimática. Isso possibilita um melhor contato do material ingerido com a membrana mucosa dos intestinos e, conseqüentemente, promove a digestão (EVANS, 2000).

Outra função do estômago, talvez não tão óbvia como a anterior, é a de reduzir o risco de substâncias nocivas chegarem ao intestino (RAO; SCHULZDELRIEU, 1993).

O estômago é a região mais dilatada do TGI e está situado entre a parte terminal do esôfago e o intestino delgado. Tem capacidade de cerca de 1,5 L, apesar de, em jejum, não conter mais do que 50 mL de fluido, e é dividido em quatro regiões anatômicas: fundo; corpo; antro e piloro (QUIGLEY, 2000).

Após a ingestão de alimentos (período pós-prandia), são observados dois padrões de atividade diferenciados: as porções proximais do estômago relaxam para receber o alimento e as contrações graduais dessa região movimentam o conteúdo gástrico para as regiões mais distais. A peristalse, contrações do estômago distal, serve para fazer a mistura e a desagregação das partículas dos alimentos, bem como movimentar o conteúdo na direção do esfíncter pilórico (QUIGLEY, 2000).

O esfíncter pilórico atua regulando a passagem do material estomacal para o duodeno. Ele permite que líquidos e pequenas partículas passem, enquanto que outros materiais sofrem retropulsão para o antro estomacal, sendo capturados pela próxima onda peristáltica e sofrendo uma redução de tamanho anterior ao seu esvaziamento (COUPE et al., 1991).

O esfíncter pilórico, portanto é uma estrutura capaz de dificultar a passagem de grandes partículas sólidas (HASLER, 1995; QUIGLEY, 2000). Geralmente, o que se observa é que estas partículas, incluindo-se as formas farmacêuticas sólidas convencionais, não são esvaziadas do estômago durante o período de atividade digestiva (COUPE et al., 1991).

O tempo que uma forma farmacêutica leva para atravessar o estômago é geralmente denominado *tempo de residência gástrica*, *tempo de esvaziamento gástrico*. Os tempos de residência gástrica normais variam, geralmente, de 5 min a 2 h, embora tempos muito maiores, superiores a 12 h, tenham sido registrados, sobretudo no caso de formas unitárias de tamanho grande. Terminado o período digestivo (jejum), inicia-se um padrão de motilidade interdigestiva, denominado Complexo Mioelétrico Migratório (CMM), que é caracterizado por uma atividade mecânica intensa e irregular, com quatro fases consecutivas e duração média de 84 a 112 min (HASLER, 1995; GIELKENS et al., 1998).

A fase I é um período de 40 a 60 min de relativa inatividade, durante o qual ocorrem apenas contrações esporádicas. O aumento no número de contrações acontece na Fase II, a qual tem um período de duração similar ao da fase I. A Fase III apresenta um período de 5 a 10 min de contrações intensas, rítmicas e oclusivas, que se propagam do antro gástrico até o piloro, fazendo com que o piloro se abra na base, removendo assim qualquer material residual presente no estômago (RAO; SHULZE-DELRIEU, 1993). Durante esta fase ocorre o esvaziamento gástrico de grandes partículas sólidas e dos restos alimentares não digeridos. A fase IV consiste em um período de transição entre a atividade vigorosa da fase III e a inatividade da fase I. As ondas contráteis do CMM propagam-se distalmente, a partir do estômago até o íleo terminal, e são interrompidas com a ingestão de alimento (GIELKENS et al., 1998).

Portanto, o estado prandial é um dos fatores que podem influenciar a motilidade e o esvaziamento do conteúdo gástrico, devendo ser considerado na administração oral de fármacos contidos em formas farmacêuticas sólidas (COUPE et al., 1991; EWE et al., 1991; CECIL et al., 1999; SINGH, 1999). Além disso, como

parte do processo fisiológico da digestão, o conteúdo gástrico recebe uma força máxima do movimento peristáltico, especialmente na região distal. Isto significa que uma forma farmacêutica sólida estará submetida à ação mecânica da parede gástrica que poderá provocar sua ruptura (KAMBA et al., 2003). A força mecânica destrutiva que a parede gástrica aplica sobre as formas farmacêuticas sólidas interfere com a desintegração e, conseqüentemente, com a dissolução do fármaco.

1.3. Intestino Delgado

O intestino delgado é a região mais comprida (4 a 5 m) e mais convoluta do TGI, estendendo-se desde o esfíncter pilórico do estômago até a junção ileocecal, onde se une ao intestino grosso. Suas principais funções são: a) digestão – o processo de digestão enzimática que teve início no estômago completa-se no intestino delgado e b) absorção – o intestino delgado é a região onde a maior parte dos nutrientes e de outras substâncias são absorvidos (ASHFORD, 2005).

Divide-se em duodeno, que tem 200 mm a 300 mm de comprimento, jejuno, que mede aproximadamente 2 m de comprimento, e íleo, com aproximadamente 3 m de comprimento. O pH luminal do intestino delgado é de cerca de 6 e 7,5 (ASHFORD, 2005).

Apresenta uma extensa superfície (cerca de 600 vezes a superfície de um cilindro comum), chegando a até cerca de 200 m² em adultos, o que transforma o intestino delgado em um sítio de absorção por excelência, favorecendo a absorção de nutrientes e fármacos (ASHFORD, 2005).

Estudos verificaram que o tempo de trânsito de uma forma farmacêutica é um parâmetro importante para a liberação de fármacos e constataram que o tempo de trânsito de uma forma farmacêutica sólida através do intestino delgado é mais consistente em relação ao tempo para o esvaziamento gástrico (COUPE et al., 1991; DAVIS; HARDY; FARA, 1986; KHOSLA; FEELY; DAVIS, 1989).

Assim como ocorre no estômago, a motilidade intestinal exhibe padrões distintos durante o jejum e o período pós-prandial. No jejum, a atividade motora é cíclica e definida pelo CMM, sendo interrompida com a ingestão do alimento (BASILISCO; PHILLIPS, 1993; THOMSON et al., 2003).

Entretanto, geralmente, o trânsito da maioria das formas farmacêuticas através do intestino delgado é relativamente constante, até mesmo quando são administradas com alimento. O tempo de trânsito médio, tanto de *pellets* como de comprimidos, é de 3 a 4h (FRIEND, 1998; RUBINSTEIN, 1995).

1.3. O Intestino Grosso

O cólon curva-se em torno do intestino delgado, sendo a parte terminal do TGI. Estende-se desde a junção ileocecal até o ânus e compreende aproximadamente 1,5 m dos 6 m do TGI. É formado pelo ceco (~ 85 mm de comprimento), pelo cólon ascendente (~ 200 mm), pela dobra hepática, pelo cólon transversal (usualmente maior que 450 mm), pela dobra esplênica, pelo cólon descendente (~300 mm), colón sigmóide (~ 400 mm) e pelo reto. Os cólons ascendente e descendente são relativamente fixos, uma vez que estão imobilizados

pela dobra esplênica e hepática e pelo ceco. O cólon transverso e o sigmóide, ao contrário, são mais flexíveis.

O cólon, diferentemente do intestino delgado, apresenta área superficial de mucosa pequena e não contém vilosidades. Porém, as microvilosidade observadas nas células epiteliais de absorção e a presença de criptas e a mucosa irregularmente pregueada servem para aumentar a superfície de contato do cólon em 1 a 15 vezes, se comparada à superfície de um cilindro regular.

As principais funções do cólon são: a) absorção de íons de sódio, cloreto e água a partir do lúmen em troca de íons de bicarbonato e potássio, tendo assim uma importante função homeostática para o organismo, e b) armazenagem e compactação das fezes. Todas as funções do cólon são demoradas e requerem exposição lenta da mucosa ao conteúdo luminal. A motilidade do cólon é diferente da motilidade do estômago e do intestino delgado (RUBINSTEIN, 1995).

Similarmente ao que acontece em outros segmentos do TGI, a motilidade colônica também é modulada pelo estado prandial (O'BRIEN; PHILLIPS, 1996).

Ele está permanentemente colonizado por grande número e variedade de bactérias naturalmente anaeróbicas ou anaeróbicas facultativas (Quadro 01), sua concentração bacteriana é de cerca de 10^{12} unidades formadoras de colônia (UFC/mL). Para obtenção de energia necessária às funções celulares, a flora bacteriana colônica fermenta uma variedade de dissacarídeos não-absorvíveis, oligossacarídeos e polissacarídeos (CHOURASIA; JAIN, 2003).

Além disso, outros polímeros que são originários da parede de células vegetais, tais como celulose, hemicelulose e substâncias pécticas, também são susceptíveis de fermentação no intestino grosso (EVANS et al., 1998).

As enzimas glicosídicas típicas são amilase, pectinase, xilanase, β -D-xilodase, β -D-galactosidase e β -D-glucosidase, sendo as três últimas as glicosidases mais ativas. Sob condições normais, os principais produtos finais da fermentação colônica são ácidos graxos de cadeia curta, como os ácidos acético, propiônico e butírico e os gases metano, dióxido de carbono e hidrogênio (LUCINDA-SILVA, 2003).

O pH ao longo do TGI de indivíduos sadios está razoavelmente bem caracterizado. O pH no íleo terminal em humanos sadios corresponde a $7,5 \pm 0,4$ (McDOUGAL et al., 1993; EVANS et al., 1998; FRIEND, 1998).

Quadro 01. Enzimas presentes na flora intestinal humana (RUBINSTEIN, 1995).

ENZIMAS		REAÇÃO METABÓLICA CATALISADA
ENZIMAS REDUTORAS	Nitrorredutase	Redução de compostos nitro aromáticos e heterocíclicos
	Azo-redutase N-Óxido redutase Sulfóxido redutase	Clivagem de compostos nitrogenados
	Hidrogenase	Redução de grupos carbonila e ligações duplas alifáticas
ENZIMAS HIDROLÍTICAS	Esterases e amidases	Clivagem de ésteres ou amidas
	Glicosidases	Hidrólise de ligações β -glicosídicas
	Glucoronidases	Hidrólise de conjugados de ácido β -glucurônico

Alguns estudos demonstram que o pH no lúmen do cólon é ácido em razão da presença dos ácidos graxos de cadeia curta produzidos por fermentação de fibras

alimentares pela microflora colônica, caindo para cerca de $6,4 \pm 0,4$ no ceco (EVANS et al., 1998; FRIEND, 1998; McDOUGAL et al., 1993).

Os ácidos graxos de cadeia curta são fontes nutricionais para os enterócitos colônicos e tem sido relatado que sua deficiência pode ser a possível causa da colite ulcerativa (LEOPOLD, 1999; ROUGE; BURI; DOELKER, 1996; RUBINSTEIN, 1995).

No que concerne a motilidade, o cólon apresenta uma forte e prolongada motilidade propulsiva, além de um potencial de forças destrutivas que aumentam da região proximal para a distal (SHAMEEN et al., 1995; CHOURASIA; JAIN, 2003).

Embora, como já foi dito, o cólon tenha uma pequena superfície de absorção comparando-se com o intestino delgado, a lentidão do trânsito colônico prolonga o tempo de retenção das formas farmacêuticas, propiciando uma excelente oportunidade para a absorção de fármacos com ação sistêmica ou específica na mucosa (STUBBS et al., 1991; KENYON et al., 1997; FRIEND, 1998).

Devido às características únicas deste órgão, a liberação colônica de fármacos tornou-se um atrativo na pesquisa farmacêutica, não somente pela possibilidade do tratamento das doenças comuns ao órgão, como também pela liberação colônica de proteínas e peptídeos com potencial terapêutico (WIKBERG; ULMIUS; RAGNARSSON, 1997).

1.4. O pH gastrintestinal

O pH dos fluidos varia consideravelmente ao longo do TGI. O fluido gástrico é muito ácido, apresentando normalmente um pH na faixa de 1 a 3,5 em pessoas saudáveis e em jejum. Após a ingestão de alimentos, o suco gástrico é tamponado

para um pH menos ácido, dependendo da composição do alimento. Os valores usuais de pH gástrico, observados após a ingestão de alimentos, encontra-se na faixa de 3 a 7. Dependendo de quantidade de alimento ingerido, o pH gástrico retorna aos valores de acidez, próprios do estado em jejum, após 2 a 3 h. Dessa maneira, somente as formas farmacêuticas ingeridas com, ou imediatamente após, os alimentos é que encontram esses valores elevados de pH (EVANS, 2000).

O pH intestinal apresenta valores maiores que o pH gástrico, devido à neutralização do ácido gástrico pelo bicarbonato secretado pelo pâncreas dentro do intestino delgado. Observa-se um aumento gradual do pH ao longo do intestino delgado, do duodeno até o íleo. O Quadro 02 resume alguns valores relatados na literatura para o pH do intestino no estado em jejum e após a ingestão de alimentos (GRAY; DRESSSMAN, 1996; CORÀ, 2004).

Quadro 02. Valores de pH do intestino delgado de seres humanos sadios, nos estados de jejum e após alimentação (Fonte: GRAY; DRESSSMAN, 1996)

Local	pH em jejum	pH após alimentação
Duodeno médio e distal	4,9 – 6,4	5,1 – 5,4
Jejuno	4,4 – 6,6	5,2 – 6,2
Íleo	6,5 – 7,4	6,8 – 7,5 ~ 8,0

O pH diminui novamente no cólon, à medida que as enzimas bacterianas, as quais estão localizadas na região colônica, desdobram os carboidratos não digeridos em ácidos graxos de cadeias curtas, os quais levam o pH do cólon para, aproximadamente, 6,5 (CORÀ, 2004).

2. DIRECIONAMENTO DE FÁRMACOS PARA O CÓLON

Atualmente, a liberação específica de fármacos no cólon é considerada uma importante alternativa para o tratamento de doenças colônicas sérias, como a doença de Crohn, colite ulcerativa, carcinomas e infecções. Por outro lado, sistemas que permitam absorção específica na região colônica oferecem interessantes possibilidades para o tratamento de doenças susceptíveis ao ritmo diurno, tais como asma, artrite, inflamação, etc (ASFHORD; FELL, 1994).

A liberação colônica de fármacos, historicamente, está associada à administração local de derivados salicilados no intestino grosso para o tratamento de doenças intestinais inflamatórias, principalmente da colite ulcerativa (RUBINSTEIN, 1995; LUCINDA-SILVA, 2003).

Em contraposição à liberação no intestino delgado, a liberação direcionada para o intestino grosso parece, a princípio, sem sentido, quando se pensa na pequena área de absorção à disposição e nas fortes propriedades de barreira desse compartimento inferior do intestino. Entretanto, o cólon, como já foi mencionado anteriormente, apresenta algumas propriedades que o tornam um órgão de crescente interesse para a liberação de fármacos.

O cólon é rico em uma vasta microflora, a qual pode ser usada para o direcionamento de sistemas de liberação. Sua atividade enzimática é menor do que a do estômago ou do intestino delgado, o que permite, por exemplo, a liberação de fármacos peptídicos sensíveis nessa região. A lentidão do trânsito colônico prolonga o tempo de retenção das formas farmacêuticas, propiciando uma excelente oportunidade para a absorção de fármacos com ação sistêmica ou específica na

mucosa (KINGET et al., 1998; CORÀ et al., 2005). Segundo Kinget et al. (1998), alguns fatores que afetam a absorção de fármaco no cólon são:

- a) características físico-químicas do fármaco, como o pKa e o grau de ionização;
- b) tempo de residência colônica;
- c) degradação pelas enzimas bacterianas;
- d) ligação seletiva ou não-seletiva à mucosa;
- e) ação fisiológica local do fármaco;
- f) presença ou não de enfermidade no cólon e
- g) uso de substâncias promotoras de absorção, inibidores enzimáticos ou bioadesivos.

O desenvolvimento de formulações medicamentosas específicas para o intestino grosso deve ser visto como um desafio tecnológico, já que estes sistemas de liberação são complexos e estão submetidos às mudanças graduais e progressivas a partir do estômago até o íleo terminal, porque o medicamento deve passar intacto pelo estômago e pelo intestino delgado, liberando o fármaco somente no intestino grosso (CHOURASIA; JAIN, 2003).

Para a liberação colônica de fármacos, além de se levar em conta o ambiente hostil e a variação de pH ao longo do TGI, devem ser considerados, também, o tempo de esvaziamento gástrico, o tempo de trânsito no intestino delgado e quais os fatores que podem modificar estes parâmetros (CORÀ et al., 2005).

O sistema de liberação colônica, a ser administrado por via oral, pode ser alcançado por diferentes meios, incluindo os sistemas revestidos e os matriciais,

como comprimidos e sistemas multiparticulados, sendo a liberação do fármaco controlada pelo pH do TGI, pelo tempo de trânsito, pela flora intestinal ou por pressão no lúmen do intestino grosso (LUCINDA-SILVA, 2003).

As enzimas colônicas são capazes de degradar uma variedade de polissacarídeos presentes na dieta, que não são afetados pelo estômago ou pelo intestino delgado. Estes polissacarídeos atóxicos e biodegradáveis têm a capacidade de carrear fármacos especificamente para o cólon (SEMDÉ et al., 2000; SINHA; KUMRIA, 2001). Rubinstein et al. (1993) demonstraram a eficácia da PC, do pectinato de cálcio e do sulfato de condroitina como carreadores para vetorização de fármacos para o cólon. Formulações contendo PC foram analisadas, usando-se enzimas pectinolíticas e estudos de gama cintilografia *in vivo*, sendo constatado que, ao alcançarem o cólon ascendente, estas formas farmacêuticas tiveram seu revestimento degradado por ação enzimática (KRISHNAIAH et al., 1998; RAMA PRASAD; KRISHNAIAH; SATYANARAYANA, 1998; MACLEOD; FELL; COLLET, 1999; SEMDÉ et al., 2000).

Vários materiais de revestimento, objetivando a liberação colônica, vêm sendo desenvolvidos, devido à necessidade de novos polímeros para uso farmacêutico. Polímeros acrílicos apresentando intumescimento e propriedades de dissolução pH-dependentes, como o Eudragit[®] S, são comuns no delineamento de sistemas de liberação de fármacos para o cólon. Polímeros que formam uma barreira protetora fina de hidrogel, como a hidroxipropilmetil celulose (HPMC), também podem ser usados para essa finalidade (RUBINSTEIN, 1995).

Os sistemas com revestimentos gastrorresistentes são os mais utilizados para a liberação colônica e constituem a maioria das formulações comerciais disponíveis. Entretanto, a grande desvantagem destes sistemas é que uma grande quantidade

de fármaco pode ser liberada no intestino delgado antes de alcançar o cólon, isto porque a diferença de pH entre o intestino delgado e o cólon não é muito pronunciada, sendo, portanto, estes sistemas de liberação sozinhos incapazes de ter controle sobre a liberação do fármaco (SINHA; KUMRIA, 2003).

Sistemas multiparticulados são os que apresentam melhor distribuição no cólon, em razão do menor tamanho de suas partículas, levando a uma melhor absorção do fármaco e, portanto, maior eficiência no tratamento da doença (FERNÁNDEZ-HERVÁS; FELL, 1998). Devido a uma superfície de contato maior destes sistemas à degradação enzimática bacteriana, a liberação do fármaco ocorrerá mais rapidamente. Tais sistemas atravessam a junção íleo-cecal de forma mais reprodutível do que as formas unitárias, como os comprimidos. Uma vez que o trânsito colônico de partículas pequenas é mais lento, a administração oral de fármacos em sistemas multiparticulados pode aumentar seu tempo de residência no cólon (KAKOULIDES; SMART; TSIBOUKLIS, 1998).

3. TIPOS DE SISTEMAS PARA LIBERAÇÃO COLÔNICA DE FÁRMACOS

A liberação de fármacos para locais específicos no TGI tem sido estudada por diversas razões. Uma razão proeminente é o tratamento de doença inflamatória intestinal (SICCARD; TURNER; MRSNY, 2005).

Atualmente, quatro direções estão sendo seguidas, para se alcançar a liberação de fármacos no intestino grosso, em razão de suas condições fisiológicas especiais: a) sistemas de liberação controlada pelo tempo; b) sistemas com revestimento gastrorresistente com liberação do fármaco dependente do pH

(acionada por uma mudança no pH local à medida que a formulação passa pelo TGI); c) sistemas com liberação controlada pela degradação enzimática, incluindo também os pró-fármacos e d) sistemas de liberação controlada por pressão (variação da pressão ao longo do lúmen do TGI é usado para acionar a liberação do fármaco) (KENYON et al., 1997; TOZAKI et al., 1997; FRIEND, 2005).

a) *Sistemas de Liberação baseados no tempo*

A liberação controlada pelo tempo baseia-se em vencer o tempo de trânsito no intestino delgado, durante o qual nenhuma liberação do fármaco deve ocorrer. Somente após alcançar o cólon, é que a liberação do fármaco deve começar. Este objetivo pode ser alcançado, utilizando-se compostos intumescíveis à base de éteres de celulose ou acrilatos (sendo estes últimos dependentes do pH) ou substâncias osmoticamente ativas, as quais, pela entrada de água, experimentam um aumento de volume e, com isso, exercem um aumento de pressão, o que leva, após um tempo determinado, à liberação do fármaco. Esse tempo de prolongamento da liberação também pode ser alcançado por meio de erosão lenta ou dissolução de uma camada de revestimento (LUCINDA-SILVA, 2003; FRIEND, 2005).

Formas farmacêuticas de liberação controlada são desenvolvidas para prolongar a dissolução do fármaco e, portanto, de sua absorção. Estas formulações se movem ao longo do TGI a taxas dependentes de suas localizações (FRIEND, 2005).

Seguindo o esvaziamento gástrico, o trânsito através do intestino delgado é relativamente consistente de 3 ± 1 h. Portanto, é possível explorar o tempo de trânsito no intestino delgado para controlar o local de liberação do fármaco, já que os

tempos de residência gástrica são geralmente variáveis e dependentes da ausência ou presença de alimento. Para isso, polímeros gastrorresistentes são usados com a finalidade de retardar a liberação até que a formulação atinja o intestino delgado proximal (KLOTZ; SCHWAB, 2005).

À medida que o fármaco é liberado de sua formulação e passa através do intestino ele é absorvido a uma taxa que depende, entre outros fatores, das propriedades de permeabilidade do fármaco. O fármaco não absorvido ou o fármaco não liberado da formulação é excretado nas fezes. Apesar de menos sofisticada que outras abordagens para liberação controlada de fármacos no trato intestinal, o sistema de liberação baseado no tempo é usado para liberar fármacos em vários pontos do TGI. Liberação controlada pelo tempo é a base do Pentasa[®] (mesalazina), constituído por *beads* com revestimento de etilcelulose para liberar lentamente a mesalazina à medida que passa pelo trato intestinal. É indicado para o tratamento de colite ulcerativa, apesar do fato da inflamação ser localizada no intestino distal. A relativa biodisponibilidade da mesalazina em sua formulação é baixa. Se a mesalamina é liberada, mas não absorvida, pode ainda alcançar a mucosa inflamada e, possivelmente, exercer um efeito antiinflamatório local (FRIEND, 2005).

b) Liberação controlada pelo pH

Revestimentos gastrorresistentes são bem conhecidos e muitos produtos comercializados baseiam-se nestes revestimentos para retardar a liberação numa tentativa de aumentar a liberação de fármaco no local desejado. Polímeros gastrorresistentes são insolúveis no conteúdo do estômago e evitam a dissolução do fármaco até que a formulação passe para o intestino delgado. Os polímeros, dependendo de sua composição química, se dissolvem à medida que o pH sobe de

5 para 7 seguindo o esvaziamento gástrico. Comprimidos com revestimento gastrorresistentes e multipartículas contidas em cápsulas de gelatina são preferidos como forma farmacêutica, devido ao seu relativo baixo custo e à facilidade de fabricação comparada com outros sistemas de liberação mais complexos (CHOURASIA; JAIN, 2003; FRIEND, 2005).

Ao mesmo tempo, polímeros gastrorresistentes têm sido criticados por sua aparente inabilidade em promover uma precisa liberação dirigida para locais específicos do trato intestinal. Os dados gerados em estudos mostram evidências de que o desempenho de polímeros pH-dependentes está sujeito a diversas variáveis. A dissolução do fármaco a partir de uma forma farmacêutica *in vitro* e, mais importante, *in vivo*, é variável e, portanto, o direcionamento do fármaco pode ser menos preciso do que o desejado. O entendimento atual do perfil do pH ao longo do trato intestinal de pacientes com doença inflamatória intestinal ativa sugere que o controle, de forma precisa, sobre os locais de liberação, particularmente do íleo terminal para frente, torna-se difícil baseado somente na farmacocinética, quando se faz uso de revestimento com polímero sensível ao pH (FRIEND, 2005; SICCARD; TURNER; MRSNY, 2005).

O desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos normalmente baseia-se amplamente em dados farmacocinéticos, particularmente nos estágios iniciais de desenvolvimento. Assume-se, até que se teste clinicamente em pacientes, que esses dados estão relacionados com a farmacodinâmica. A base para aprovação de medicamentos geralmente é baseada em sua eficiência clínica (neste caso, na capacidade de controlar a inflamação intestinal). Enquanto formas farmacêuticas baseadas em polímeros gastrorresistentes geralmente falham, fornecendo dados de liberação de fármacos pouco satisfatórios têm, por outro lado,

provado ser clínica e comercialmente úteis em pacientes com doença inflamatória intestinal (FRIEND, 2005).

O valor do pH no intestino grosso é ligeiramente mais alto que o do intestino delgado em indivíduos saudáveis, sendo essa diferença de cerca de 0,5 unidades de pH (EVANS et al., 1998). Esta pequena diferença no valor de pH do intestino delgado em relação ao intestino grosso é muito pequena para promover uma liberação confiável do fármaco no cólon. Entretanto, o pH luminal no cólon de pacientes com colite diminui para valores entre 2,5 e 4,7, mostrando que, neste caso, polímeros gastrorresistentes são materiais de revestimento inadequados (FALLINGBORG; CHRISTENSEN; ASCANIUS, 1993; LEOPOLD; EIKELER, 1998; LEOPOLD, 1999).

A desvantagem deste sistema é que grandes quantidades de fármaco podem ser liberadas no intestino delgado, porque a diferença de pH entre o intestino delgado e o cólon não é muito pronunciada (cerca de 0,5 unidades de pH) e, portanto, sistemas de liberação baseados somente na liberação controlada pelo pH, não são capazes controlar totalmente a liberação do fármaco (LUCINDA-SILVA, 2003; FRIEND, 2005)

Por esse motivo, a maioria dos sistemas de liberação associa duas estratégias para o direcionamento do fármaco para o cólon, como é o caso de sistemas de liberação baseados no tempo de trânsito do TGI revestidos com polímeros gastrorresistentes (FRIEND, 2005).

Sistemas baseados em tempo de trânsito e em pH

Como mencionado acima, o trânsito através do intestino delgado é relativamente uniforme dentro e entre indivíduos. Ao combinar a abordagem do revestimento gastrorresistente, para prevenir a dissolução do fármaco no estômago, com um elemento que retarde a liberação baseado na passagem do tempo, é possível direcionar a liberação de um fármaco para o íleo terminal e para o cólon.

Esses sistemas baseiam-se no revestimento externo com um polímero gastrorresistente (geralmente Eudragit®), que evita a liberação do fármaco até que a formulação seja esvaziada do estômago e transite por alguma distância do intestino delgado. Uma segunda barreira é usada para retardar a liberação seguindo o esvaziamento gástrico por um período pré-determinado de tempo, geralmente várias horas. Materiais úteis para retardar a liberação baseada no tempo incluem Eudragit®, etilcelulose e hidroxipropilmetilcelulose (FRIEND, 2005).

c) Liberação controlada enzimaticamente

- **Pró-fármacos**

A liberação de um fármaco em pacientes com doença inflamatória intestinal pode também ser realizada usando-se enzimas localizadas próximas aos locais almejados. Em humanos, o estômago e o intestino delgado contêm aproximadamente $10^3 - 10^4$ unidades formadoras de colônia. Entretanto, a concentração da microflora aumenta drasticamente ao se passar do íleo terminal para o cólon ascendente. Aqui, esse número pode alcançar $10^{11} - 10^{12}$ UFC/mL (SINHA; KUMRIA, 2003).

Estas bactérias sobrevivem fermentando uma grande variedade de substratos que não são digeridos no intestino delgado. Enzimas que fermentam estes substratos incluem azoreductases, β -glucuronidase, β -xylosidase, dextranases, esterases, nitroreductase, etc. Estas enzimas são utilizadas na liberação de fármacos na região colônica por meio de seu efeito na degradação de matrizes poliméricas e revestimentos e, também, para deflagrar a liberação do fármaco a partir de derivados de fármacos farmacologicamente inativos (pró-fármacos). Diversos aspectos do acionamento microbiótico da liberação de fármacos no cólon têm sido publicados (SINHA; KUMRIA, 2003; FRIEND, 2005).

Um sistema bem sucedido de liberação de fármacos baseado em pró-fármacos é aquele no qual a porção inativa do pró-fármaco minimiza a absorção até que a porção ativa seja liberada (geralmente por meio da ação enzimática) perto do local pretendido (cólon). Assim, este pró-fármaco é usado para aumentar a hidrofília do composto mãe, aumentar o tamanho molecular ou ambos, minimizando, assim, a absorção do fármaco antes que ele atinja o sítio-alvo (FRIEND, 2005).

- ***Revestimento e matrizes***

O uso de polissacarídeos para retardar a liberação de fármacos no trato intestinal é bem conhecido, embora nenhum produto comercial que utilize esta técnica esteja ainda disponível. Assim como os pró-fármacos descritos acima, vários polissacarídeos de ocorrência natural são estáveis no intestino superior, embora sejam susceptíveis à degradação hidrolítica no cólon. A maioria dos polissacarídeos pode ser quimicamente modificada para que algumas propriedades específicas, tais como a habilidade ou capacidade para formar filmes impermeáveis, sejam otimizadas (CHOURASIA; JAIN, 2003; FRIEND, 2005).

A pectina, como muitos outros polissacarídeos, é estável no estômago e no intestino delgado, mas é susceptível à degradação enzimática no intestino grosso. Sais, como o pectinato de cálcio e zinco, são os preferidos para serem usados em sistemas de liberação de fármacos, já que eles apresentam menor solubilidade em água e, portanto, melhor propriedade de retardamento de dissolução do que o pectinato de sódio ou ácido pectico. Para propiciar retardamento ainda maior da liberação do fármaco, revestimentos por compressão em volta do núcleo contendo o fármaco também têm sido estudados. Melhorias nos sistemas colônicos de liberação controlada usando pectina e outros polissacarídeos de ocorrência natural são conseguidas, também, por meio de comprimidos revestidos ou formulações multiparticuladas com polímeros gastrorresistentes tradicionais. O trânsito gastrointestinal destas formulações foi verificado em estudos *in vivo* com voluntários normais usando-se gama-cintilografia. As formulações de comprimidos com revestimentos gastrorresistentes foram constituídas de matrizes de pectinato de cálcio preparadas com ou sem proteção de goma guar. Os comprimidos alcançaram o cólon, na maioria dos casos, intactos e lá eles se desintegraram. Não foram coletados dados farmacocinéticos neste estudo. Portanto, a eficácia desta abordagem de formulação para retardar a liberação do fármaco e controlar a dissolução no intestino grosso não é conhecida (CHOURASIA; JAIN, 2003).

O uso de sais insolúveis de pectina tem obtido sucessos parciais tanto com dados *in vitro* como *in vivo*. Para melhorar a eficiência da pectina, derivados têm sido formulados e testados. Formas de pectina de ocorrência natural apresentam um grau relativamente alto de grupos metoxi. O conteúdo metoxi deste tipo de pectina pode ser de 70%, o que ajuda controlar a liberação do fármaco. Dados de um estudo com voluntários humanos mostrou que comprimidos revestidos por compressão,

preparados a partir de pectina com 70% de metoxilas, foram capazes de retardar a liberação de traçadores radioativos solúveis em água (FRIEND, 2005).

Uma outra abordagem usada para limitar a dissolução do fármaco no intestino superior envolve a mistura de filmes. Misturas de filmes são compostos de polissacarídeos e polímeros insolúveis em água, tais como etilcelulose ou quitosana e géis formando polímeros, tais como hidroxipropil metilcelulose (HPMC). Estas misturas de filmes foram usadas para preparar revestimentos para comprimidos que liberassem os fármacos no cólon. Testes de dissolução *in vitro* de comprimidos revestidos usando enzima pectinolítica mostraram que a liberação do fármaco foi acelerada pela ação do preparado enzimático ao ser comparada com a dissolução em sistemas livres da enzima (CHOURASIA; JAIN, 2003; SINHA; KUMRIA, 2003).

Outro polissacarídeo examinado por sua capacidade de retardar a liberação de fármacos no trato intestinal é a goma guar (GG). O cólon contém enzimas capazes de degradar GG em pequenas cadeias de ácidos graxos (FRIEND, 2005).

Comprimidos compostos principalmente de GG e o fármaco dexametasona foram administrados oralmente em humanos e seu percurso e desintegração foram acompanhados por meio de gama-cintilografia. Essa formulação liberou um pouco do fármaco antes da chegada ao cólon, sendo a maioria liberada no intestino grosso e esta liberação esteve geralmente relacionada com a desintegração do comprimido. Os resultados sugerem que esta abordagem de revestimento por compressão poderia melhorar a liberação controlada (FRIEND, 2005).

Formulações baseadas em polissacarídeos representam uma abordagem de formulação relativamente simples, que pode ser produzida em diferentes escalas de maneira reprodutível e barata. Se não há modificações químicas nos polissacarídeos, a maioria pode ser usada em produtos sem testes de segurança

adicionais, o que, além de facilitar a comercialização, barateia sua produção (SINHA; KUMRIA, 2003; CHOURASIA; JAIN, 2003).

d) Liberação controlada pela pressão

Outra abordagem para controlar o local e, potencialmente, a taxa da liberação de um fármaco no trato intestinal é usando-se a pressão. Devido à reabsorção de água do intestino grosso, a viscosidade dos conteúdos luminiais aumenta. Como resultado, a pressão intestinal aumenta devido ao peristaltismo no intestino distal, fornecendo meios potenciais para disparar a liberação do fármaco de uma formulação que seja susceptível a mudanças de pressão. Tal abordagem, chamada sistema de cápsulas de liberação no cólon controladas por pressão (*PCDC – Pressure- controlled Colon Delivery Capsule*), tem sido avaliada tanto em humanos como em animais (FRIEND, 2005).

Formulações susceptíveis a mudanças na pressão são preparadas em cápsulas revestidas com etilcelulose. O material utilizado na preparação destas cápsulas são polietilenoglicóis (PEGs), que são capazes de sofrer fusão à temperatura corporal. O sistema se comporta como um balão uma vez que o PEG se liquefaz (FRIEND, 2005).

No intestino superior há suficiente fluidez para manter a integridade deste balão e nenhuma liberação de fármaco ocorre. No intestino grosso, entretanto, a pressão induzida pelo movimento peristáltico afeta diretamente o balão de etilcelulose levando à ruptura e subsequente liberação de fármacos. O momento de tal liberação será dependente da espessura da parede do revestimento de etilcelulose (FRIEND, 2005).

4. POLISSACARÍDEOS BIODEGRADÁVEIS

Polímeros produzidos naturalmente, como celulose, amido, QS, PC e AL, representam materiais biodegradáveis, com baixa toxicidade e de baixo custo.

Eles vêm sendo muito usados como excipientes em muitas formulações farmacêuticas há várias décadas (BERNKOP-SCHNÜRCH, 2000).

A possibilidade de decomposição enzimática destes polímeros por ação das enzimas colônicas, principalmente pelas glicosidases, torna possível a sua aplicação como suporte para formas farmacêuticas de liberação colônica de fármacos (LORENZO-LAMOSA et al., 1998; CHOURASIA; JAIN, 2003; SINHA; KUMRIA, 2003; LUCINDA –SILVA, 2003).

4.1 Quitina e Quitosana

4.1.1. Quitina (QN)

A quitina (QN), cuja origem etimológica grega significa revestimento protetor, é extraída das carapaças de crustáceos, tais como camarão, siri, caranguejos, lagostas e outros (ROBERTS, 1992; KIMURA, 2001; MONTENBAULT; CITON; DOMARD, 2005). Do ponto de vista estrutural, a QN é um polissacarídeo linear constituído por unidades de 2-acetamida-2-desoxi-D-glicopiranosose unidas por ligações β -(1,4). Sua estrutura é similar à da celulose, exceto pelo fato de que o grupo hidroxila do carbono na posição 2 do anel glicopiranosídico é substituído por grupo acetamida (Figura 02). Esta semelhança estrutural reflete-se nas funções

similares destes dois polímeros na natureza, pois ambos atuam com material estrutural e protetor (SIGNINI, 2002).

As principais fontes de obtenção da QN em laboratório são os exoesqueletos de vários crustáceos. Esta QN está fortemente associada com proteínas, material inorgânico, pigmentos e lipídeos.

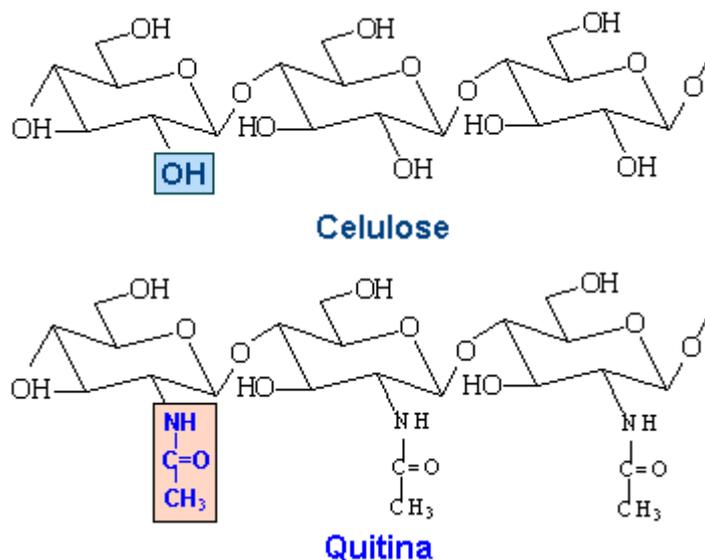


Figura 02- Estrutura da quitina e da celulose.

4.1.2. Quitosana (QS)

A QS (Figura 03) é um polissacarídeo obtido da reação de desacetilação da quitina em soluções alcalinas (DENKBAS et al., 2002; CHANG; LIN, 2000). Durante a reação de desacetilação, os grupamentos acetamido (-NHCOCH₃) da QN são transformados, em graus variados, em grupos amina (-NH₂), dando origem à QS (KIMURA, 2001).

As propriedades físicas e químicas da QN e de seus derivados *N*-desacetilados (QS) são muito diferentes. O grau de desacetilação (GD) e a massa molecular são importantes características que podem influenciar o desempenho da quitosana em muitas de suas aplicações (CANELA e GARCIA, 2001).

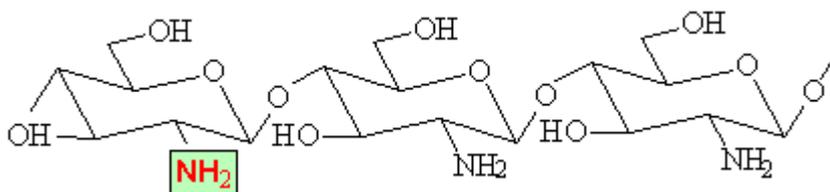


Figura 03. Estrutura molecular da Quitosana.

A QN é praticamente insolúvel em água, ácidos diluídos, álcalis concentrados e na maioria dos solventes orgânicos (KIMURA, 2001; SANTOS et al., 2003).

A QS é insolúvel em água e solúvel na maior parte dos ácidos orgânicos, como ácido acético, fórmico, cítrico, além de ácidos inorgânicos, como ácido clorídrico diluído, resultando soluções viscosas (MATHUR; NARANG, 1990; SANTOS et al., 2003).

A solubilidade da QS está relacionada com a quantidade de grupos amino protonados ($-\text{NH}_3^+$) na cadeia polimérica. Quanto maior a quantidade destes grupos, maior a repulsão eletrostática entre as cadeias e também maior a solvatação em água (SANTOS et al., 2003).

A QS comporta-se como um polieletrólito catiônico moderadamente básico ($\text{pK}_a = 6,3$), formando sal com ácidos (PETER, 1995), propriedade que a torna mais adequada que a celulose, a qual, para exibir propriedades de troca iônica, precisa ser convertida em derivados contendo grupamentos químicos apropriados. Além disso, a presença de grupos amino primários na QS oferece maiores possibilidades

de modificações, tais como *N*-acilação e *N*-alquilação (RATHKE; HUDSON, 1994; ZHAO et al., 2003) e complexação com outros polieletrólitos, como alginato, pectina (PC), dextrana e outros (GAMZAZADE; NASIBOV, 2002).

A figura 04 apresenta um esquema simplificado do método de obtenção da QS.

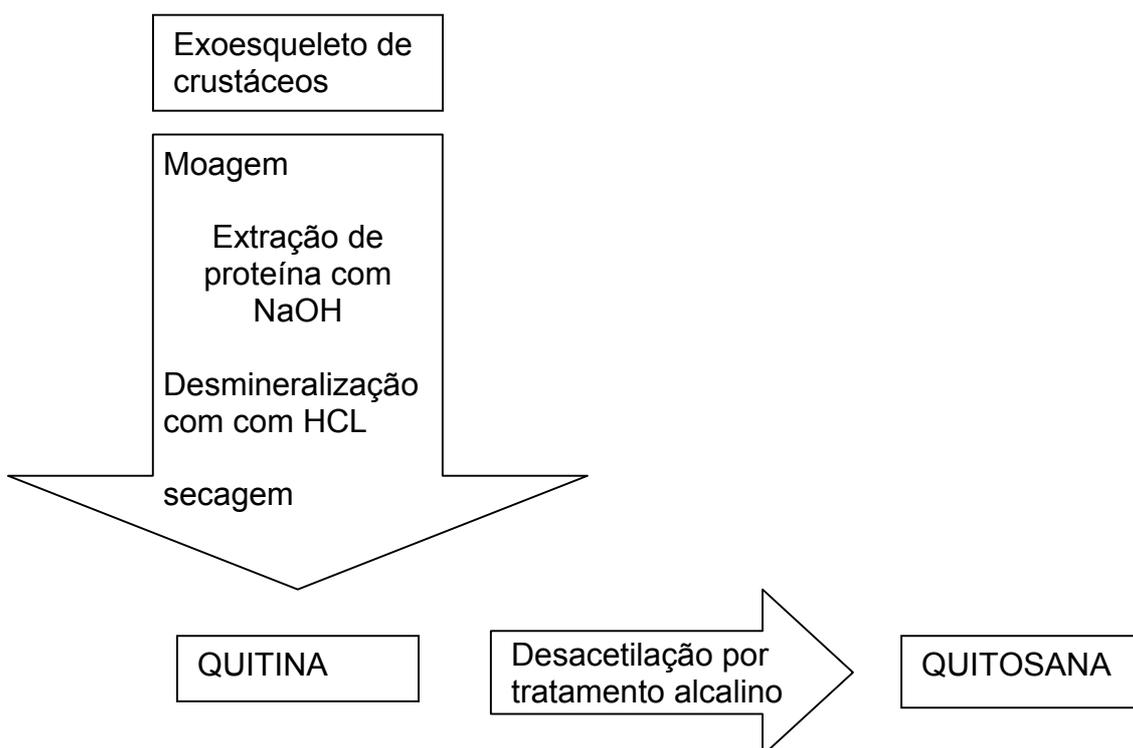


Figura 04. Esquema simplificado do processo de obtenção da quitina e quitosana (BEPPU, 1999).

É um polímero hidrofílico não tóxico (DL: dose letal em ratos 16g/kg), biodegradável, biocompatível, bioativo e possui propriedades bactericidas (DENKBAS et al.,2002; KAS, 1997; CHANG; LIN, 2000; PINEDO; DELGADO; DELLAMARY, 2001; KHOR; LIM, 2003; CERVERA et al., 2004)

Algumas propriedades biológicas, tais como atividades antimicrobiana e cicatrizante, têm sido atribuídas aos fragmentos (oligossacarídeos) resultantes da degradação enzimática da QS.

Atualmente a QS está despertando muito interesse para aplicações médicas e farmacêuticas. As principais razões para esta atenção crescente são certamente suas interessantes propriedades intrínsecas, como a biocompatibilidade, que permite seu uso em várias aplicações médicas. Além disso, a QS é metabolizada por certas enzimas, especialmente a lisozima, sendo, por isso, considerada biodegradável (BERGER et al., 2004).

Algumas das aplicações da QS na área de biomateriais são: manufatura de lentes de contato, membranas artificiais, pele artificial, engenharia de tecidos, aplicações ortopédicas e periodontais e veiculação de fármacos e DNA.

A QS tem se mostrado promissora na preparação de sistemas carreadores para liberação colônica de fármacos (SHIMONO et al., 2002), sendo degradada pelas enzimas glicosídicas presentes no cólon. Essas enzimas são responsáveis pela hidrólise de di-, oligo- e polissacarídeos e são secretadas por bactérias anaeróbicas no cólon humano, predominantemente *Bacteroides* e *Bifidobacteria*.

Zhang e Neau (2002) estudaram a degradação enzimática de amostras de QS através de testes com enzima comercial e enzimas presentes no conteúdo fecal de ratos. Os resultados mostraram que as amostras de QS foram degradadas pelos dois tipos de meios enzimáticos utilizados e que a degradação é dependente da massa molecular e do grau de desacetilação do polímero.

Partículas de QS, incluindo não só micropartículas e microesferas, mas também os chamados *beads*, podem ser preparadas por diversos métodos, tais como geleificação ionotrópica, extrusão-esferonização, evaporação de solvente, emulsão múltipla, *spray-drying* e coacervação-precipitação, podendo ser usadas também para o revestimento de microcápsulas (LUCINDA-SILVA, 2003).

Estudos avaliando a liberação colônica *in vitro* de uma proteína-modelo, albumina de soro bovino-isotiocianato de fluoresceína, incorporada em sistemas multiparticulados de QS preparados por geleificação ionotrópica com tripolifosfato, mostraram que as partículas foram completamente degradadas por enzimas presentes no conteúdo cecal de ratos, resultando na liberação rápida da proteína (ZHANG; NEAU, 2002).

4.2. Pectina (PC)

A pectina é o componente mais importante na união das paredes celulares das plantas e frutas. É um polissacarídeo natural extraído da parede celular de plantas superiores. Sua principal fonte é o bagaço da maçã e as cascas de frutas cítricas. A composição varia com a fonte e condições de extração, localização e outros fatores ambientais. São polímeros predominantemente lineares, formados principalmente por resíduos de ácido α -(1,4)-D-galacturônico interrompidos por resíduos 1,2 L-raminose (Figura 05) (RUBINSTEIN et al., 1993; THAKUR; SINGH; HANDA, 1997; AHRABI, et al., 2000; CHOURASIA; JAIN, 2003).

O grau de esterificação (DE), que é expresso como porcentagem dos grupos carboxílicos esterificados, é um importante dado para classificar a PC. A PC com baixo grau de metoxilação (com DE < 50%) forma géis rígidos pela interação com íons cálcio ou cátions bivalentes, que reticulam as cadeias do ácido galacturônico (Figura 05) (SRIAMORNSAK; NUNTHANID, 1999; LUCINDA-SILVA, 2003; FRIEND, 2005).

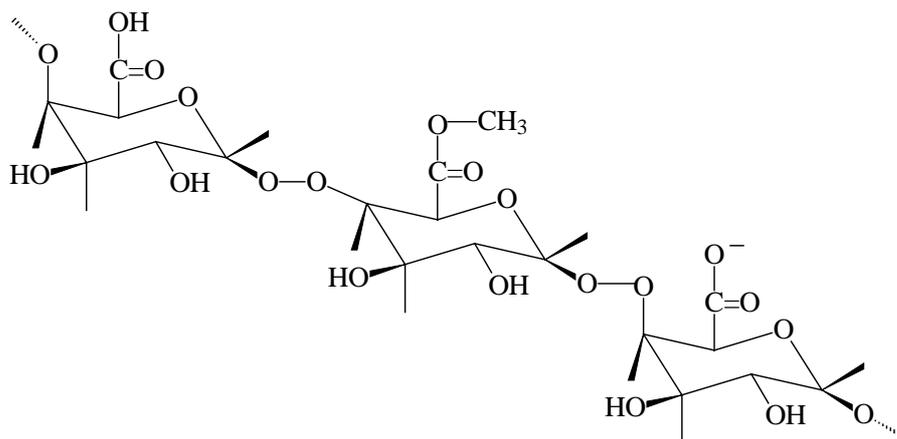


Figura 05. Estrutura química de unidades da PC

Estudos *in vitro* demonstraram que o uso da pectina com alto grau de metoxilas, quando aplicada como camada de revestimento de comprimidos destinados à liberação colônica, foi capaz de proteger a forma farmacêutica durante ensaios simulando o meio gastrintestinal, permanecendo susceptível ao ataque enzimático (CHOURASIA; JAIN, 2003).

Entretanto, estudos *in vivo* demonstraram que era preciso a formação de uma camada de revestimento espessa para proteger a forma farmacêutica. Por isso, houve a necessidade do desenvolvimento de alguns derivados de PC menos solúveis em água, mas que permanecessem com a capacidade de serem degradados pela flora colônica (CHOURASIA; JAIN, 2003).

Na PC obtida de fontes naturais a metoxilação dos grupos carboxílicos pode chegar a 60%, sendo conhecida como PC de alto grau de metoxilação. A PC de baixo grau de metoxilação é obtida por desesterificação parcial via métodos enzimáticos ou químicos, este último empregando soluções ácidas ou alcalinas (THAKUR; SINGH; HANDA, 1997).

A desesterificação alcalina, utilizando solução alcoólica de amônia, leva à formação de PC de baixo teor de metoxilas contendo grupos amídicos e são denominadas PC amidadas, sendo preferencialmente utilizadas quando se deseja a formação de gel com íon cálcio ou poliíons (LUCINDA-SILVA, 2003)

As PCs amidadas são mais tolerantes a variações de pH e a níveis de cálcio do que as PCs convencionais, tornando-as, assim, mais interessantes para serem utilizadas em sistemas de liberação colônica (SINHA; KUMRIA, 2003).

O pH básico favorece a geleificação de PCs de baixo grau de metoxilação, visto que os grupos carboxílicos livres foram complexados com íons cálcio presentes no meio (Figura 06). A característica física do gel é consequência da formação de uma estrutura tridimensional, resultante da reticulação (DEBON; TESTER, 2001; THAKUR; SINGH; HANDA, 1997).

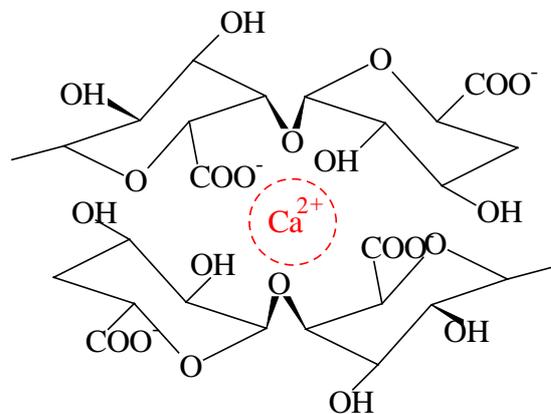


Figura 06 – Representação da ligação de cálcio às seqüências de poligalacturonato da cadeia da PC (DEBON; TESTER, 2001).

Por causa de suas propriedades de formação de filme, os derivados da PC pouco solúveis em água, tais como pectinato de cálcio ou PC amidada, são usados para revestimento por compressão. A penetração do fluido intestinal no revestimento

de PC modificada pode ser alcançada por geleificação e a degradação polimérica depende do seu grau de hidratação (LUCINDA–SILVA, 2003).

Leopold (1999), visando obter menor espessura de revestimento, descreveu um complexo interpolimérico, consistindo de PC:QS (1:10) com uma solubilidade muito baixa em água.

Hidrogéis de pectinato de cálcio são estáveis em pH baixo, porém intumescem em soluções levemente básicas. O pectinato de cálcio tem sido avaliado como revestimento hidrofílico insolúvel para liberação sustentada pelo processo de geleificação ionotrópica. Testes realizados com *beads* de gel de pectinato de cálcio utilizados como carreadores para indometacina e preparados pelo método de gelificação ionotrópica mostraram que a liberação do fármaco foi influenciada pelo tipo de PC, pelo agente enrijecedor usado e pelo teor de fármaco (SRIAMORNSAK; NUNTHANID, 1999).

Fernández-Hervás e Fell (1998) revestiram comprimidos de 3 mm de diâmetro com uma mistura de PC:QS por meio de uma segunda compressão. Os comprimidos foram avaliados *in vitro* na presença ou não de enzimas pectinolíticas. Os autores observaram que o revestimento dos comprimidos com a mistura de QS-PC proporcionou maior proteção do fármaco no TGI superior do que o revestimento contendo somente PC.

5. POLÍMEROS GASTRORRESISTENTES

Polímeros utilizados para o direcionamento ao cólon devem ser capazes de suportar baixos valores de pH do estômago e da parte proximal do intestino delgado, sendo capazes de se desintegrar somente em pH neutro e levemente alcalino da junção ileocecal (CHOURASIA, JAIN, 2003).

Os sistemas pH-dependentes aproveitam-se do aumento progressivo de pH do trato gastrintestinal a partir do estômago (pH 1-2, o qual aumenta para 4 durante a digestão), intestino delgado (pH 6-7), local da digestão, aumentado para 7-8 no íleo distal e, portanto, possibilitam retardamento da liberação e maior proteção do princípio ativo dos fluidos gástricos (FRIEND, 2005).

Os limiares de pH de polímeros gastroessistentes estão descritos no Quadro 03.

Quadro 03 - Limiares de pH de polímeros gastrorresistentes mais usados

Polímeros	Limiar de pH
Eudragit ^R L100	6,0
Eudragit ^R S100	7,0
Eudragit ^R L-30D	5,6
Eudragit ^R FS 30D	6,8
Eudragit ^R L100-55	5,5
Polivinilacetato ftalato	5,0
Ftalato de hidroxipropilmetil celulose	4,5-4,8
Ftalato de hidroxipropilmetil celulose 50	5,2
Ftalato de hidroxipropilmetil celulose 55	5,4
Acetotrimeliato de celulose	4,8
Acetoftalato de celulose	6,0

Portanto, revestimentos gastrorresistentes não somente protegem o medicamento do meio gástrico, permitindo um direcionamento para o intestino delgado, como podem, ainda, dependendo do seu pH de dissolução e da espessura

da camada de revestimento aplicada, passar também pelo intestino delgado, dissolvendo-se totalmente no cólon (CIFTCI; GROVES, 1996).

5.1 Ftalato de hidroxipropilmetilcelulose (FHPMC)

É um derivado da celulose, constituído por grupos hidroxila, alguns deles substituídos por éster metílico, éster 2-hidroxipropílico ou éster ftálico, preparado através da esterificação da Hidroxipropilmetil celulose (HPMC) com anidrido ftálico (Figura 07). O grau de substituintes alcoxi ou carboxibenzoil determina as propriedades do polímero e, em particular, o pH no qual este se dissolve em meio aquoso (EHRHARDT; PATT; SCHINDLER, 1973; ROWE, 1982; SERTSOU et al., 2002).

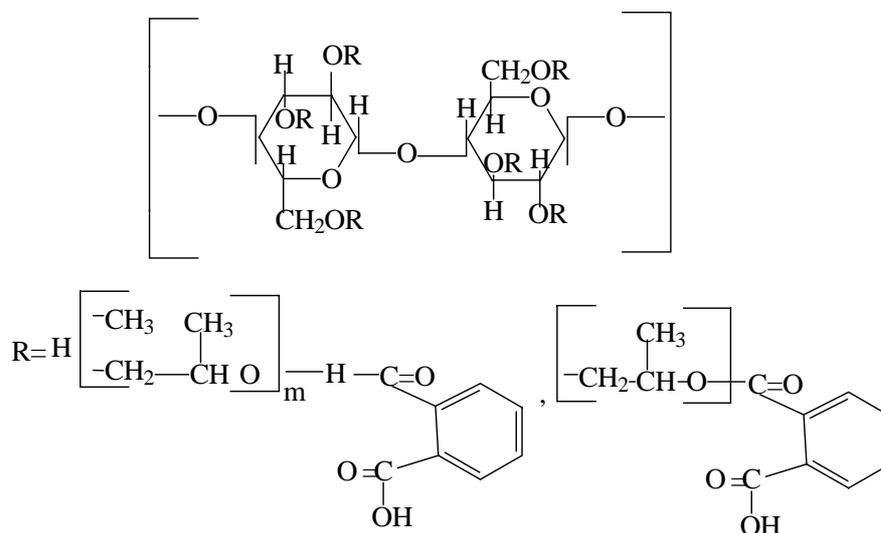


Figura 07. Estrutura molecular do ftalato de hidroxipropilmetil celulose (FHPMC).

É encontrado comercialmente com diferentes valores de massa molecular, sendo mais usados os que estão na faixa de 80.000-130.000 M. É amplamente

utilizado em formulações farmacêuticas orais como revestimento gastrorresistente para comprimidos ou grânulos. Insolúvel em meio gástrico, porém intumescce, dissolvendo-se rapidamente no meio alcalino do intestino. Por ser insípido e insolúvel em pH salivar tem grande aplicação no revestimento de comprimidos com a finalidade de mascarar sabores desagradáveis (ROWE; SHESKEY; WELLER, 2003).

Pode ser usado sozinho ou em combinação com outros excipientes, solúveis ou insolúveis, na preparação de grânulos para propiciar a liberação sustentada de drogas, sendo a taxa de liberação pH-dependente. Utilizado no revestimento de comprimidos para liberação entérica, formando um filme completamente insolúvel nos fluidos gástricos, porém solúvel na região proximal do intestino delgado. É normalmente aliado a grânulos e comprimidos sem a inclusão de plastificantes (SAVAGE; RHODES; PORTER, 1995; TORRES et al., 1995; WEIß, et al., 1995 ; RHODES, 1998; ROWE; SHESKEY; WELLER, 2003).

Comprimidos de paracetamol revestidos com PC:QS:HPMC (3:1:1) foram desenvolvidos para liberação colônica do fármaco. Esse revestimento foi capaz de retardar a desintegração do comprimido até ele alcançar o cólon (MACLEOD; FELL; COLLETT, 1999; OFORI-KWAKYE; FELL, 2001; LUCINDA-SILVA, 2003).

Solúvel em mistura de acetona:metanol ou acetona:etanol (1:1, p/p) e em soluções alcalinas. Insolúvel em acetato de etila, metanol, etanol, propanol e cloreto de metileno. O FHPMC possui baixa toxicidade, provavelmente conseqüência do alto peso molecular, fator limitante da absorção do polímero (ROWE; SHESKEY; WELLER, 2003, 2000).

5.2. Acetofталato de celulose (AFC)

O AFC é um derivado da celulose no qual metade dos grupos hidroxilas está acetilada e 25% deles estão esterificados com um de dois grupos ácidos, sendo um deles o ácido ftálico. O outro grupo ácido é livre (Figura 08).

É produzido através da reação de esterificação parcial do acetato de celulose com o anidrido ftálico na presença de uma base orgânica terciária, assim como a piridina, ou um ácido forte, tal como o ácido sulfúrico (WYATT, 1991; DOELKER, 1993; ROWE et al., 2003).

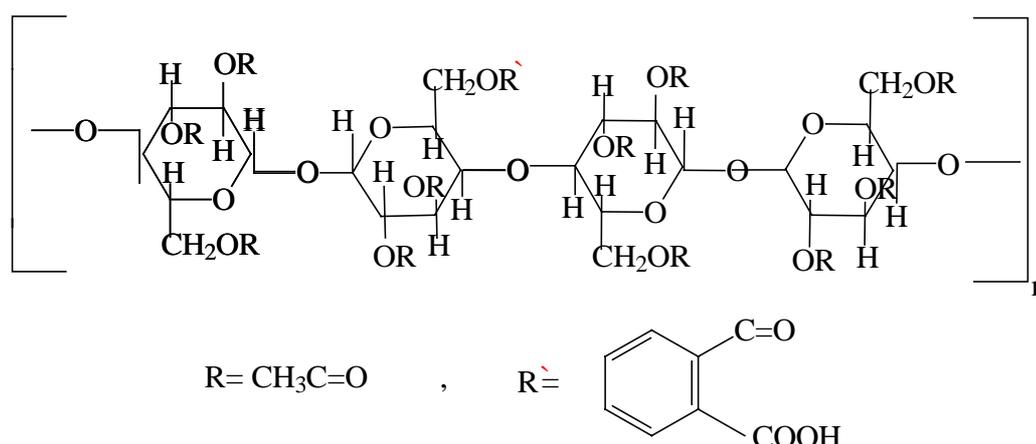


Figura 08. Estrutura molecular do acetofталato de celulose (AFC)

Assim como o FHPMC, o AFC também é um derivado de celulose, muito usado como revestimento gastrorresistente de matrizes, comprimidos ou cápsulas, formando filme resistente ao contato prolongado com o meio muito ácido do fluido gástrico, mas solubilizando no intestino. Sua complexação com outros polímeros torna-o mais efetivo do que quando aplicado sozinho (ROWE et al., 2003).

O AFC é muito utilizado pela indústria farmacêutica para formulações destinadas à via oral, por não causar efeitos colaterais e por não ser tóxico (DOELKER, 1993).

A adição de plastificantes aumenta sua resistência à água e, dessa maneira, torna-o mais eficiente do que quando usado sozinho (ROWE et al., 2003).

Recentemente, descobriu-se a atividade antimicrobiana do AFC, e muitos estudos *in vitro* e *in vivo* têm sido realizados, principalmente para as formulações destinadas ao uso tópico no tratamento de doenças sexualmente transmissíveis (NEURATH et al., 2001).

6. FÁRMACO-MODELO TRIANCINOLONA

A triancinolona é um glicocorticóide (Figura 09), que pode ser utilizado como um álcool livre ou esterificado, geralmente na posição C17. Apresenta-se como um pó branco ou quase branco, praticamente insolúvel em água, pouco solúvel em metanol, praticamente insolúvel em diclorometano, possui ponto de fusão entre 269-271 °C e λ_{\max} 238 nm ($\epsilon = 15800$) (MERCK INDEX, 2001).

É um corticóide, com atividade antiinflamatória, imunossupressora e com efeitos metabólicos baixos, não apresentando atividade mineralocorticóide (retenção de sódio, água e depleção de potássio), embora esse efeito dependa da dose e da predisposição do usuário. Pode ser administrado oralmente, intramuscularmente, por injeção local, por inalação, ou aplicado topicamente em vários casos para os quais o corticóide é indicado (LUCINDA-SILVA, 2003).

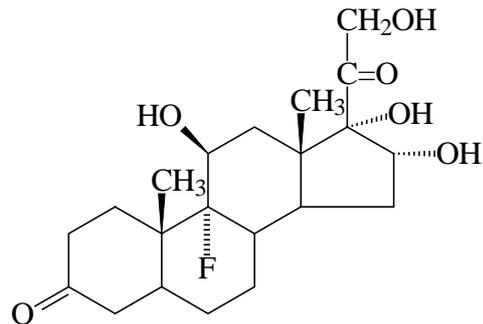


Figura 09. Estrutura molecular da triancinolona (TC)

Alterações na estrutura molecular podem modificar a potência biológica, como resultado de alterações na absorção, na ligação protéica, na taxa de transformação metabólica, na taxa de excreção, na capacidade de atravessar membranas e na eficácia intrínseca da molécula em seu local de ação (SILVA, 2004).

A triancinolona atua inibindo o acúmulo de células inflamatórias, incluindo macrófagos e leucócitos, no local da inflamação, inibe a fagocitose, a liberação de enzimas lisossômicas e a síntese de lipomodulina (macrofantina), que é um inibidor de fosfolipase A₂ e mediador da liberação de ácido araquidônico e mediadores de inflamação (prostaglandinas, tromboxanos da série 2 e leucotrienos da série 3). Sua atividade imunossupressora também pode contribuir para a inibição do processo inflamatório (USP DI, 1999).

Os glicocorticóides têm sido usados no tratamento de doenças inflamatórias colônicas por muitos anos e são fármacos de escolha no tratamento de colite ulcerativa ativa (FRIEND, 1998). As propriedades antiinflamatórias de doses farmacológicas de glicocorticóides foram testadas na colite ulcerativa logo após o uso de sulfasalazina. Inicialmente, a aplicação retal de cortisona foi tida como

benéfica e a potência dos esteróides superou a sulfasalazina na colite ativa, incluindo melhora clínica, endoscópica e patológica, quando administrada por via tópica, oral ou parenteral. São múltiplas as propriedades antiinflamatórias dos esteróides na colite ulcerativa, incluindo linfocitotoxicidade, redução da liberação de citocinas e inibição da liberação de ácido araquidônico de membranas (HANAUER, 1993).

III. OBJETIVOS

Objetivo Geral

Desenvolvimento e avaliação de sistemas multiparticulados á base de QS incorporados com polímeros gastrorresistentes, visando à obtenção de sistemas terapêuticos que permitam a liberação do fármaco no cólon.

Objetivo Específico

- a.** preparação de cápsulas de PC:QS incorporadas com ftalato de hidroxipropilmetil celulose (FHPMC) pelo método de coacervação complexa;
- b.** preparação de cápsulas de PC:QS incorporadas com acetoftalato de celulose (AFC), pelo método de coacervação complexa;
- c.** caracterização morfológica e granulométrica das partículas ;
- d.** preparação de cápsulas das diferentes composições descritas em “a” e “b”, contendo o fármaco modelo triancinolona
- e.** avaliação da capacidade de intumescimento dos sistemas obtidos em meios com diferentes valores de pH;
- f.** determinação do teor e da eficiência de encapsulação dos sistemas
- g.** determinação do perfil de liberação do fármaco *in vitro*, utilizando meios de dissolução que simulam o trânsito gastrintestinal.

IV. MATERIAIS E MÉTODOS

1. MATÉRIAS-PRIMAS

- Quitosana – Galena;
- Ftalato de hidroxipropilmetil celulose – Sigma;
- Acetofalato de celulose – Sigma;
- Pectina 8002 (baixo teor de metoxilas)- Braspectina ;
- Triancinolona – Galena;
- Acetona p.a – SYNTH;
- Ácido acético glacial p.a – SYNTH;
- Ácido clorídrico p.a – MERCK;
- Cloreto de cálcio anidro para dessecador – SYNTH;
- Hidróxido de sódio – SYNTH;
- Fosfato de potássio monobásico p.a – MERCK;
- Tris hidroximetil aminometano – Aldrich;

2. EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS

- Agitador magnético -SELECTA Multimatic 9S;
- Balança analítica -OHAUS - mod. AS 200S e AP250D;
- Bomba de vácuo – Tecnal – TE-058;
- Espectrofotômetro de Infravermelho – Shimadzu 8300;
- Espectrofotômetro de UV/VIS – -HITACH - mod. U-2000;
- Estereoscópio – -LEICA - mod. MZ APO;
- Liofilizador - -EDWARDS - mod. Modulyo Pirani 10;
- Microscópio eletrônico de varredura – JEOL JSM-T330A;
- pH-metro - -QUIMIS, mod. Q-400M;
- Purificador de água Millipore – mod. Milli-Q Plus;
- Ultrassom – -SONICLEAN, mod. SNC 5036 D.M.C.

MÉTODOS

1. CARACTERIZAÇÃO DOS POLÍMEROS

1.1. *Purificação da Quitosana*

A quitosana impura (2g) foi dissolvida em 400mL de ácido clorídrico 0,1mol/L. A dispersão resultante foi filtrada (papel de filtro) e a quitosana então foi precipitada pela adição de solução de hidróxido de sódio 1mol/L, sob agitação e aquecimento. A amostra purificada foi então filtrada a vácuo em funil de Büchner, congelada com nitrogênio líquido e liofilizada. O rendimento foi verificado por gravimetria.

1.2. *Determinação do grau de desacetilação da quitosana*

O grau de desacetilação (GD) da quitosana foi determinado pelo método da primeira derivada da espectrofotometria na região do UV, descrito por Tan e colaboradores, (1998), em trabalho que visava aprimorar a metodologia descrita por Muzzarelli e colaboradores em 1997. É um método que permite uma análise simples e rápida.

Todos os ensaios foram realizados em triplicata, por espectroscopia na região do UV, analisadas como primeira derivada da absorbância por comprimento de onda, fazendo-se as leituras a cada 1 nm na faixa de 190 a 250 nm, com caminho óptico de 1cm.

Para a realização desta análise a QS e a N-acetil-glicosamina (NAG) foram dissolvidas em ácido acético. A fim de verificar a interferência do ácido acético no

espectro de absorção das amostras, foram preparadas três soluções deste solvente em concentrações diferentes (0,01; 0,02; 0,03 mol/L) e o perfil de absorção destas soluções foi determinado.

Através da sobreposição dos espectros obtidos das três concentrações de ácido acético, observou-se a convergência destes espectros para um ponto comum, sendo assim determinado o ponto isobéptico em 202,9 nm.

Para determinação do GD da amostra de QS foi necessária a obtenção da curva de calibração da NAG. Para isto, preparou-se uma solução de NAG na concentração de 200 µg/mL em solução de ácido acético 0,01 mol/L, da qual foram preparadas soluções diluídas em diferentes concentrações (5; 10; 20; 30 e 40 µg/mL).

O gráfico obtido com as soluções de ácido acético (0,01; 0,02; 0,03 N) foi então sobreposto ao obtido com NAG (5;10;20;30 e 40 µg/mL), e a curva analítica foi traçada com a medida da intensidade dos picos de cada concentração de NAG em relação ao ponto isobéptico em 202,9 nm.

Para a quantificação dos grupos acetil nas amostras de quitosana, foram preparadas dispersões de QS na concentração de 100 µg/mL em solução de ácido acético 0,01 mol/L e fizeram-se as leituras no comprimento de onda de 202,9 nm no espectro de primeira derivada de absorbância.

A determinação de proporção de grupos NAG na amostra foi realizada a partir da curva de calibração descrita acima.

1.3. Análise espectrofotométrica da Quitosana na região do infravermelho

A amostra de quitosana pura, para análise na região do infravermelho, foi preparada em pastilhas de KBr. Cerca de 10mg do polissacarídeo seco, foram triturados e mecanicamente compactados com 100mg de KBr. O disco de KBr da mistura dos pós foi então submetido à análise, no intervalo de 400-2500 cm^{-1} .

2. CARACTERIZAÇÃO DO FÁRMACO-MODELO TRIANCINOLONA (TC)

2.1. Determinação do pico de absorção máxima do fármaco na região do ultravioleta (UV)

Foi realizada análise por espectrofotometria na região do UV da TC em pH neutro para determinação do pico de absorção máxima do fármaco. Foram preparadas soluções diluídas de TC em tampão fosfato 50 mM pH 7,4. Estas soluções foram analisadas na região do UV e o pico de absorção máxima foi registrado.

2.2. Curvas analíticas para quantificação do fármaco por espectroscopia na região do UV

As curvas analíticas de TC foram realizadas em tampão fosfato 50 mM pH 7,4, tampão fosfato 10 mM pH 5,0 contendo 2% de enzima pectinase e solução HCl 0,1 mol/L pH 1,0.

As leituras foram realizadas em espectrofotômetro de UV em 242 nm e as análises foram realizadas em triplicata. A faixa de linearidade do método, a equação da reta e o erro do método foram determinados.

2.3. Solubilidade

Para a determinação da solubilidade do fármaco, cerca de 60 mg de TC foram colocados em contato com 25 mL do solvente (tampão fosfato 0,05 mol/L, solução de HCl 0,1 mol/L e água) deixando sob agitação periódica por 48 horas. Após este período, as soluções foram centrifugadas e o sobrenadante foi quantificado por espectrofotometria na região do UV. O ensaio foi realizado a 25 °C e em triplicata.

2.4. Análise espectrofotométrica do fármaco na região do infravermelho

Para a análise na região do infravermelho da TC, as amostras foram preparadas adicionando-se cerca de 5 mg de TC em 100 mg de KBr, sendo esta mistura homogeneizada e posteriormente compactadas. Os discos foram submetidos à análise, no intervalo de 400-2500 cm⁻¹.

3. PREPARAÇÃO DAS CÁPSULAS INERTES

3.1. Preparação de cápsulas inertes de PC:QS

Sendo a quitosana um polícatión e a pectina um poliânion, as micropartículas foram preparadas pelo método de coacervação complexa. Neste processo, colóides

de cargas opostas se neutralizam, formando um precipitado insolúvel (PETRAK, 1986).

Para tal, foram preparadas dispersões de PC a 1,5 % em água pH 4,8, que foi gotejada à dispersão do polication QS a 0,5 %, disperso em solução de ácido acético 0,1 mol/L, pH 5,0, contendo 2 % de cálcio, na forma de cloreto de cálcio.

Para o gotejamento utilizou-se seringa e agulha de 250 μm de diâmetro. Após a adição da dispersão de PC na dispersão de QS, as partículas foram deixadas sob agitação magnética por aproximadamente duas horas para completa reticulação do sistema, sendo então filtradas em funil com papel de filtro e lavadas três vezes com água purificada (milli-Q), para a retirada de polieletrólitos em excesso. Terminada a filtração, a amostra sólida foi congelada com nitrogênio líquido e seca por liofilização.

3.2. Preparação das cápsulas com polímeros gastrorresistentes

Os polímeros gastrorresistentes incorporados nas partículas de Pectina e Quitosana foram o Ftalato de hidroxipropilmetil celulose (FHPMC) e o acetofalato de celulose (AFC). No procedimento, foram preparadas dispersões de FHPMC 0,5 e 1,0% e dispersões de AFC 0,5% em solução de NaOH 0,05 mol/L, sendo ambos os polímeros umedecidos com acetona antes da adição da solução de NaOH.

O NaOH foi escolhido como solvente, devido às características do FHPMC e o AFC de se dissolverem em pH > 5,5 e pH > 6, respectivamente. Outros solventes foram inicialmente utilizados (solução hidroalcolica (2:3) e solução água:acetona (3:1)), porém apesar de dissolverem mais facilmente os polímeros AFC e FHPMC, interferiram com o processo de formação das partículas.

Para a solubilização do AFC e do FHPMC, alguns cuidados devem ser tomados. Os polímeros devem ser umedecidos com acetona (1mL de acetona para 25mL de solução) para que solubilizem rapidamente antes da adição de NaOH 0,05 mol/L, sendo que, o AFC obrigatoriamente deve ser adicionado à acetona e jamais o contrário, fato este, que dificulta o processo de dispersão deste polímero. As misturas FHPMC:Acetona e AFC:Acetona devem ser deixadas em repouso até completa solubilização. Após estes procedimentos, o béquer contendo os polímeros já solubilizados deve ser colocado em agitador magnético e a solução de NaOH 0,05 mol/L deve ser adicionada, aos poucos, sob agitação vigorosa até completa dissolução. As dispersões foram também colocadas no aparelho de ultrassom para facilitar o procedimento de dissolução. Após a dissolução, o pH da solução foi corrigido para 5 com a adição de solução de HCL 0,1 mol/L, sob agitação magnética e quando necessário colocado novamente no aparelho de ultrassom.

O volume de 5 mL da solução obtida foi adicionado à dispersão aquosa de PC e esta mistura foi gotejada na dispersão de QS contendo cloreto de cálcio. Após 2h de contato sob agitação, as cápsulas obtidas foram lavadas três vezes com água purificada (para retirada dos polieletrólitos em excesso), filtradas, congeladas com nitrogênio líquido e liofilizadas.

4. CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS INERTES

As cápsulas obtidas foram caracterizadas, quanto à sua morfologia, granulometria e características de intumescimento, tendo como objetivo a obtenção de produto com qualidade, rendimento e boa taxa de incorporação.

4.1. Análise morfológica

Para a análise morfológica das partículas foi utilizado o estereoscópio *Leica MZ APO* e a microscopia eletrônica de varredura.

Na análise realizada em estereoscópio, as amostras foram colocadas diretamente em placas de *Petri* e analisadas.

Para análise em microscópio eletrônico de varredura, as amostras secas foram distribuídas sobre uma fita adesiva dupla-face aderida a um suporte de metal, revestidas com ouro coloidal sob vácuo e analisadas.

4.2. Análise granulométrica

A análise granulométrica das partículas foi realizada através do estereoscópio *Leica MZ APO* e do programa *Leica Qwin Image Analysis Systems* para medição. As partículas foram colocadas em placa de *Petri* e foi feita a análise da distribuição do tamanho das partículas de cada lote, usando para medição o diâmetro segundo Feret a 0^0 . As análises foram realizadas sempre partindo de uma objetiva com aumento de 10 vezes.

4.3. Análise de intumescimento

O intumescimento foi avaliado em meios com diferentes valores de pH, simulando os diferentes ambientes do TGI: meio gástrico simulado (pH 1,2), meio

ácido pH 3,0, meio entérico simulado (tampão fosfato pH 7,4). A capacidade de intumescimento foi determinada através da verificação do aumento de diâmetro das partículas (MUNJERI; COLLETT; FELL, 1997; LEOPOLD; EIKELER, 1998), o qual foi medido antes do contato e após 30, 60, 90 e 120 min. de contato com o meio estudado. Para este ensaio, utilizou-se estereoscópio *Leica MZ APO* e software *Leica Qwin*, analisando-se o diâmetro segundo Feret na direção horizontal (0°), que é o maior segmento horizontal unindo pontos extremos da partícula (BARBER, 1993). O índice de intumescimento foi calculado usando-se a equação 1 abaixo:

$$I(\%) = \frac{d_1 - d_0}{d_0} \times 100 \quad \text{Eq. 1}$$

Onde:

I (%) = porcentagem de intumescimento;

d_1 = tamanho da partícula após determinado tempo de contato com o meio de intumescimento;

d_0 = tamanho da partícula antes do contato com o meio de intumescimento.

5. PREPARAÇÃO DAS CÁPSULAS CONTENDO TRIANCINOLONA (TC)

Como fármaco-modelo para este trabalho escolheu-se a triancinolona (TC), que é um corticosteróide usado no tratamento de colite ulcerativa. A TC é pouco solúvel em água, o que permite a sua incorporação em sistemas preparados em meio aquoso. Para a incorporação da TC nas cápsulas, a mesma foi suspensa na

dispersão do poliânion PC, antes do gotejamento deste na dispersão de QS, método descrito no item 2.1. A dispersão (TC:FHPMC:PC ou TC:AFC:PC) foi mantida sob agitação magnética durante todo o processo de gotejamento.

6. CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS CONTENDO FÁRMACO (TC)

As cápsulas contendo TC foram caracterizadas quanto à morfologia, granulometria, intumescimento e ensaios de teor e de eficiência de encapsulação, sendo os três primeiros métodos já descritos nos itens 4.1, 4.2 e 4.3.

6.1. Determinação do teor e eficiência de encapsulação

O teor de encapsulação do fármaco corresponde à porcentagem que este representa na partícula.

Para determinação do teor de encapsulação 5 mg de partículas foram pesados e adicionados a 100mL de solução tampão 50 mM pH 7,4, e deixadas sob agitação constante em agitador magnético por 3 horas até completo rompimento das partículas.

Após agitação, a amostra foi filtrada em papel de filtro para retirada de eventuais resíduos e a quantificação do fármaco foi realizada em espectrofotômetro UV a 242 nm. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Para a calibração do aparelho foi utilizado como branco, 5 mg de partículas sem o fármaco, que passaram pelo mesmo processo de extração das partículas contendo fármaco-modelo (TC).

O teor de encapsulação foi calculado a partir da seguinte equação.

$$TE(\%) = \left(\frac{m_{TC}}{m_{am}} \right) \cdot 100 \quad \text{Eq. 2}$$

Onde:

TE = Teor de encapsulação;

m_{TC} = massa de TC quantificada na amostra;

m_{am} = massa de cápsula usada na amostra.

Eficiência de encapsulação corresponde a quantidade de fármaco que foi incorporado pelo sistema. A eficiência de encapsulação foi calculada a partir do teor e do rendimento em massa do lote das cápsulas analisadas (Equação 3).

$$EE(\%) = \left(\frac{TE \cdot R}{m_{TC \text{ total}}} \right) \cdot 100 \quad \text{Eq. 3}$$

Onde:

EE = eficiência de encapsulação;

TE = teor de encapsulação;

R = rendimento em massa do lote que está sendo analisado

$m_{TC \text{ total}}$ = massa de fármaco total usado na preparação do lote que está sendo analisado.

6.2. Validação da metodologia empregada para a determinação do teor e eficiência de encapsulação por espectroscopia na região do UV

Este experimento foi realizado para garantir, por meio de estudos experimentais, que a metodologia utilizada para a determinação do teor e da eficiência de encapsulação, atendessem às exigências analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados obtidos. Para tanto, os parâmetros de validação estudados foram: especificidade, linearidade, precisão, recuperação, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ). (ANVISA, 2003; ICH, 1996; USP, 2001).

a) Especificidade

Especificidade é a capacidade do método de avaliar um composto em presença de outras substâncias, tais como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz. A determinação da especificidade pode ser realizada através da análise de amostra contendo esses interferentes, determinando a capacidade do método em gerar informações confiáveis na presença dos mesmos (ANVISA, 2003; ICH, 1996; USP, 2001).

Com o objetivo de verificar a interferência de algum componente presente na solução tampão fosfato pH 7,4 ou da matriz na análise para determinação do teor e da eficiência de encapsulação, os parâmetros de especificidade foram estabelecidos pela comparação dos resultados obtidos de amostras contaminadas (solução tampão fosfato contendo TC + partículas) e de amostras não contaminadas (solução tampão fosfato contendo TC).

b) Linearidade

A linearidade é a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais a concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado (ANVISA, 2003; ICH, 1996; USP, 2001).

A linearidade do método foi determinada através da obtenção da curva padrão de triancinolona (TC) em tampão fosfato 50 mM pH 7,4. A partir de soluções estoque, contendo 80 µg/mL em tampão fosfato 50mM pH 7,4, foram preparadas diluições com concentrações variando de 5 a 50 µg/mL, sendo todas as diluições preparadas em triplicatas.

A curva padrão foi então gerada, relacionando a concentração de TC à resposta obtida por espectroscopia na região do UV, através dos valores de absorbância ($A_{<242\text{nm}>}$) correspondentes às concentrações de TC.

c) Precisão

Precisão é a avaliação da proximidade das respostas obtidas quando uma série de medidas forem realizadas para uma mesma amostra, em idênticas condições de teste. Esta é considerada em três níveis, verificada por, no mínimo, nove determinações contemplando o intervalo linear do método, ou seja, três concentrações (baixa, média e alta) em triplicata ou mínimo de seis determinações com 100% da concentração do teste (ANVISA, 2003).

A partir da solução estoque de TC em tampão fosfato 50mM pH 7,4, foram preparadas soluções de TC nas concentrações de 5, 35, 50 µg/mL, correspondentes as concentrações baixa, média e alta do intervalo linear da curva padrão. Estas

soluções foram analisadas por espectroscopia na região do UV e a análise foi realizada em triplicata.

d) Recuperação

O ensaio de recuperação constitui o método mais utilizado para validação de processos analíticos. A recuperação está relacionada com a exatidão, pois determina a quantidade de fármaco recuperado no processo de preparação da amostra (ANVISA, 2003).

O teste foi realizado adicionando-se quantidades conhecidas de TC na solução de tampão fosfato 50mM pH 7,4, contendo 5mg de partículas inertes, para o preparo de soluções amostras. A quantidade de fármaco adicionada corresponde às regiões inferior, mediana e superior da curva analítica, respectivamente, 15, 35, 50 µg/mL. As amostras foram analisadas por espectroscopia na região do UV.

A recuperação foi calculada como porcentagem de recuperação da quantidade conhecida de fármaco adicionada à amostra, acrescida dos intervalos de confiança, utilizando a seguinte fórmula (Equação 4):

$$R(\%) = \frac{C}{C_0} \times 100 \quad \text{Eq. 4}$$

Onde:

C = média das concentrações determinadas experimentalmente;

C₀ = concentração teórica inicial

e) Limite de Detecção e Limite de Quantificação

Para a realização desta análise foram preparadas três soluções em concentrações próximas ao limite inferior da curva analítica e avaliado o desvio padrão dos valores encontrados para que, pelos respectivos cálculos matemáticos, fosse possível determinar LD e LQ. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

O limite de detecção (LD) é determinado pela menor quantidade de fármaco presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas (ANVISA, 2003).

O LD (Equação 5) foi calculado baseando-se no desvio padrão (s) e na inclinação da curva analítica (α) expresso como:

$$LD = \frac{S}{\alpha} \times 3 \quad \text{Eq. 5}$$

Onde:

S = Desvio padrão

α = inclinação da curva padrão

O limite de quantificação (LQ) é determinado pela menor quantidade de fármaco em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas (ANVISA, 2003). O LQ (Equação 6), foi calculado baseando-se no desvio padrão (s) e na inclinação da curva analítica (α)

$$LQ = \frac{s}{\alpha} \times 10 \quad \text{Eq. 6}$$

Onde:

S = desvio padrão

α = inclinação da curva analítica

6.3. Ensaio de liberação do fármaco “in vitro”

6.3.1. Ensaio de liberação do fármaco usando meio ácido ou meio entérico

Este ensaio foi realizado para verificação do perfil de liberação e análise dos mecanismos de liberação do fármaco *in vitro*. O ensaio foi realizado em estação de dissolução, utilizando o método de cestas, sob as seguintes condições:

Volume do meio de dissolução : 900 mL;

Velocidade de agitação: 50 rpm;

Temperatura: $37 \pm 0,5$ °C;

Tempo de ensaio: 6 h;

Tempo de amostragens: 15; 30; 45; 60; 90; 120; 180; 240; 300; 360;

Amostra: cerca de 40 mg de partículas;

Meios de liberação: suco gástrico simulado sem enzimas e suco entérico simulado sem enzimas. O fármaco foi quantificado por espectroscopia de UV.

6.3.2. Ensaio de liberação do fármaco em meio colônico simulado

A fim de verificar o perfil de liberação da TC no cólon, as partículas foram submetidas ao ensaio em meio colônico simulado. Para tanto, usou-se como meio tampão fosfato 10 mM pH 5,0, contendo 2% de enzima pectinase (Pectinex[®] Ultra SP-L). O ensaio foi realizado conforme descrito no item 6.3.1.

7. ANÁLISE NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DOS COMPLEXOS

Para análise dos complexos polieletrólíticos formados entre os polímeros, foram obtidos espectro na região do infravermelho dos polímeros isoladamente PC, QS, FHPMC, AFC, do fármaco TC, da mistura física QS:PC, QS:PC:FHPMC:TC, e QS:PC:AFC:TC e dos complexos polieletrólíticos QS:PC QS:PC:FHPMC:TC e QS:PC:AFC:TC. Esta análise foi realizada conforme metodologia já descrita no item 1.3, para que possíveis alterações ocasionadas pela incorporação dos polímeros gastrorresistentes no sistema multiparticulado, fossem observadas.

V. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. CARACTERIZAÇÃO DOS POLÍMEROS

1.1. Purificação da Quitosana (QS)

A quitosana é solúvel em soluções de ácidos diluídos em pH inferior a 6 e apresenta solubilidade limitada em pH mais alto, geleificando ou precipitando em pH maior que 6. Por isso, pode-se purificá-la por dissolução em ácido diluído e precipitação pela adição de álcali aquoso, eliminando-se, desta forma, algumas impurezas que não apresentem o mesmo comportamento de solubilidade ou que ficam retidas na filtração (BRINE, 1984; RATHKE; HUDSON,1994).

A purificação da quitosana comercial foi realizada devido à necessidade de se ter uma matéria-prima mais pura, facilitando, assim, sua identificação e melhorando suas propriedades físico-químicas, tais como tamanho de partículas, viscosidade e solubilidade.

Neste procedimento, descrito em métodos no item 1.1, obteve-se, logo após a liofilização, uma amostra esponjosa, característica de materiais liofilizados, que foi triturada em gral de porcelana, originando partículas menores e mais uniformes.

O rendimento obtido com a purificação de amostras de quitosana está representado na Tabela 01

Tabela 01. Rendimento do processo de purificação de quitosana

Lotes	QS impura (g)	QS purificada (g)	Rendimento(%)
Q1	6,0	5,25	87,50
Q2	2,0	1,85	92,70

Antes do processo de purificação a quitosana apresentava-se em flocos grandes e contendo muitas impurezas.

Após a purificação, a quitosana apresentou maior solubilidade em solução ácida diluída e tamanho de partícula bastante reduzido quando comparado ao produto bruto, como mostra a **Figura 10**.

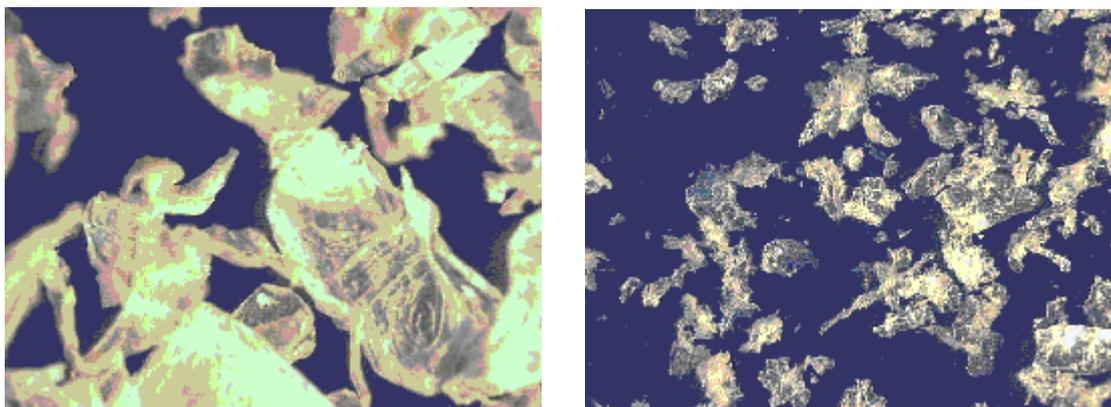


Figura 10. Fotomicrografia de quitosana antes e após o processo de purificação respectivamente (aumento de 40 vezes).

1.2. Determinação do GD da QS

A QS é obtida a partir da reação de desacetilação da quitina (QN) em soluções alcalinas (DENKBAS et al., 2002). Durante a reação de desacetilação os

grupamentos acetamido ($-\text{NHCOCH}_3$) da QN são transformados, em graus variados, em grupos amino ($-\text{NH}_2$), dando origem à QS (KIMURA, 2001).

O grau de desacetilação (GD) é uma característica importante que pode influenciar o desempenho da quitosana em muitas de suas aplicações (CANELLA; GARCIA, 2001). Ele determina o conteúdo de grupos amino livres na cadeia polimérica, diferenciando a QS da QN e influenciando suas características físicas, químicas e biológicas, tais como: solubilidade, resistência de filmes, capacidade de quelar metais e, também, atividade imunoadjuvante (TAN et al., 1998).

A solubilidade da QS está diretamente relacionada com a quantidade de grupos amino protonados ($-\text{NH}_3^+$) na cadeia polimérica. Quanto maior a quantidade destes grupos, maior a repulsão eletrostática entre as cadeias e também maior a solvatação em água (SANTOS et al., 2003).

Entre os métodos utilizados para a determinação do GD da QS pode-se citar a espectroscopia no infravermelho (MUZZARELLI et al., 1997; SABNIS; BLOCK, 1997; SHIGEMASA et al., 1996), espectroscopia na região do infravermelho próximo (RATHKE; HUDSON, 1993), primeira derivada do espectro na região do UV (MUZZARELLI et al., 1997; TAN et al., 1998) e a reação com ninhidrina (LOPES; LOPEZ-MARTINEZ; GUZMAN-GARCIA, 1990; CUROTTO; AROS, 1993).

O método escolhido para a determinação do GD, neste trabalho, foi o da primeira derivada do espectro na região do UV. Este método não sofre influência de impurezas, principalmente de proteínas, e permite uma análise simples e rápida da QS (LUCINDA-SILVA, 2003).

Para a determinação do GD da amostra de QS por este método, obteve-se a curva analítica da *N*-acetilglicosamina (NAG) em ácido acético 0,01 mol/L (**Figura**

11). Através da regressão linear da reta, obteve-se os seguintes parâmetros estatísticos:

$$\text{Equação da reta : } y = -0,0023 x + 0,00437$$

$$r^2 = 0,9989$$

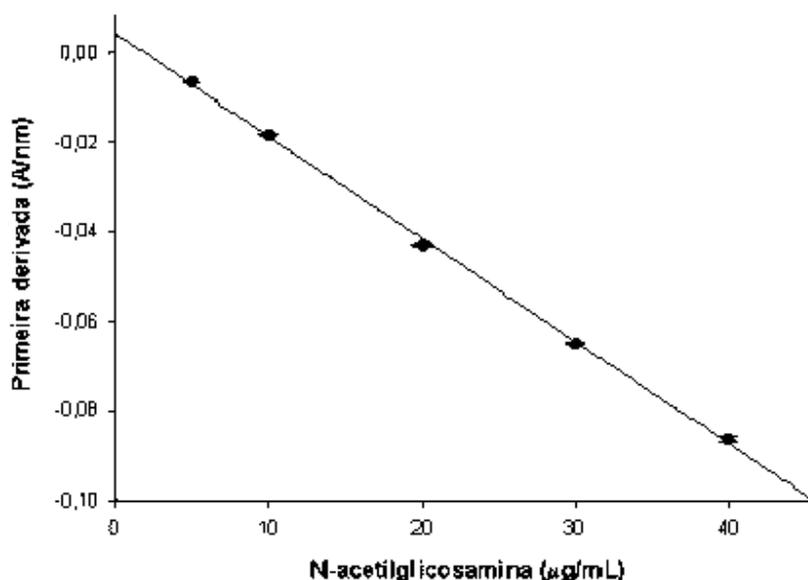


Figura 11. Curva analítica da NAG em ácido acético 0,01 mol/L.

A NAG apresenta uma absorção máxima em 193 nm. A utilização de ácido acético para a obtenção da solução de NAG altera consideravelmente a determinação deste composto, pois ele apresenta uma alta absorção em 199 nm.

Quando soluções de ácido acético em concentrações diferentes (0,01; 0,02 e 0,03 mol/L) são analisadas, usando a água como branco, observa-se a convergência de todos os espectros para um ponto comum em 202,9 nm, chamado de ponto isobéptico. Este ponto corresponde ao comprimento de onda de máxima absorção da NAG, tornando assim a determinação da NAG independente da concentração da solução de ácido acético em um intervalo de concentração comumente usado na

preparação das dispersões diluídas de QS. As primeiras derivadas do espectro de NAG e do ácido acético estão plotados na **Figura 12**.

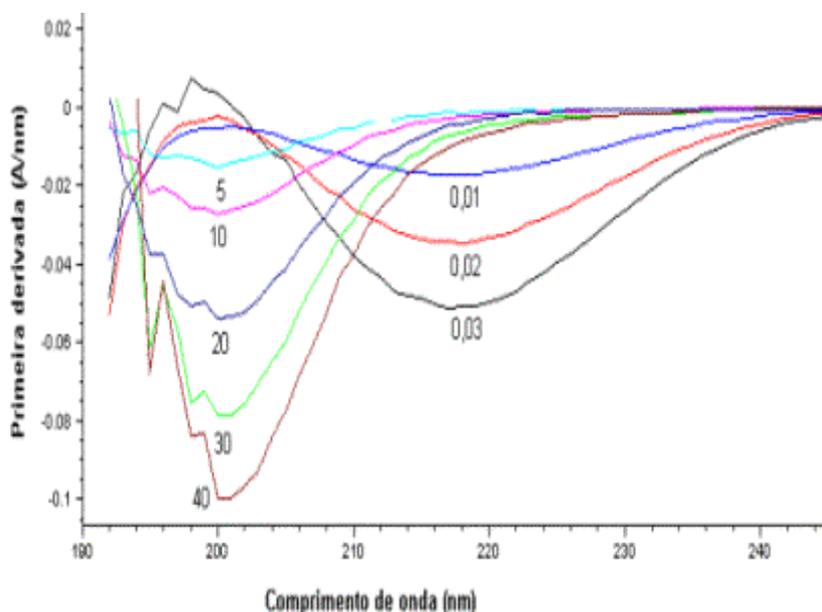


Figura 12. Primeira derivada do espectro de soluções de ácido acético e de soluções de NAG em diferentes concentrações ($\mu\text{g/mL}$) em ácido acético 0,01 mol/L na região do UV.

A partir da primeira derivada do espectro na região do UV da amostra de QS e a aplicação na curva analítica, obteve-se um GD de 78 %

1.3. Análise da QS na região do infravermelho

A Figura 13 apresenta o espectro da QS na região do infravermelho: bandas na região de 1650 a 1665 cm^{-1} , atribuídas ao estiramento C=O da amina do grupo acetamido e, entre 1560 a 1610 cm^{-1} , à deformação axial do grupo NH_2 no plano (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000; LORENZO-LAMOSA, 1998).

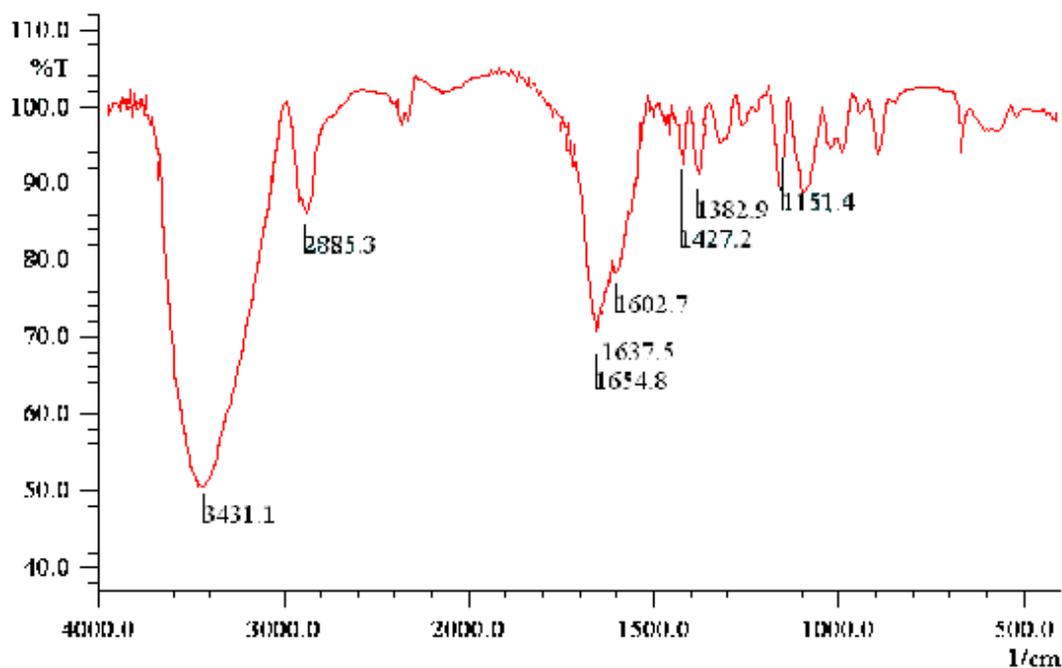


Figura 13. Espectro da QS purificada na região do infravermelho

2. CARACTERIZAÇÃO DO FÁRMACO-MODELO TRIANCINOLONA (TC)

2.1. Estudo da solubilidade do fármaco

Para o estabelecimento das condições *sink* foi determinada a solubilidade da triancinolona base (TC) em meios de liberação possíveis de serem utilizados na determinação do perfil de liberação *in vitro*.

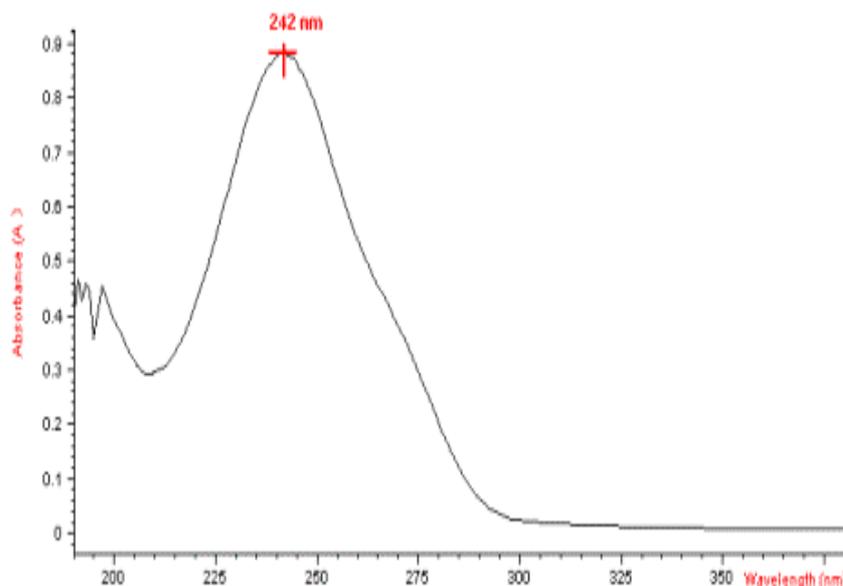
O ensaio de solubilidade de TC foi realizado em tampão fosfato 50 mM pH 7,4 e em meio ácido, conforme descrito no item III.2.2.3, e os resultados da análise estão descritos na **Tabela 02**:

Tabela 02. Solubilidade da TC em diferentes meios de dissolução.

Meio de dissolução	Solubilidade $\mu\text{g} / \text{mL}$
Tampão fosfato 50 mM pH 7,4	$83,75 \pm 0,3$
Meio ácido: HCl 0,1 mol / L, pH 1,0	$14,20 \pm 0,2$

2.2. Determinação do pico de absorção máxima da triancinolona base na região do ultravioleta

O espectro de absorção da TC em tampão fosfato 50 mM pH 7,4 foi obtido por espectrofotometria na região do ultravioleta para a determinação do pico de absorção máxima do fármaco (Figura 14)

**Figura 14.** Espectro da TC na região do ultravioleta.

A Figura 14 mostra o espectro de absorção da TC na região do ultravioleta em 242 nm, representando a região de absorção monomérica, sendo assim,

selecionado este comprimento de onda do detector de UV-VIS para a realização da análise quantitativa do fármaco.

2.3. Curvas analíticas para quantificação do fármaco por espectrofotometria na região do ultravioleta

A obtenção de curvas analíticas de resposta linear nas concentrações mostradas na Tabela 03, para diferentes sistemas solventes, está relacionada à algumas características da TC, como sua absorvidade no UV (MERCK INDEX, 2000) e sua estabilidade no sistema solvente.

Tabela 03. Dados das curvas analíticas em diferentes meios.

Sistema Solvente	HCl (0,1 mol/L)	Tampa Fosfato 50mM pH 7,4	Tampão Fosfato 10mM pH 5,0 contendo 2% de enzima pectinase
Faixa de linearidade (µg/mL)	1,20 – 13,00	5,00 – 50,00	0,65 – 45,00
Número de pontos	10	10	12
Coeficiente angular	0,0389	0,0402	0,0361
Coeficiente Linear	0,0122	0,0072	-0,0172
Coeficiente de correlação	0,999	0,9997	0,9998
Limite de Detecção	0,12	0,46	2,12
Limite de Quantificação	0,41	1,54	7,06

As curvas foram preparadas em triplicata, obtendo-se em todas um coeficiente de correlação (r) muito próximo a 1, o que traduz a resposta linear do procedimento analítico, sendo o sinal analítico obtido, portanto, proporcional à concentração dos constituintes.

a) Obtenção da curva analítica de TC em Tampão Fosfato 50 mM pH 7,4.

Na análise realizada em tampão fosfato 50 mM pH 7,4, o fármaco apresentou absorção máxima em 242 nm, apresentando um pico de absorção bem definido (Figura 15).

A regressão linear forneceu a equação de reta: $[TC] = (A - 0,0072) / 0,0402$; e coeficiente de correlação, $r^2 = 0,9997$.

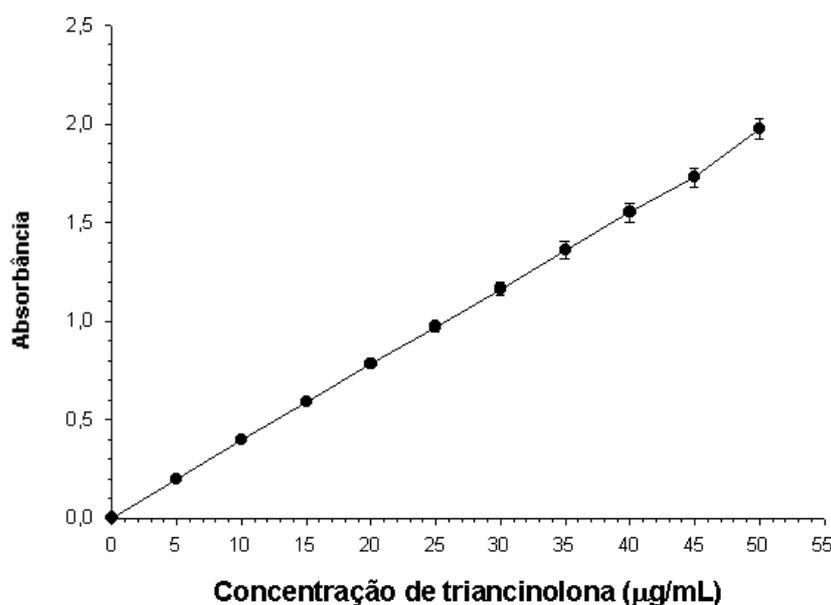


Figura 15. Curva analítica de TC em tampão fosfato 50 mM, pH 7,4, em 242 nm (n=3)

b) Obtenção da curva analítica de TC em Tampão Fosfato 10 mM, pH 5,0 contendo 2% de enzima pectinase

Na Figura 16 observa-se a curva analítica de TC. A regressão linear forneceu a equação de reta: $[TC] = (A - 0,0122) / 0,03897$ e coeficiente de correlação $r^2 = 0,9991$.

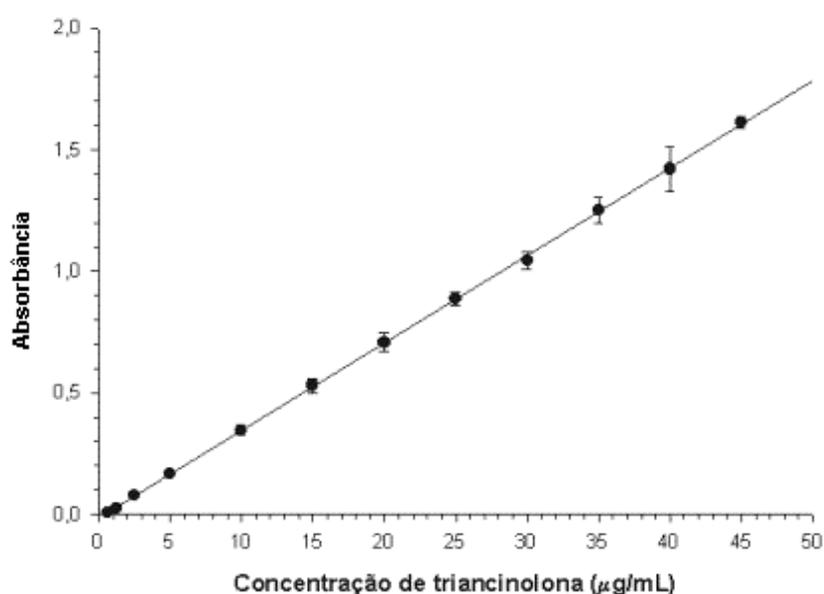


Figura 16. Curva analítica de TC em tampão Fosfato 10 mM, pH 5,0, contendo 2% de enzima pectinase, em 242 nm (n=3).

c) Obtenção de curva analítica de TC em HCl 0,1M, pH 1

Na análise realizada em HCl 0,1M, pH 1,0, o fármaco apresentou absorção máxima em 242 nm apresentando um pico de absorção bem definido.

Na Figura 17 observa-se a curva analítica de TC. A regressão linear forneceu a equação de reta: $[TC] = (A - 0,0122) / 0,03897$, e coeficiente de correlação, $r^2 = 0,9991$.

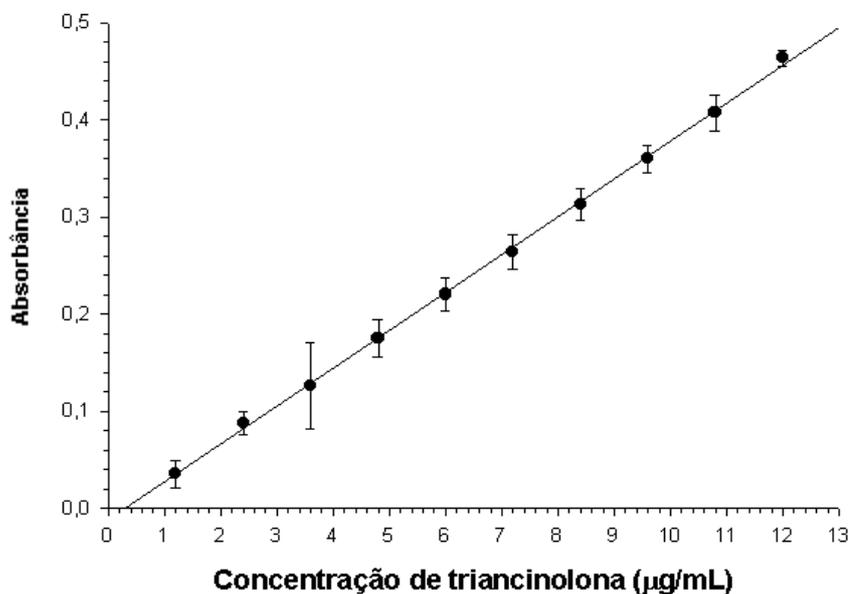


Figura 17. Curva analítica de TC em HCl 1M, pH 1, em 242 nm (n=3).

2.4. Análise na região do infravermelho da triancinolona

O espectro na região do infravermelho da triancinolona (TC) está apresentado na figura 18

A TC apresenta bandas intensas na região de $1700\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ devido a vibrações de deformação axial da ligação C=O da carbonila referente a carbonila presente na molécula do fármaco; bandas fortes também aparecem em 1058 cm^{-1} e em 893 cm^{-1} , resultantes das vibrações de deformação axial da ligação C-O em funções álcoois e devido á deformação angular fora do plano da ligação C-H característica de compostos aromáticos polinucleares (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).

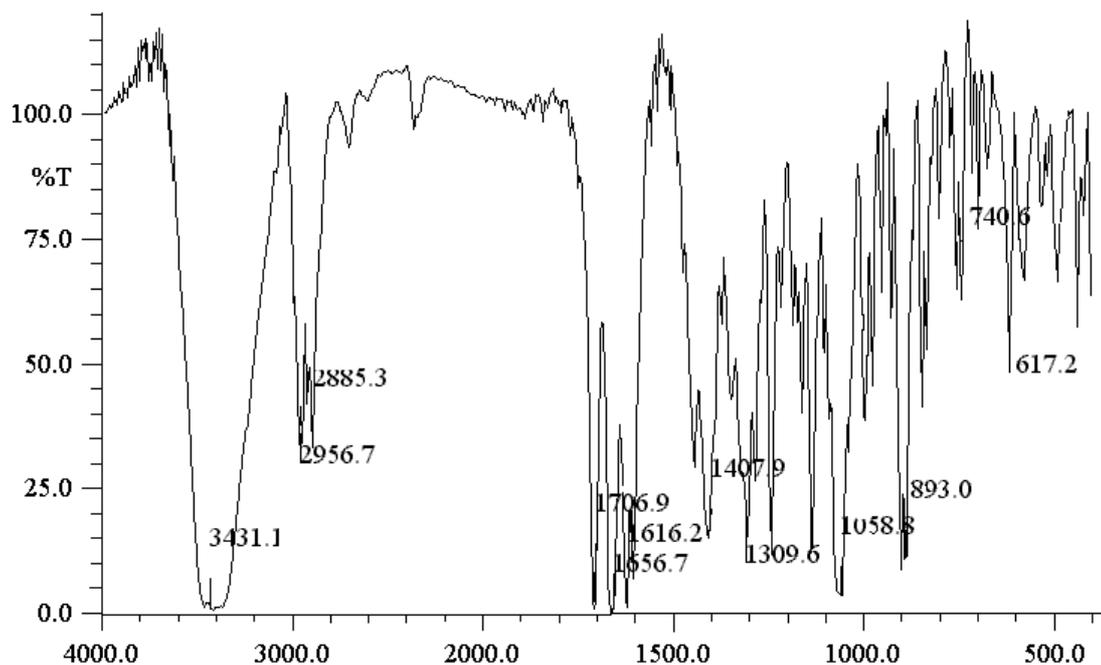


Figura 18. Espectro na região do infravermelho da triancinolona

Os resultados obtidos estão de acordo com os resultados apresentados na literatura (MOFFAT, 1986), os quais relatam picos nas regiões de 1663, 1618, 1609, 1,080 e 902 cm^{-1} no espectro de infravermelho da triancinolona.

3. CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS INERTES

3.1. Obtenção das cápsulas inertes

A Tabela 04 e Tabela 05 apresentam a composição dos lotes de cápsulas preparadas sem fármaco como controle (PC:QS) e dos lotes sem fármaco contendo os polímeros gastrorresistentes (PC:QS:FHPMC e PC:QS:AFC).

Tabela 04. Composição dos lotes de cápsulas PC:QS controle preparados (n=3)

LOTES	CaCl ₂ (%)	DISPERSÃO DE PC (ml)	DISPERSÃO DE QS (ml)
PC:QS	2	20	40

Tabela 05. Composição dos lotes preparados de cápsulas sem fármaco PC: QS:FHPMC e PC: QS:AFC (n=3).

LOTES	CaCl ₂ (%)	DISPERSÃO DE PC 1,5% (ml)	DISPERSÃO DE QS 0,5% (ml)	DISPERSÃO FHPMC 5mL (%)	DISPERSÃO AFC 5mL (%)
FH – 0,5	2	15	40	0,5	—
FH – 1,0	2	15	40	1,0	—
AF – 0,5	2	15	40	—	0,5

3.2. Análise morfológica

A morfologia das matrizes pode ser influenciada por diversos fatores: concentração de polímeros, distância entre a agulha de gotejamento e a solução, diâmetro do orifício ou da agulha de gotejamento, temperatura da solução, velocidade de gotejamento entre outros (MATSUMOTO; KOBAYASHI; TAKASHIMA, 1986, ZANIBONI, 1995).

MATSUMOTO; KOBAYASHI; TAKASHIMA, (1986), utilizaram um método de gotejamento para a obtenção de partículas. Observaram, inicialmente, que as partículas obtidas apresentavam formato ovalado e que, através de alterações da distância de gotejamento, ocorria um pequeno intervalo (denominado distância

crítica), que era dependente da velocidade de gotejamento e da vibração aplicada, dentro do qual as partículas tornavam-se esféricas.

Para a obtenção de matrizes esféricas constituídas por FHPMC, Zaniboni (1995) observou que nas variações da distância entre a agulha e a solução, também ocorria uma distância crítica, próxima a 10 cm e, que para distâncias maiores (12 a 23 cm) e distância menores (1 a 8 cm) as matrizes apresentavam-se com “cauda”. A concentração de polímero em solução também influenciou a morfologia do sistema matricial.

Através da análise morfológica, verificou-se que não houve alteração significativa da forma das partículas dos lotes incorporados com os polímeros gastrorresistentes, quando estes foram comparados com os lotes de PC:QS (Figura 19).

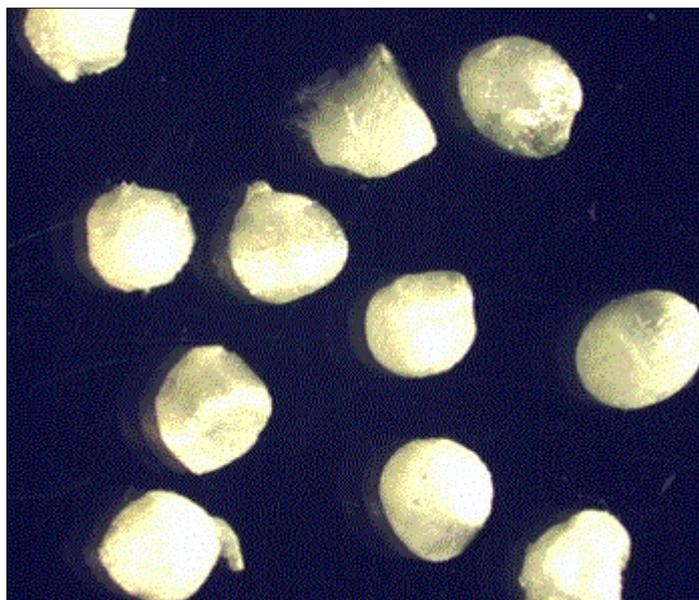


Figura 19. Fotomicrografia de cápsulas da formulação FH-05 (aumento de 10x).

As partículas obtidas pelas formulações FH-0,5; FH-1,0 e AF-0,5, mantiveram em sua maioria a esfericidade, apresentando algumas deformações do tipo “cauda”, devido ao método de obtenção por gotejamento. A figura 20 apresenta as partículas antes do processo de secagem por liofilização



Figura 20. Foto das partículas do lote FH-05 antes do processo de secagem.

Constatou-se, entretanto, que a quantidade e a natureza do solvente utilizado para a solubilização do FHPMC e do AFC, influenciavam diretamente a formação e, conseqüentemente, a morfologia das partículas.

Embora as soluções preparadas com acetona:água e etanol:água (2:3) tenham dispersado mais rapidamente tanto o FHPMC quanto o AFC do que a solução de NaOH 0,05 mol/L, estes dois solventes orgânicos (acetona e etanol) não puderam ser utilizados, pois os lotes preparados não apresentaram bons resultados: quanto maior a concentração de solvente orgânico maior era a alteração da viscosidade da dispersão de PC e havia a formação de aglomerados geleificados.

Isto ocorreu, provavelmente, devido à alteração da constante dielétrica, o que levou à retirada de água do meio, por haver uma maior afinidade tanto da acetona

quanto do etanol pela água, o que pode ter levado a insolubilização da pectina, fazendo com que o polímero precipitasse de forma desordenada, sem que houvesse uma complexação eficiente.

Por este motivo, todos os estudos de caracterização das cápsulas, foram baseados somente nos lotes incorporados com polímeros gastrorresistentes, dispersos em NaOH 0,05 mol/L .

3.3. Análise granulométrica

3.3.1. Distribuição do tamanho de partículas

A distribuição do tamanho de partículas dos lotes preparados está apresentada nas figuras 21–23

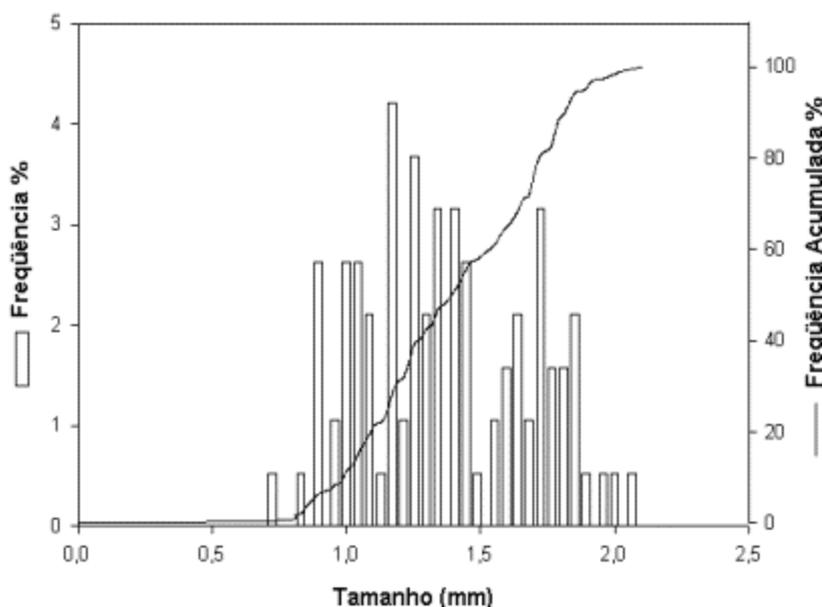


Figura 21. Distribuição de freqüência e freqüência acumulada do tamanho das partículas do lote FH-05 (PC:QS:FHPMC-0,5%).

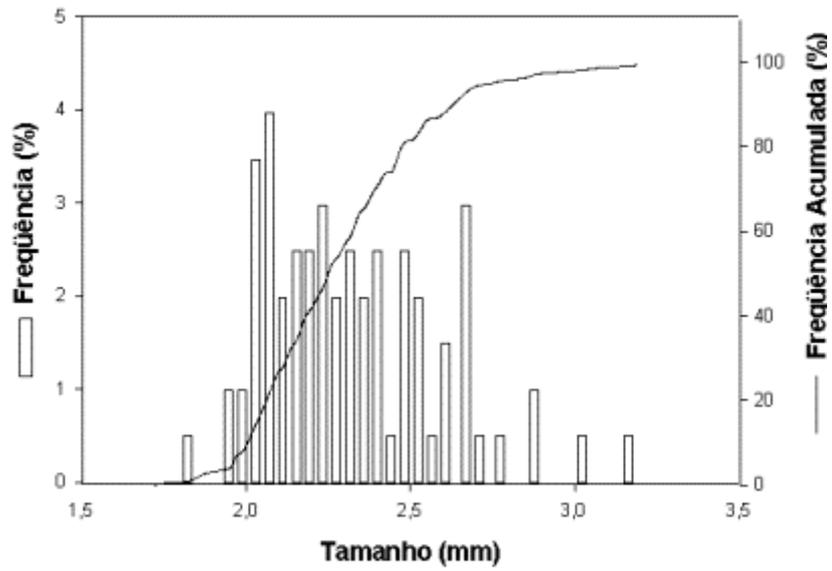


Figura 22. Distribuição de freqüência e freqüência acumulada do tamanho das partículas do lote AF-05 (PC:QS:AFC-0,5%).

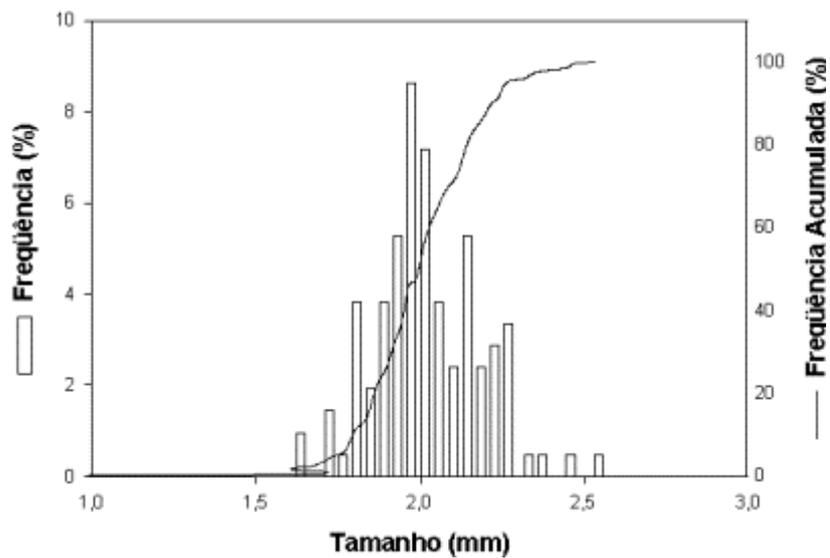


Figura 23. Distribuição de freqüência e freqüência acumulada do tamanho de partículas do lote FH-1,0 (PC:QS:FHPMC-1%)

A totalidade das partículas obtidas apresentou tamanho entre 1 e 3 mm, segundo os valores de diâmetro de Feret a 0°, determinados por microscopia óptica, mostrando assim uma estreita distribuição granulométrica.

O lote FH1 apresentou tamanho de partícula variando entre 1,9 e 2,3 mm, sendo que houve uma maior proporção de partículas no tamanho 2,0 mm, enquanto que os lotes FH-05 e AF-05 também tiveram tamanho de partícula variando de forma semelhante ao lote FH-1, entre 2,0 e 2,5 mm, porém apresentaram uma melhor distribuição entre os tamanhos das partículas obtidas, mostrando-se mais uniformes.

As partículas obtidas com a formulação AF-0,5 ficaram maiores do que as das demais formulações, provavelmente estando este resultado relacionado com a técnica de preparo por gotejamento.

3.3.2. Determinação do diâmetro médio das partículas

As partículas apresentaram tamanho médio entre 1,8 e 2,5 mm. A Tabela 06 mostra os resultados obtidos.

Tabela 06. Média dos diâmetros obtidos e seus desvios (n = 220)

LOTES	TAMANHO MÉDIO (mm)	DESVIO PADRÃO
AF-0,5	2,392	0,366
FH-0,5	1,897	0,198
FH-1,0	2,417	0,524

A análise dos resultados mostra que a proporção de polímero gastrorresistente adicionado, aparentemente não apresentou relação direta com o

diâmetro das partículas obtidas, sugerindo que a variação observada esteja relacionada com a preparação, ou seja, com o método de obtenção das partículas.

3.4. Análise de intumescimento

O perfil de intumescimento das cápsulas de PC:QS preparadas como controle, cápsulas de PC:QS:FHPMC e cápsulas de PC:QS:AFC descritas em métodos item 3.3.1 (Tabela 07 e 08), foi avaliado.

As análises de intumescimento mostraram que as formulações de PC:QS:FHPMC e PC:QS:AFC, de forma geral, intumescem muito pouco em meio gástrico simulado, intumescendo mais em meio ácido pH 3,0 e apresentando um intumescimento maior em tampão fosfato pH 7,4, porém não erodiram neste último meio (Figura 24 e Figura 25).

A razão de intumescimento é influenciada por dimensões do gel (frente de intumescimento) e a proporção em que a água pode difundir para dentro da cadeia polimérica (LUCINDA-SILVA, 2003).

Em baixos valores de pH a interação entre PC e QS é favorecida pela limitação da ionização da pectina, devido a protonação dos grupamentos ácidos, o que reduz a repulsão e favorece o fechamento das cadeias do gel, tornando-o insolúvel no meio (Figura 24 e Tabela 07).

Na Figura 24, quando se compara o perfil de intumescimento dos lotes controle PC:QS com os lotes em que foram incorporados os polímeros gastrorresistentes (lotes AF-0,5; FH-0,5; FH-1,0 e PC:QS), fica evidente que a incorporação, tanto do polímero AFC quanto do FHPMC, diminuiu significativamente

a porcentagem de intumescimento em meio gástrico simulado, promovendo maior proteção as partículas no meio analisado.

Tabela 07. Intumescimento (%) das partículas dos lotes AF-0,5; FH-0,5 e PC:QS em meio gástrico simulado pH 1,0 (n=3)

Tempo (min)	% Intumescimento Lotes			
	AF-0,5	FH-0,5	FH-1,0	PC:QS
0	0	0	0	0
30	2,54	7,23	2,08	19,41
60	3,44	7,90	5,64	23,23
90	5,39	10,90	11,72	27,04
120	6,17	11,37	11,88	30,50

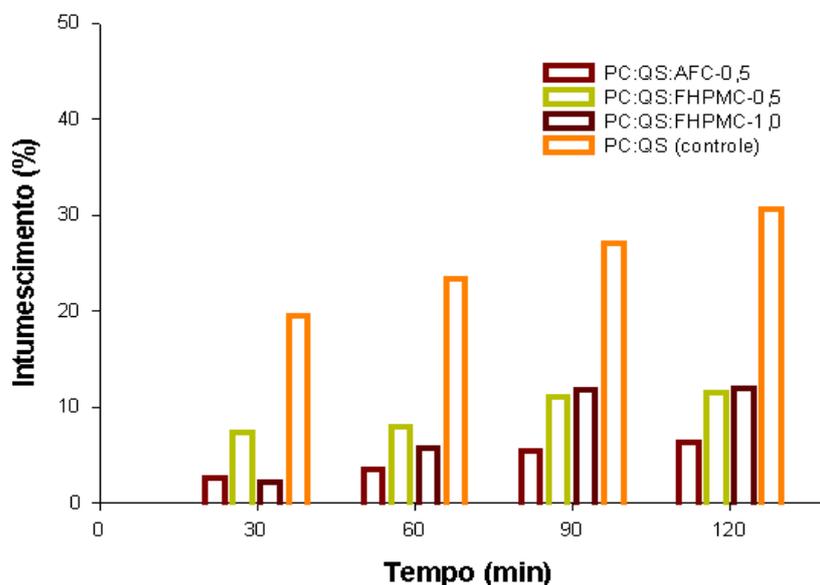
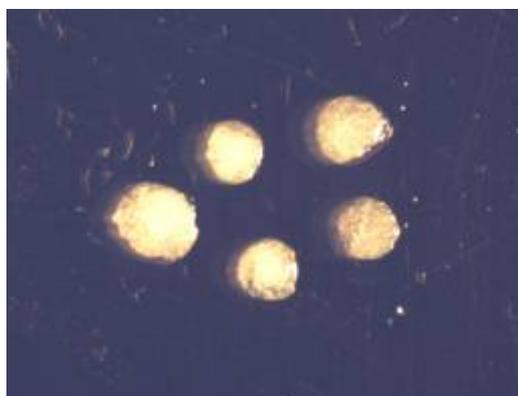
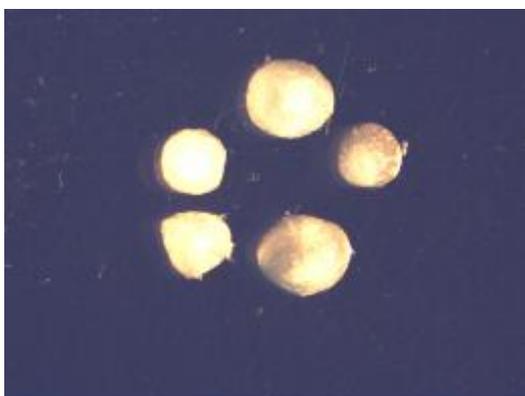


Figura 24. Perfil de Intumescimento (%) em função do tempo dos lotes AF-0,5; FH-0,5; FH-1,0 e PC:QS, respectivamente em meio gástrico simulado pH 1,0 (n=3).

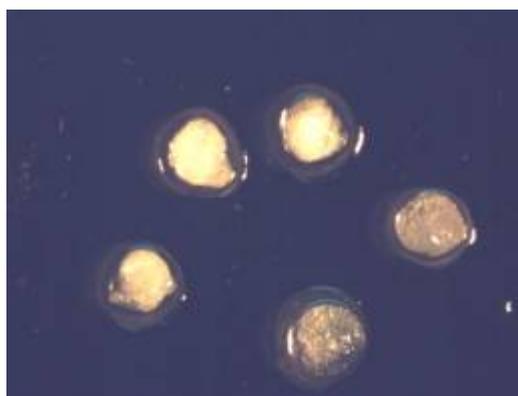
A Figura 25 apresenta fotomicrografias das cápsulas submetidas à análise de intumescimento.



A – Cápsulas PC:QS:HPMCP (FH-0,5)



B – Cápsulas PC:QS:AFC (AF-0,5)



C – Cápsulas PC:QS (controle)

Figura 25. Fotomicrografias (figuras A; B e C) de cápsulas com polímeros gastrorresistentes submetidas ao ensaio de intumescimento em meio gástrico simulado (aumento de 10X), no início e após 2 horas de contato, respectivamente.

Um maior intumescimento é observado em pH 3,0, onde a reticulação da PC é mínima, pois o pH encontra-se próximo ao pKa dos ácidos carboxílicos do ácido D-galacturônico (pKa= 3,23) e a ionização deste grupo é de aproximadamente 50%. Essa ionização parcial propicia o aparecimento da força de repulsão entre as cadeias do polímero, facilitando o relaxamento da matriz polimérica, com conseqüente aumento de intumescimento (Tabela 08 e Figura 26), (LUCINDA-SILVA, 2003).

Tabela 08. Intumescimento (%) das partículas dos lotes AF-0,5; FH-0,5 e PC:QS em pH 3,0 (n=3)

Tempo (min)	% Intumescimento Lotes			
	AF-0,5	FH-0,5	FH-1,0	PC:QS
0	0	0	0	0
30	8,72	17,81	0,36	33,40
60	14,83	20,89	0,59	38,51
90	16,21	22,34	26,70	41,70
120	17,47	22,97	27,48	44,74

Como mostrado na Tabela 8 e na Figura 26 a adição tanto do AFC quanto do FHPMC diminuiu o grau de intumescimento também em pH 3,0. Este fato provavelmente pode estar relacionado com a insolubilidade do AFC e do FHPMC neste valor de pH. Isto fez com que houvesse uma diminuição nas forças de repulsão entre as cadeias da pectina, que neste valor de pH encontram-se parcialmente ionizadas, diminuindo a tendência ao relaxamento da matriz polimérica e, conseqüentemente, diminuindo o intumescimento.

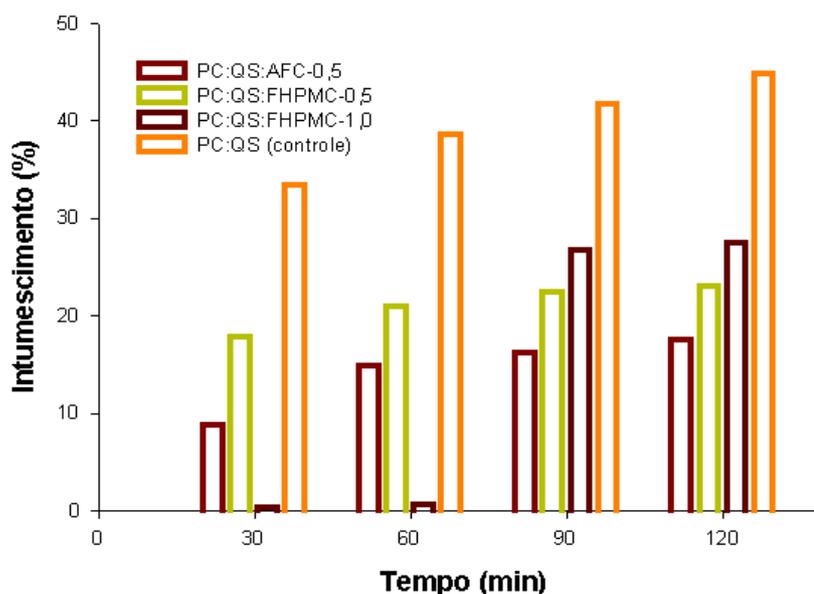


Figura 26. Intumescimento (%) em função do tempo dos lotes AF-0,5 e FH-0,5 em pH 3,0 (n=3).

As tabelas 9 - 12 e a figura 27 mostram o perfil de intumescimento das partículas preparadas FH-0,5; FH-1,0; AF-0,5 e PC:QS (lotes controle) conforme descrito no item 4.3 de metodologia em tempos e valores de pH que simulam o trânsito gastrointestinal.

Em contraste com o perfil de intumescimento observado em meio gástrico simulado (pH 1 e pH 3), as partículas de PC:QS podem intumescer intensamente em pH 7,4, devido às cargas negativas dos grupos carboxílicos ($-\text{COO}^-$) da PC, provocando repulsão mútua (CHANG; LIN, 2000) e repelindo-se umas as outras. Aparentemente, essa força de repulsão é maior do que a força de atração que tende a diminuir o volume da partícula.

Tabela 09. Perfil de Intumescimento (%) das partículas do lote FH-05, nos diferentes valores de pH que simulam o TGI.

Tempo (min)	% INTUMESCIMENTO		
	pH 1,0	pH 3,0	pH 7,5
0	0	0	0
30	7,23	17,81	14,32
60	7,90	20,89	16,66
90	10,90	22,34	17,46
120	11,37	22,97	21,22

Tabela 10. Perfil de intumescimento (%) das partículas do lote FH-1,0, nos diferentes valores de pH que simulam o TGI.

Tempo (min)	% INTUMESCIMENTO		
	pH 1,0	pH 3,0	pH 7,5
0	0,00	0,00	0,00
30	2,08	0,36	8,01
60	5,64	0,59	10,97
90	11,72	26,70	11,31
120	11,88	27,48	11,86

Tabela 11. Perfil de intumescimento (%) das partículas do lote AF-0,5, nos diferentes valores de pH que simulam o TGI.

Tempo (min)	% INTUMESCIMENTO		
	pH 1	pH 3	pH 7,5
0	0	0	0
30	2,54	8,72	12,24
60	3,44	14,83	14,75
90	5,39	16,21	16,57
120	6,17	17,41	24,95

Tabela 12. Perfil de intumescimento (%) das partículas do lote PC:QS (lotes controle), nos diferentes valores de pH que simulam o TGI.

Tempo (min)	% INTUMESCIMENTO		
	pH 1	pH 3	pH 7,5
0	0	0	0
30	19,41	33,40	70,72
60	23,23	38,51	74,33
90	27,04	41,70	84,70
120	30,05	44,74	72,55

Somado a isto, há deionização dos grupos amino da QS em soluções alcalinas, desaparecendo a ponte entre os dois grupos. Neste valor de pH também pode haver erosão da partícula, ou seja, o aumento resultante do tamanho da partícula é dado por um balanço entre intumescimento e erosão (MUNJERI; COLLETT; FELL, 1997).

Como é mostrado na Figura 27 a adição dos polímeros gastrorresistentes levou a uma maior proteção das partículas em tampão fosfato pH 7,4, tendo estes lotes, intumescido cerca de 25% e não sofrendo erosão durante os 120 minutos de análise.

As partículas da formulação PC:QS (controle) sofreram erosão em pH 7,4, tendo intumescido mais (84,70%) após 2 h de contato com o meio de intumescimento (Figura 27) do que os lotes nos quais foram adicionados AFC ou FHPMC.

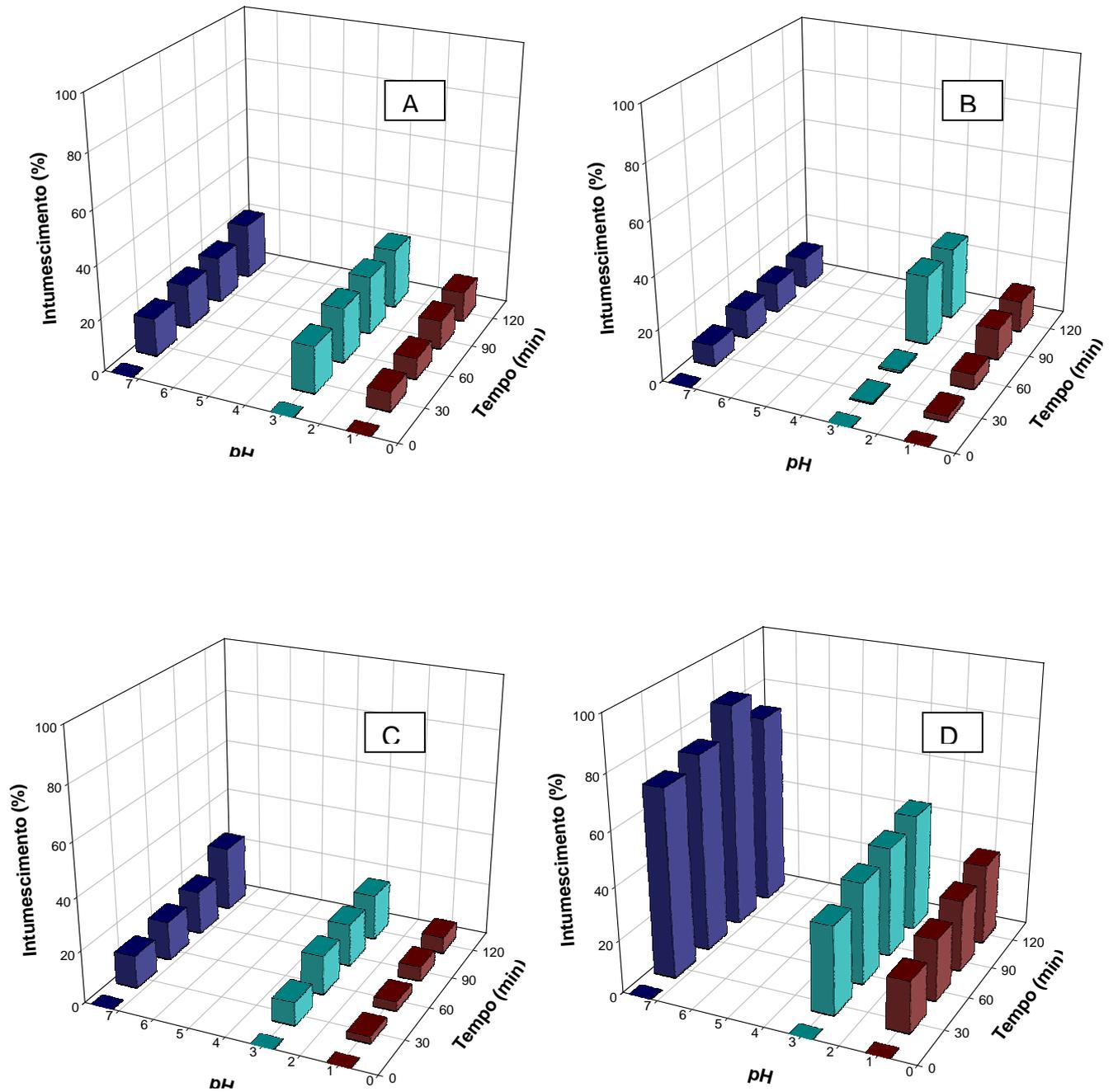


Figura 27. Intumescimento em função do tempo das partículas: A: FH-0,5; B: FH-1,0; C: AF-0,5 e D: PC:QS, nos diferentes meios que simulam o TGI

4. CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS CONTENDO TRIANCINOLONA (TC).

A composição dos lotes preparados está descrita na **tabela 13**.

Tabela 13. Composição dos lotes preparados de cápsulas contendo fármaco (n=3).

LOTES	DISPERSÃO DE PC (mL)	DISPERSÃO DE QS (mL)	CLORETO DE CÁLCIO (%)	SOLUÇÃO. FHPMC ou AFC -5mL (%)	TC (mg)
FH05TC	15	40	2	0,5	100
FH1TC	15	40	2	1,0	100
AF05TC	15	40	2	0,5	100
PC:QS:TC	20	40	2	_____	100

4.1 Características morfológicas

As partículas contendo o fármaco-modelo (TC), tornaram-se visualmente maiores, mais esférica e esbranquiçadas, quando comparadas às partículas inertes, e mantiveram sua superfície ligeiramente rugosa e brilhante (figura 28 - 30).

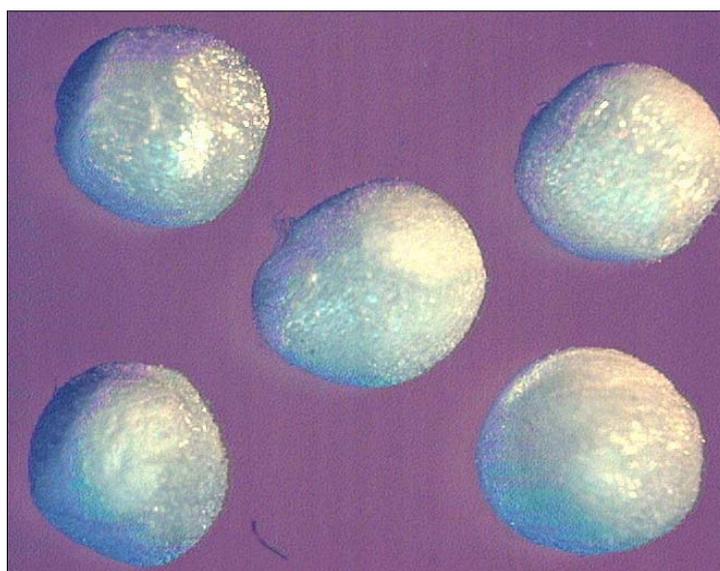


Figura 28: Fotomicrografia de partículas de FH05TC (aumento de 40x).



Figura 29. Foto das partículas do lote FH05TC, antes do processo de liofilização.

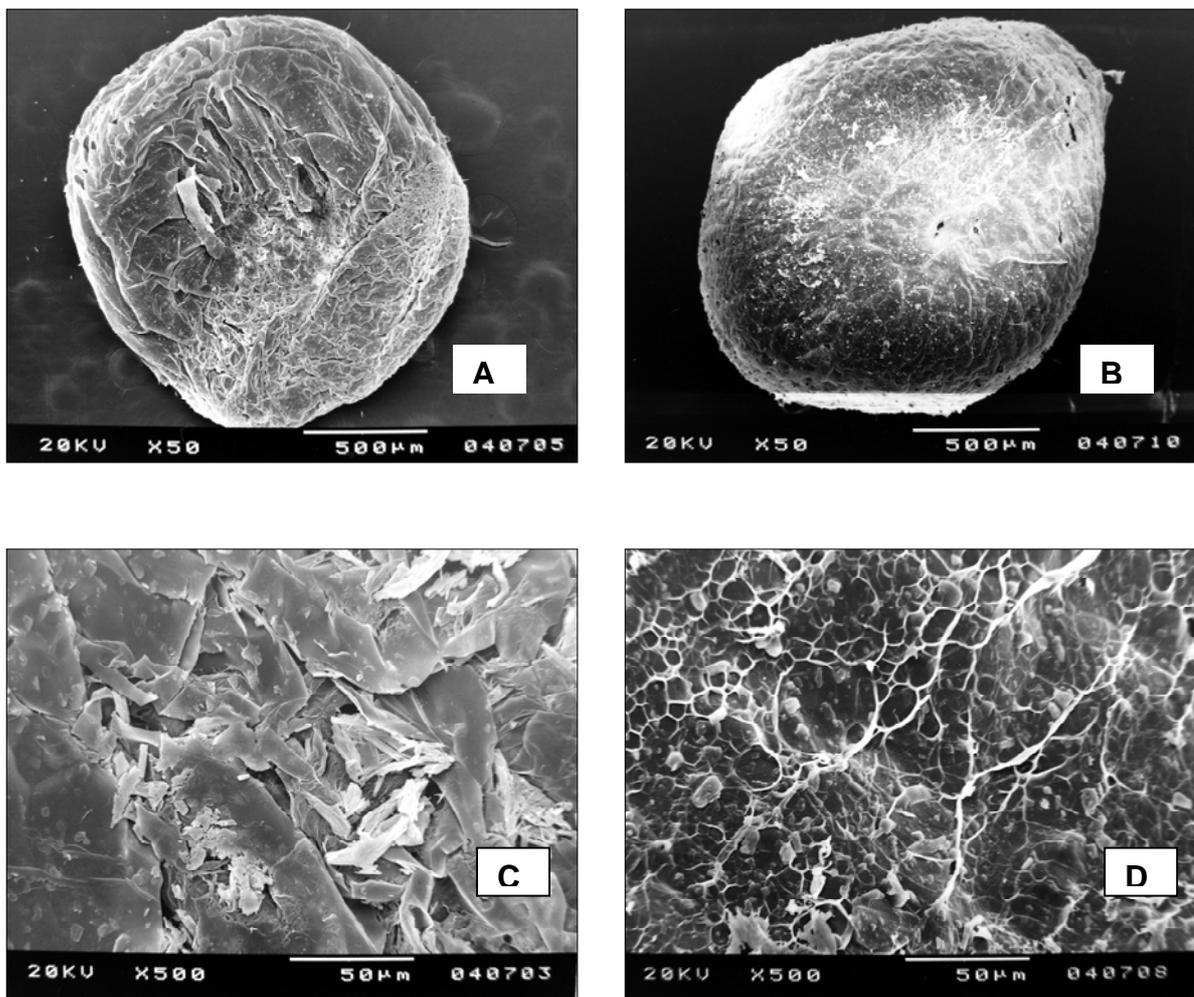


Figura 30. Fotomicrografias eletrônicas de varredura de cápsulas dos lotes: **A:** AF05TC ; **B:** FH05TC, aumento 50x e **C:** AF05TC e **D:** FH05TC, aumento de 500x.

Através da microscopia eletrônica de varredura, pode-se observar a estrutura praticamente esférica das partículas, tornando-se mais evidente o aspecto rugoso da superfície.

No maior aumento (500x), nota-se a presença de pequenos espaços intersticiais na superfície das partículas, formando assim canalículos os quais poderão facilitar a entrada dos fluídos biológicos, possibilitando a liberação do fármaco. À medida que a resolução das fotomicrografias foi aumentada, tornou-se nítida a diferença entre os dois lotes, mostrando que a partícula do lote AF05TC, possui uma superfície mais densa, apresentando menos espaços intersticiais, enquanto que a superfície das partículas do lote FH05TC é mais porosa.

Isto sugere em uma primeira análise, que os lotes de PC:QS nos quais o AFC foi adicionado, tornem-se mais resistentes aos meios em que serão analisados, promovendo um maior controle na liberação do fármaco.

A fim de comprovar a formação de um sistema monolítico, ou seja, de tratar-se da obtenção de microesferas, e não de microcápsulas, foram feitas fotomicrografias eletrônicas de varredura de cortes transversais das partículas (Figura 31).

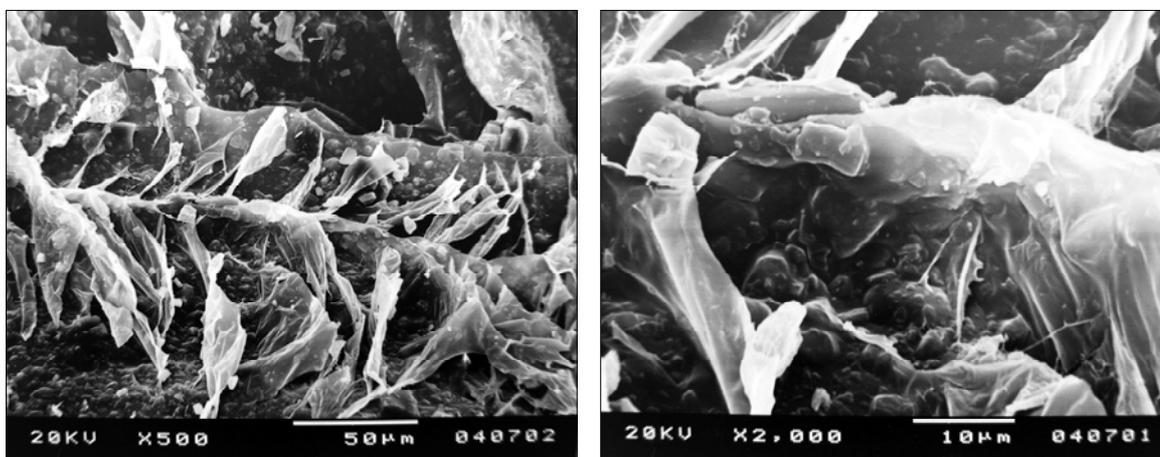


Figura 31. Fotomicrografias eletrônica de varredura de corte de partículas contendo fármaco. Aumento de 500 e 2000x, respectivamente.

A fotomicrografia eletrônica de varredura dos cortes das partículas contendo fármaco, não apresentou nenhuma cavidade na qual o fármaco estaria contido, mas sim uma estrutura interna densa e homogênea, característica de sistemas monolíticos.

4.2 Análise granulométrica

A distribuição do tamanho de partículas dos lotes preparados com TC está apresentada nas Figuras 32 –34.

A totalidade das partículas obtidas apresentou tamanho variando entre 1,5 e 2,5 mm.

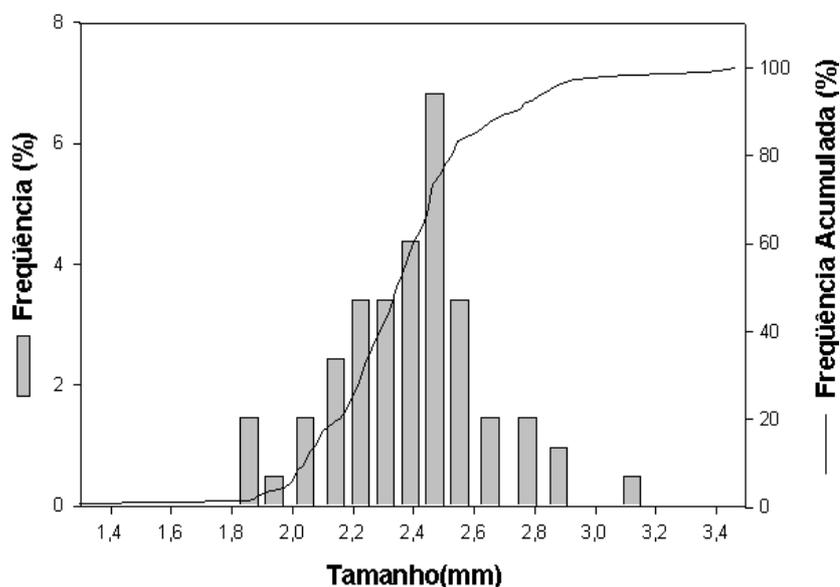


Figura 32. Distribuição do tamanho das partículas AF05TC (n=220).

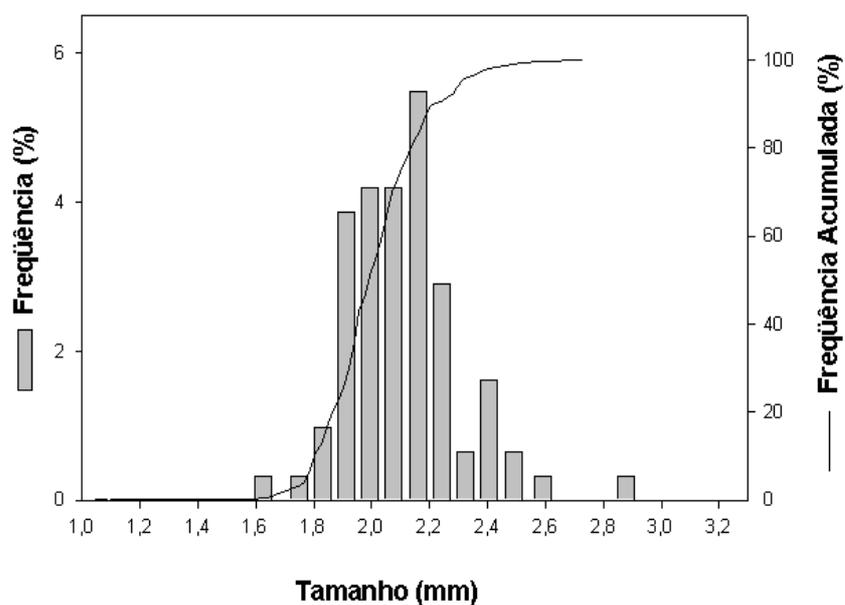


Figura 33. Distribuição do tamanho das partículas FH05TC (n=220).

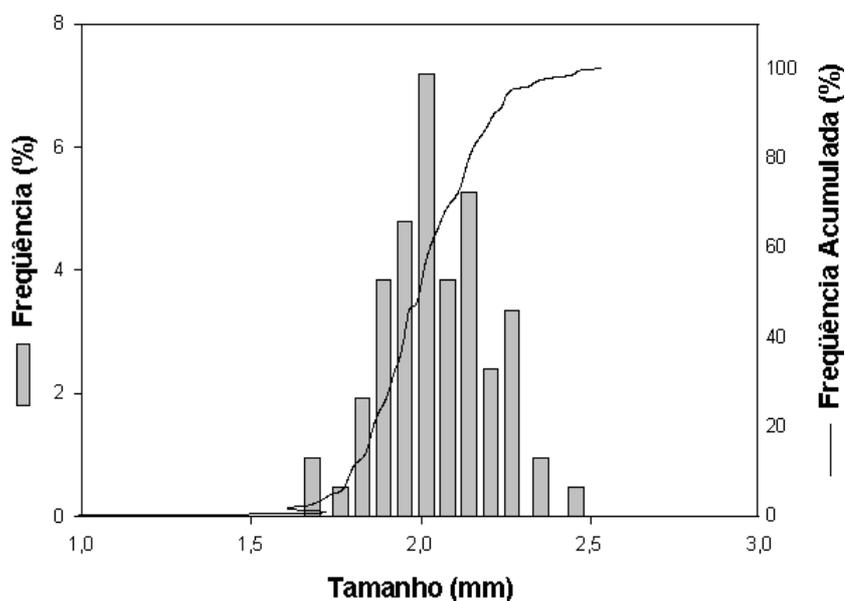


Figura 34. Distribuição do tamanho das partículas FH1TC (PC:QS:FHPMC1:TC), (n=220).

As partículas obtidas pela formulação AF05TC ficaram maiores do que as obtidas com as formulações FH05TC e FH1TC, provavelmente devido ao método de preparo por gotejamento, no qual a variação da distância entre o material a ser

gotejado e a solução e também a velocidade de gotejamento influenciam diretamente o tamanho e a morfologia das partículas obtidas.

4.3. Determinação do diâmetro médio das partículas

A Tabela 14 apresenta o diâmetro médio dos diferentes lotes preparados.

Tabela 14. Diâmetro médio do tamanho das partículas dos lotes preparados com fármaco (n=220).

Lotes	Diâmetro médio (mm)	Desvio Padrão
AF05TC	2,42	0,53
FH05TC	2,01	0,41
FH1TC	2,12	0,43
PC:QS:TC	1,83	0,65

A análise dos resultados mostra que a proporção de polímero gastrorresistente acrescentado (0,5 ou 1,0%) e a adição do fármaco, não resultou em um aumento significativo no diâmetro das partículas obtidas, quando estas são comparadas com as partículas PC:QS:TC e com as partículas PC:QS sem fármaco.

Estes resultados obtidos podem estar relacionados, provavelmente, devido a um melhor rearranjo entre os polímeros e a TC, o que fez com que houvesse uma otimização dos espaços internos das partículas, isto é, a TC estaria preenchendo os espaços antes vazios do interior da partícula.

4.4. Análise quantitativa do fármaco (TC) incorporado nas partículas

4.4.1 Validação da metodologia analítica empregada para determinação do teor e eficiência de encapsulação da triancinolona (TC) por espectroscopia na região do UV.

a) Especificidade

O método foi avaliado empregando-se o comprimento de onda de 242 nm, por ser o comprimento de máxima absorção da TC. A Figura 35 mostra o espectro de absorção na região do UV referente à solução de TC em tampão fosfato 50 mM pH 7,4, com e sem a presença de interferentes.

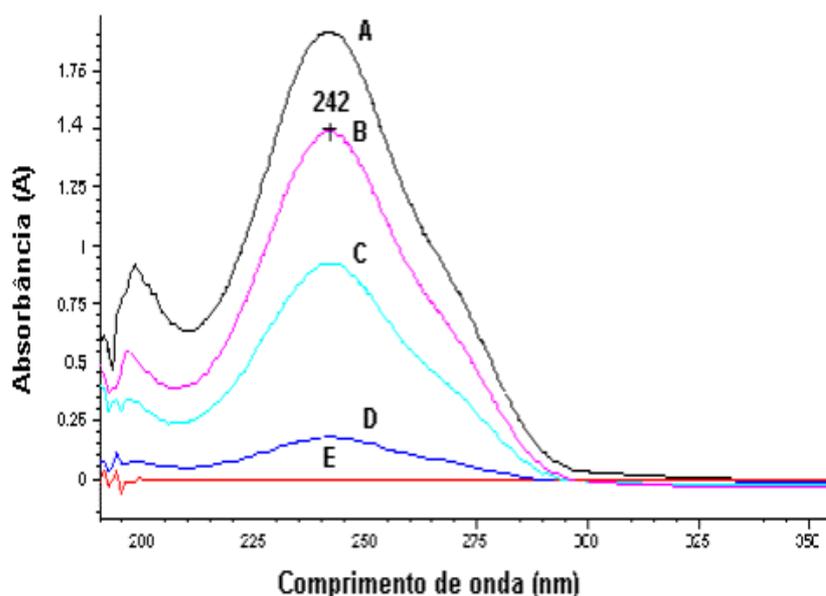


Figura 35. Espectro de absorção da TC em tampão fosfato 50 mM pH 7,4. **A:** solução 50 $\mu\text{g/mL}$ de TC; **B:** solução 40 $\mu\text{g/mL}$ de TC com interferente; **C:** solução 25 $\mu\text{g/mL}$ de TC com interferente; **D:** solução 5 $\mu\text{g/mL}$ TC com interferente e **E:** solução contendo 5mg de partículas sem TC (interferente).

No estudo de especificidade do método para determinação do teor de fármaco, procedeu-se a solução de TC em tampão fosfato 50 mM pH 7,4 nas concentrações de 40; 25 e 5 $\mu\text{g/mL}$, em presença de quantidades conhecidas de

possíveis interferentes da matriz polimérica, ou seja, solução de partículas –inertes (sem TC). Os resultados demonstraram que o método proposto é seletivo e específico, uma vez que não se observou interferência da matriz polimérica no comprimento de onda de maior absorção do fármaco (242 nm).

b) Linearidade

A linearidade do método de quantificação de TC por espectroscopia na região do UV foi determinada através da construção da curva analítica em tampão fosfato 50 mM pH 7,4, utilizando diferentes concentrações de TC, sendo a curva linear entre 2,5 e 50 $\mu\text{g/mL}$ (Figura 36).

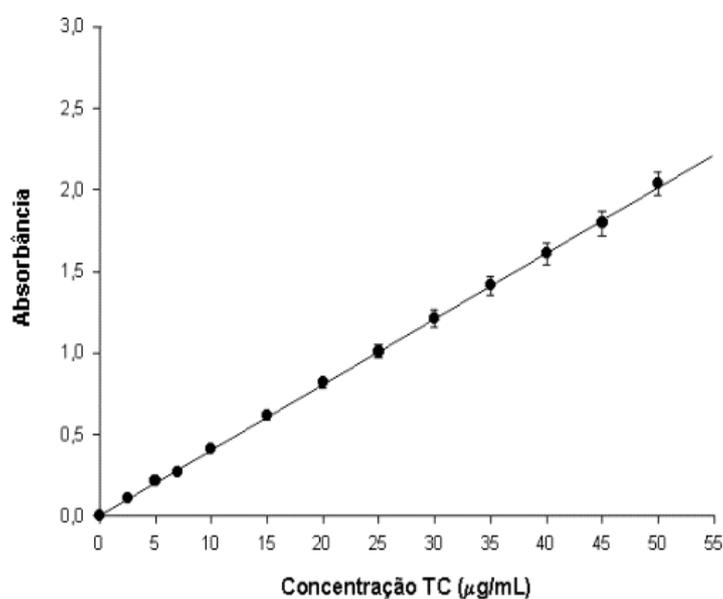


Figura 36. Curva analítica de TC, obtida por espectroscopia na região do UV em 242nm (n=3).

A regressão linear forneceu a equação da reta :

$$y = 0,0402986912 x + 0,0032781302289$$

$$r^2 = 0,9997$$

c) Precisão

A precisão foi avaliada através da análise de três níveis de concentração, baixa (5 µg/mL), média (25 µg/mL) e alta (40 µg/mL) (Tabela 15).

Tabela 15. Coeficiente de correlação das amostras empregadas no teste de precisão (n=3)

Concentração de TC (µg/mL)	Absorbância (242 nm)			Média	Desvio Padrão	Coeficiente de Variação (%)
	N1	N2	N3			
5	0,1960	0,1936	0,1878	0,1925	0,00428	2,224
25	0,942	0,923	0,933	0,9329	0,009437	1,012
40	1,498	1,488	1,497	1,4943	0,005139	0,344

Os resultados obtidos apresentados na Tabela 15, indicam que o método proposto mostrou-se preciso para a quantificação de TC, obtendo-se um coeficiente de correlação menor que 5% (ANVISA, 2003).

d) Recuperação

O percentual de recuperação contido nas partículas é apresentado na Tabela 16. Os resultados mostram índices de recuperação adequados, dentro da faixa recomendada pela ANVISA (2003), cujo intervalo é de 80 a 120%.

Tabela 16. Percentual de recuperação da TC contida nas partículas (n=3)

Quantidade de TC adicionada ($\mu\text{g/mL}$)	Quantidade recuperada ($\mu\text{g/mL}$)	Recuperação (%)
5	4,70	93,92 \pm 2,12
25	23,07	92,27 \pm 0,94
40	37,00	92,49 \pm 0,32

e) Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ)

Os valores obtidos na determinação dos limites de detecção e de quantificação estão apresentados na Tabela 17 e mostram que o método analítico é adequado para a quantificação de TC, obedecendo a faixa linear da curva analítica que foi de 5 a 50 $\mu\text{g/mL}$.

Tabela 17. Limites de detecção e quantificação de TC em 242 nm

Parâmetros		Resultados
Concentração empregada * ($\mu\text{g/mL}$)	2,5	0,104093
	5,0	0,19637
	7,0	0,26991
Desvio padrão médio (DP)		0,00621
Inclinação da curva padrão (a)		0,0403
Limite de detecção (LD)		0,46 $\mu\text{g/mL}$
Limite de quantificação (LQ)		1,54 $\mu\text{g/mL}$

- n=3 determinações

4.5. Determinação do teor e eficiência de encapsulação

A Tabela 18 apresenta os resultados do teor e eficiência de encapsulação obtidos.

As partículas dos lotes AF05TC, FH05TC e FH1TC apresentaram um aumento do teor e da eficiência de encapsulação em relação ao lote PC:QS:TC-controle. Isto pode ter ocorrido devido ao fato da TC apresentar melhor dispersibilidade ao ser adicionada na solução de PC contendo AFC ou FHPMC do que quando ela foi adicionada a solução de PC sem AFC ou FHPMC, o que fez com que a mistura PC: AFC: TC ou PC: FHPMC: TC ficasse mais homogênea fazendo com que o fármaco ficasse mais tempo em suspensão sem apresentar grumos.

Tabela 18. Teor e eficiência de encapsulação dos lotes AF05TC; FH05TC; FH1TC e PC:QS:TC-controle.

Lotes	Massa recuperada do lote (mg)	Eficiência de encapsulação (%)	Teor de Fármaco (%)
AF05TC	313	88,77 ± 1,07	28,14 ± 2,55
FH05TC	297	89,12 ± 6,88	31,57 ± 1,35
FH1TC	291	108,41 ± 9,26	37,27 ± 2,27
PC:QS:TC-controle	340	80,00 ± 6,80	23,57 ± 1,66

Os resultados do teor e da eficiência de encapsulação foram satisfatórios para todas as formulações analisadas, mostrando uma alta eficiência de incorporação do fármaco na matriz polimérica. Os resultados obtidos com a formulação FH1TC, sugerem uma aparente perda de polímero, provavelmente durante o processo de

obtenção das partículas deste lote, porém o mais importante é que a incorporação do fármaco de maneira geral ocorreu de forma reprodutiva.

4.6. Análise de intumescimento das partículas contendo fármaco

O processo de intumescimento de um material polimérico, ocorre a nível molecular e envolve a difusão de um líquido para o interior do polímero. Esta difusão é possível devido à mobilidade dos segmentos locais das cadeias do polímero, que permite alojar as moléculas do líquido. Na presença de solventes adequados, os polímeros reticulados intumescem incorporando solvente, enquanto as cadeias puderem ser distendidas e os segmentos são forçados a assumir uma conformação mais alongada (JOSÉ, 2000). Portanto, a razão de intumescimento é influenciada por dimensões de gel e a proporção em que a água pode difundir para dentro da cadeia polimérica. Quanto maior a espessura dessa camada de gel formada, maior será o controle sobre a liberação do fármaco e menor será a tendência da matriz sofrer erosão (WAKERLEY et al., 1997).

A análise de intumescimento foi realizada nas partículas contendo fármaco, para que a influência da incorporação da triancinolona (TC) no sistema matricial fosse verificada.

O ensaio foi realizado em meio gástrico e meio entérico simulados em todos os lotes preparados, conforme descrito no item IV 4.4.3.

O perfil de intumescimento das cápsulas contendo fármaco está apresentado nas Figuras 37-38 e nas Tabelas 19-20.

Conforme apresenta a Tabela 19 e Figura 37, os lotes analisados em meio gástrico simulado, mostraram praticamente o mesmo perfil de intumescimento dos lotes sem a incorporação do fármaco.

Tabela 19. Perfil de Intumescimento (%) em meio gástrico simulado dos lotes PC:QS:TC-controle; AF05TC; FH05TC e FH1TC.

Tempo (min)	% Intumescimento			
	PC:QS-controle	AF05TC	FH05TC	FH1TC
30	17,92	5,66	6,22	1,74
60	19,35	6,59	7,57	3,60
90	21,73	6,85	9,66	7,28
120	25,54	7,38	11,37	7,70

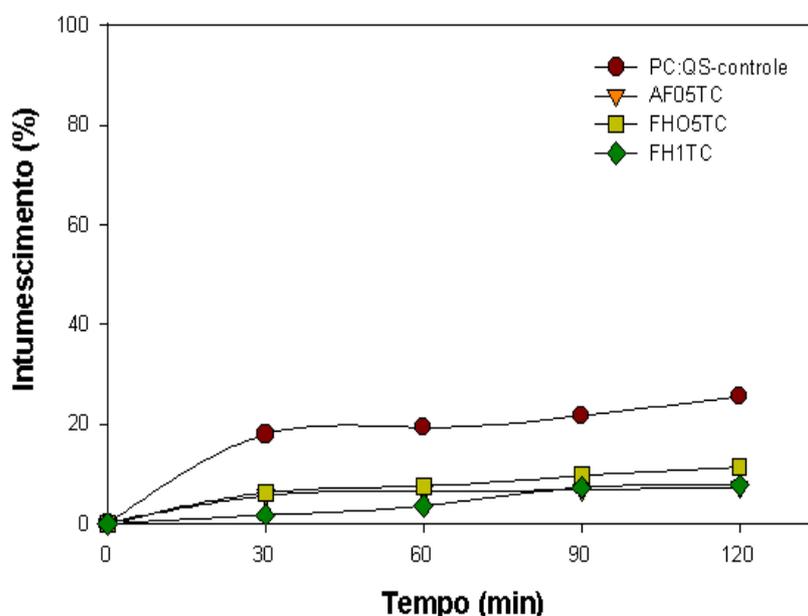


Figura 37. Perfil de Intumescimento (%) em meio ácido pH 1, dos lotes PC:QS-controle; AF05TC; FH05TC e FH1TC, respectivamente.

O lote FH1TC apresentou uma pequena diminuição do perfil de intumescimento neste meio, em relação ao lote FH-1.

A Tabela 20 e a Figura 38 mostram que em meio entérico simulado os lotes AF05TC, FH05TC e FH1TC apresentaram um intumescimento maior do que em meio ácido simulado sem apresentar erosão em 120 min de ensaio.

Tabela 20. Perfil de Intumescimento (%) em entérico simulado dos lotes PC:QS:TC-controlre; AF05TC; FH05TC e FH1TC.

Tempo (min)	% Intumescimento			
	PC:QS-controlre	AF05TC	FH05TC	FH1TC
30	52,06	9,93	11,60	2,91
60	56,42	9,96	14,49	10,50
90	63,20	13,35	15,97	11,10
120	58,65	15,87	17,27	11,30

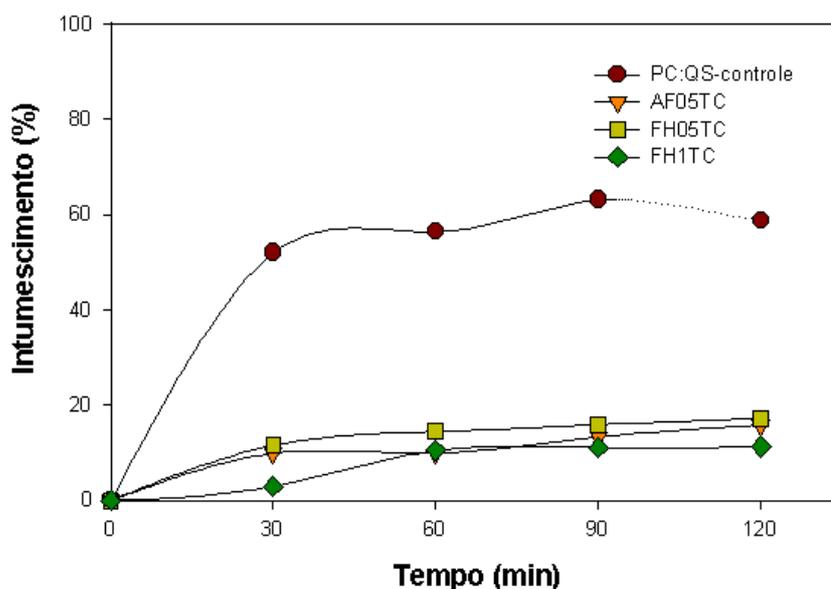


Figura 38. Perfil de Intumescimento (%) em meio entérico pH 7,5, dos lotes PC:QS-controlre; AF05TC; FH05TC e FH1TC, respectivamente.

O lote controle PC:QS:TC apresentou cerca de 63,20% de intumescimento em 90 min análise, sofrendo erosão no tempo restante de ensaio.

O fato dos lotes AF05TC, FH05TC e FH1TC não apresentarem erosão é muito importante, pois, havendo erosão da matriz, o fármaco fica exposto ao processo de dissolução, o que contribui para a sua difusão da matriz polimérica para o meio, levando assim, ao aumento da velocidade de liberação do fármaco.

Todos os lotes analisados apresentaram uma redução no perfil de intumescimento em meio entérico simulado quando estes foram comparados com os lotes PC:QS:TC-controle.

Este comportamento deve estar relacionado com a redução da taxa de intumescimento das partículas devido à incorporação dos polímeros AFC e FHPMC, o que provavelmente devido às características de solubilidade destes polímeros, que se tornam desprotonados em pH alcalino, $\text{pH} > 5$ no caso do FHPMC e $\text{pH} > 6$ no caso do AFC, dificultando assim a difusão do meio de dissolução para o interior da partícula o que conseqüentemente pode ter limitado a ionização tanto dos grupos amino da QS quanto dos grupos carboxílicos da PC, que neste valor de pH encontram-se ionizados favorecendo o intumescimento da partícula. Um maior intumescimento da partícula, além de proporcionar maior difusão do fármaco através da matriz também leva a erosão da mesma (LUCINDA-SILVA, 2003).

Esta análise evidenciou que os lotes incorporados com os polímeros gastrorresistentes ficaram mais resistentes tanto ao meio gástrico simulado como ao meio entérico, não apresentando erosão o que sugere a seletividade dessas partículas para liberação colônica.

5. ANÁLISE DAS PARTÍCULAS POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

Com o intuito de verificar possíveis interações formadas entre os polímeros PC e QS com os polímeros incorporados FHPMC e AFC, foi realizada a análise dos espectros vibracionais das amostras na região do infravermelho. Para tal análise foram realizados espectros de cada polímero separadamente, da mistura física dos polímeros (PC:QS; PC:QS:AFC e PC:QS:FHPMC) e dos complexos polieletrólíticos formados (PC:QS; PC:QS:AFC e PC:QS:FHPMC), segundo métodos descritos no item 1.3.

A QS apresenta bandas características relacionadas ao estiramento C=O dos grupos acetamida, em 1654 cm^{-1} , devido à desacetilação parcial obtida em seu processo de purificação (GD é de 78%), e na região de $1610\text{-}1560\text{ cm}^{-1}$, atribuídas à deformação axial dos grupos amino no plano.

A PC possui íons carboxilatos em sua estrutura molecular, que se caracterizam por duas bandas, uma das quais, entre $1650\text{-}1550\text{ cm}^{-1}$, é intensa, e uma outra banda, mais fraca, em torno de 1400 cm^{-1} . Essas bandas são atribuídas à deformação axial simétrica dos grupos carboxilatos, presentes (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).

As Figuras 39-42 mostram os espectros obtidos na região do infravermelho da mistura física, do complexo polieletrólítico e dos polímeros isoladamente.

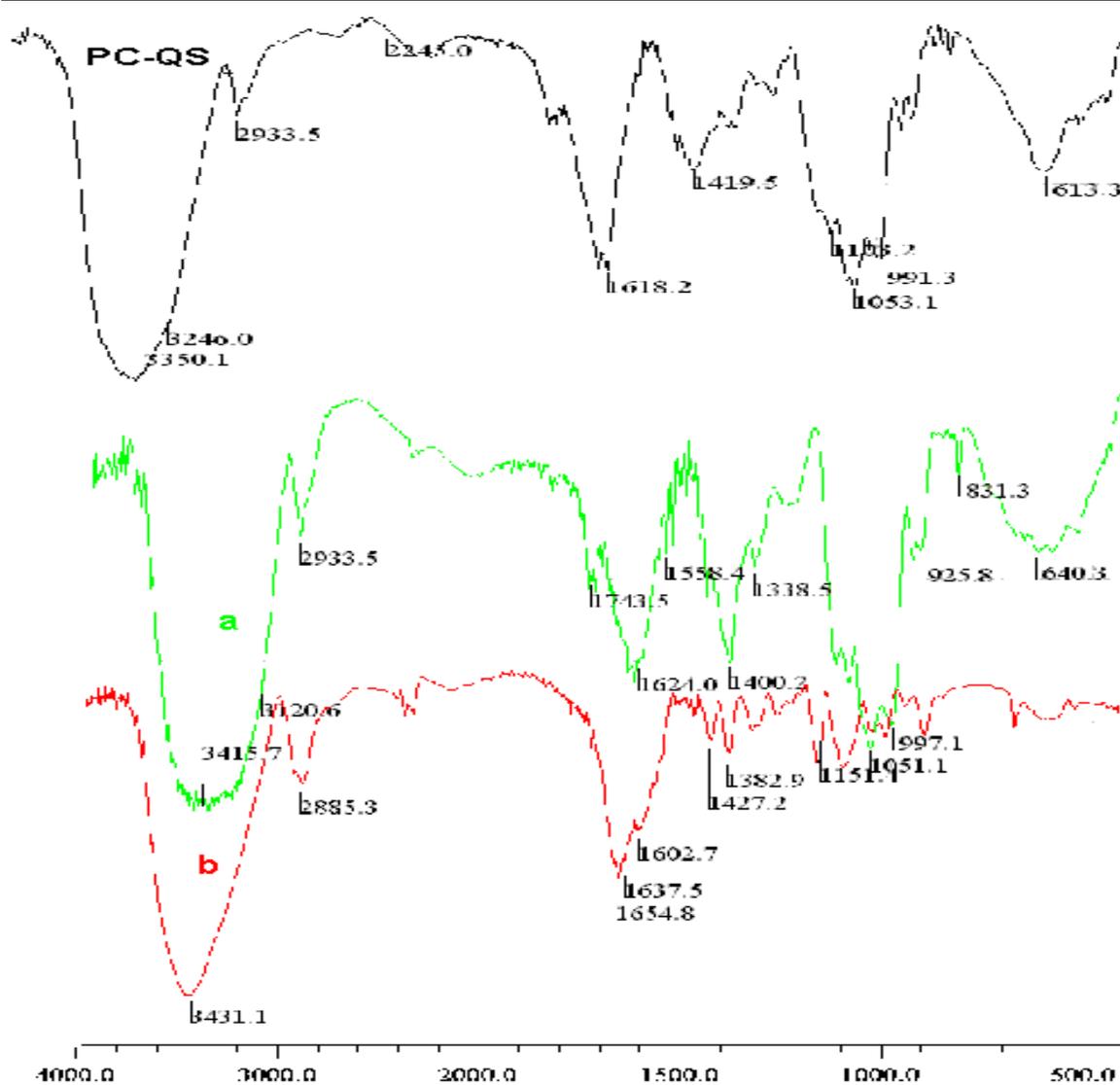


Figura 39. Espectro na região do infravermelho da mistura física de PC e QS (PC-QS e dos polímeros isoladamente a: pectina (PC) e b: quitosana (QS), respectivamente.

A figura 39 apresenta os espectros obtido com a mistura física de PC:QS , PC e QS

A mistura física destes dois polímeros apresenta aparentemente apenas a soma dos espectros obtidos com a PC e a QS.

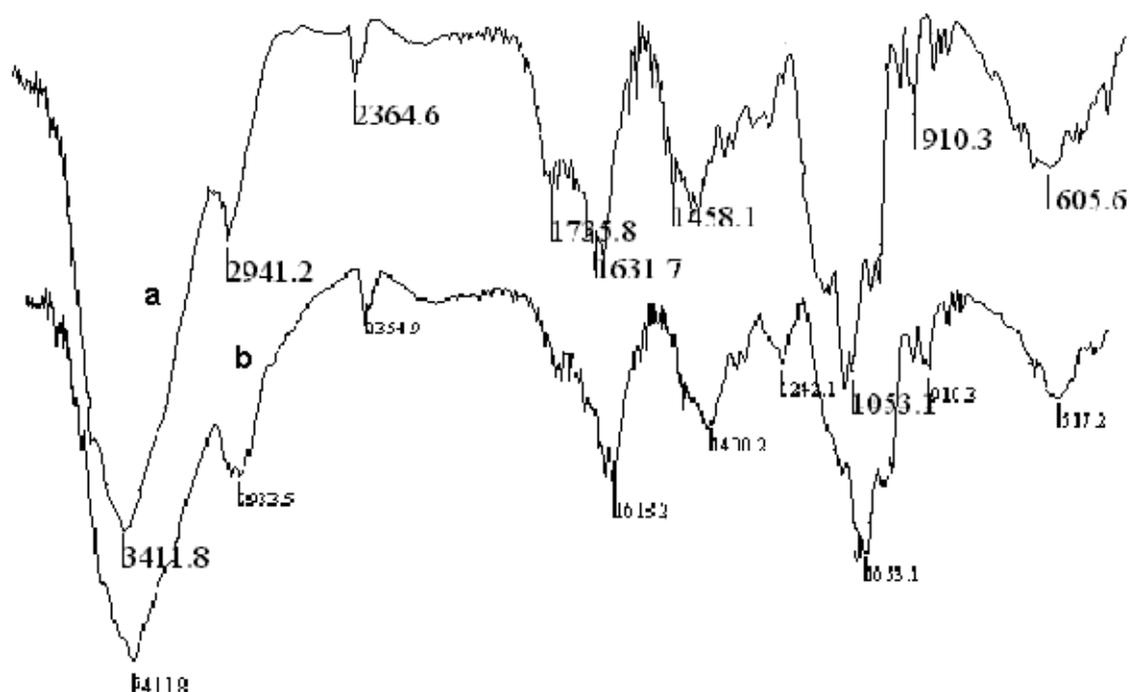


Figura 40. Espectro da mistura física de **a:** PC:QS:FH e **b:** PC:QS:AF

Os espectro da mistura física de PC:QS:FH e PC:QS:AF, na proporção 3:1:1, quando comparada com a mistura física de PC:QS, não mostra praticamente nenhuma alteração significativa, com exceção da banda em 2.350-2.370 cm⁻¹, que tornou-se ligeiramente mais intensa.

Esta banda também aparece no espectro da QS e da mistura física PC:QS, porém com uma intensidade muito baixa.

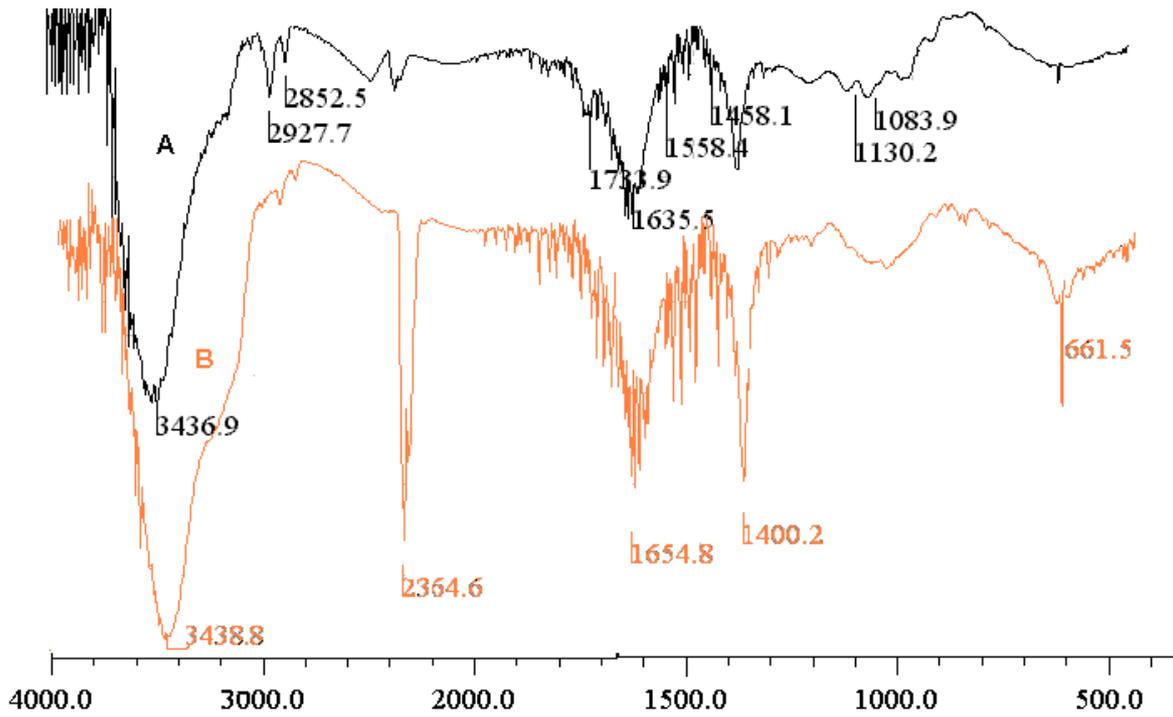


Figura 41. Espectro na região do infravermelho **A**: partículas PC:QS-controle e **B**: partículas com polímero AFC (AF05TC).

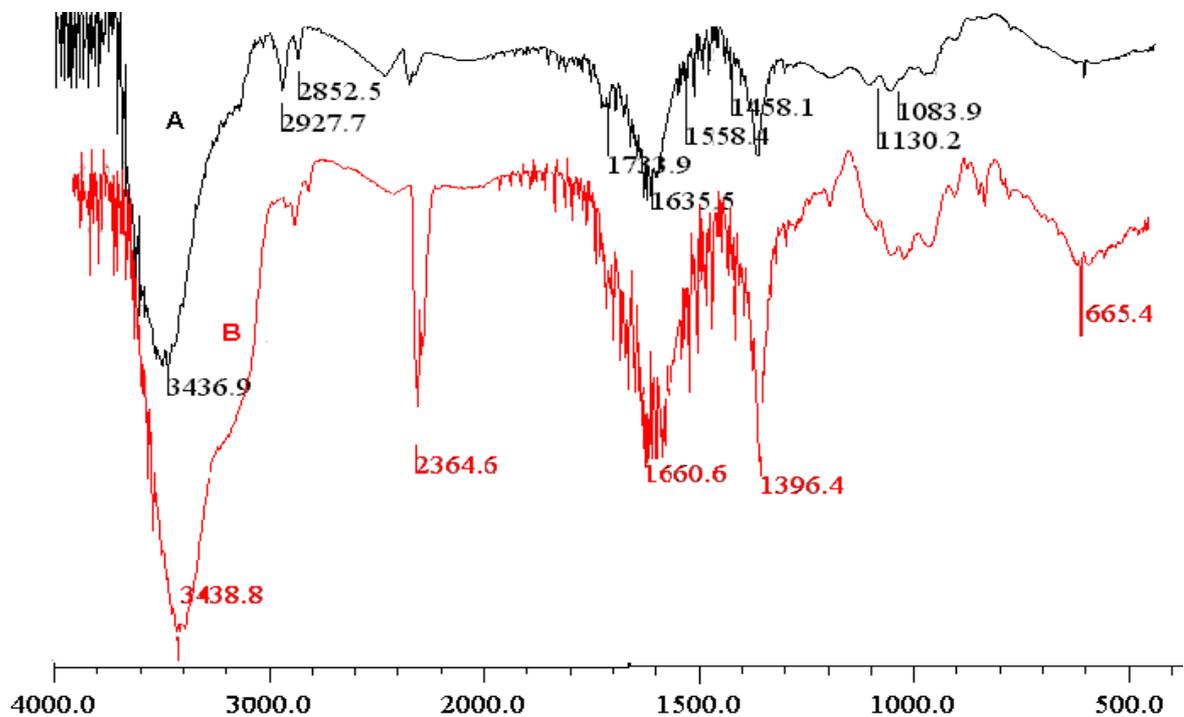


Figura 42. Espectro na região do infravermelho **A**: partículas sem polímero gastrorresistentes (PC:QS-controle) e **B**: partículas com FHPMC (FH05TC)

As figuras 41 e 42 mostram os espectros obtidos com o complexo polieletrólítico entre PC:QS-controle , PC:QS:AFC (lote AF05TC) e PC:QS:FHPMC (FH05TC).

Quando se compara o espectro da mistura física de PC:QS (Figura 39) com o do complexo formado por eles (Figura 41-A e 42-A), diferenças significativas podem ser observadas. Verifica-se que o espectro do complexo (PC:QS) não apresenta bandas na região de 1650 e 1350 cm^{-1} , que são características dos grupamentos da QS, o que sugere a neutralização dos grupos amino com a formação do complexo (LUCINDA-SILVA, 2003).

Entretanto a alteração que mais se destaca é na região entre 1200-1000 cm^{-1} , região que praticamente desaparece de todos os espectros do complexo polieletrólítico (PC:QS-controle, PC:QS:AFC e PC:QS:FHPMC).

Esta região apresenta bandas no espectro da mistura física (PC:QS), no espectro da PC, com intensidade média e, no espectro da QS com baixa intensidade. Essas bandas referem-se às chamadas “vibrações de deformação axial de C-O” dos ésteres ocorrendo entre 1300 e 1000 cm^{-1} (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000) e estão presentes na molécula de PC.

O desaparecimento destas bandas pode estar relacionado com a complexação da PC com o cálcio na chamada estrutura “caixa de ovo”.

Os espectros dos complexos PC:QS:AFC e PC:QS:FHPMC, apresentados nas Figuras 41-B e 42-B, apresentam um pico pronunciado em 2364 cm^{-1} , fato este não ocorrido nos espectros anteriores. Esse pico foi atribuído à formação de sais de aminas primárias ($-\text{NH}_3^+$), que são representados na região do infravermelho por bandas múltiplas de combinação de intensidade apreciável na região de 2800 e 2200, sendo mais intensa a banda de frequência mais baixa (SILVERSTEIN;

WEBSTER, 2000). É importante ressaltar que o grupamento amina da QS encontra-se protonado ($-\text{NH}_3^+$) no valor de pH utilizado para a preparação das partículas (pH 5,0), ou seja, já se encontra na forma de sais de amina primária e, portanto a intensificação desta banda não está relacionada à formação de sais de amina, mas provavelmente à uma mudança no eixo de simetria da ligação. Isto pode ter ocorrido devido à ligação de alguns grupamentos $-\text{NH}_3^+$, da QS, aos grupamentos $-\text{COO}^-$ dos polímeros gastrorresistentes adicionados, AFC ou FHPMC.

Na Figura 42-B, o espectro do complexo PC:QS:FHPMC, volta a apresentar picos mais definidos na região entre 1200 e 1000 cm^{-1} , região esta que como já foi mencionado possivelmente está relacionada com a complexação de PC com o cálcio, isto sugere que pode estar ocorrendo interferência do FHPMC na complexação da PC com o cálcio. O FHPMC é um polímero aniônico que também tem a tendência a complexar-se com íons metálicos.

6. ENSAIO DE LIBERAÇÃO *IN VITRO* DO FÁRMACO

Grande número de aparatos de dissolução encontram-se descrito na literatura (MARSHALL; BROOK, 1969; TINGSTAD; RIEGELMAN, 1970; LIN; MENIG; SWARTZ, 1970; BEYER; SMITH, 1971; KHALIL; ALI; KAHLEK, 1971; JOHNSON; KENNEDY; RUBIN, 1974; NEEDHAM; LUZZI, 1974; BATHE et al., 1975; GROVES; ALKAN; DEER, 1975; CARSTENSEN; YONGZANA, 1986), entretanto apenas alguns passaram por exames críticos para atestar sua validade. O primeiro aparato automático de dissolução foi descrito em 1962 por Wagner (WAGNER, 1971). O primeiro aparato de dissolução adotado oficialmente foi o da cesta (*roating basket*) pela USP em 1970. E em 1975, dois aparelhos se tornaram oficiais, aparatos 1-cesta e 2-pá, que são até hoje os equipamentos mais utilizados.

O aparato de cesta (Figura 43) está previsto em todas as farmacopéias consultadas (brasileira, britânica, européia, japonesa e americana), apresentando pequenas variações quanto às especificações (dimensões, capacidade, etc). Este aparato tem a vantagem de confinar a forma farmacêutica a uma área limitada, enquanto a mantém imersa no meio. Isso é essencial para conseguir uma melhor reprodutibilidade do método. Também é vantajoso para cápsulas que tendem a flutuar e podem ter a superfície de contato com o meio reduzido (ABDOU, 1989).

Alguns critérios estabelecidos pelas farmacopéias devem ser obedecidos, para a confiabilidade dos resultados como, por exemplo, volume do meio de dissolução, manutenção das condições *sink*, a velocidade de agitação 50-100 rpm para o método de cestas, a coleta apropriada das alíquotas (na metade do caminho entre a mola de retenção da cesta e o nível do meio de dissolução), distância da cesta em relação ao fundo da cuba (2,5 cm), etc.

Figura 43. Esquema representativo do aparato da cesta (reproduzido da Farmacopéia Brasileira 4ed).

6.1. Ensaio de liberação do fármaco em meio ácido simulado

O perfil de liberação dos lotes contendo os polímeros gastrorresistentes (FH05TC; FH1TC e AF05TC), foi comparado com o lote PC:QS:TC, lote de partículas sem os polímeros gastrorresistentes, sendo este utilizado como controle.

Esta comparação foi feita a fim de verificar as modificações no perfil de liberação dos diferentes lotes contendo AFC ou FHPMC, em relação ao lote sem os mesmos polímeros.

Para que as condições *sink* fossem mantidas, o ensaio em meio gástrico simulado foi realizado separadamente, utilizando-se 10 mg de amostra, sendo toda a análise realizada conforme descrito em métodos item 6.4.1.

As alíquotas foram coletadas a cada 15 minutos na primeira hora de ensaio e a cada 30 minutos nas duas horas restantes. Não houve reposição do meio de liberação, sendo feito, portanto, a correção dos valores da concentração do fármaco.

De maneira geral as partículas dos lotes contendo os polímeros gastrorresistentes não apresentaram liberação de fármaco na primeira hora de ensaio, apresentando não mais do que 20% de liberação do fármaco em 3h de análise, enquanto que o lote controle PC:QS:TC-controle, apresentou cerca de 20% de liberação em menos de 1h de análise.

A Figura 44 apresenta o perfil de liberação dos lotes preparados

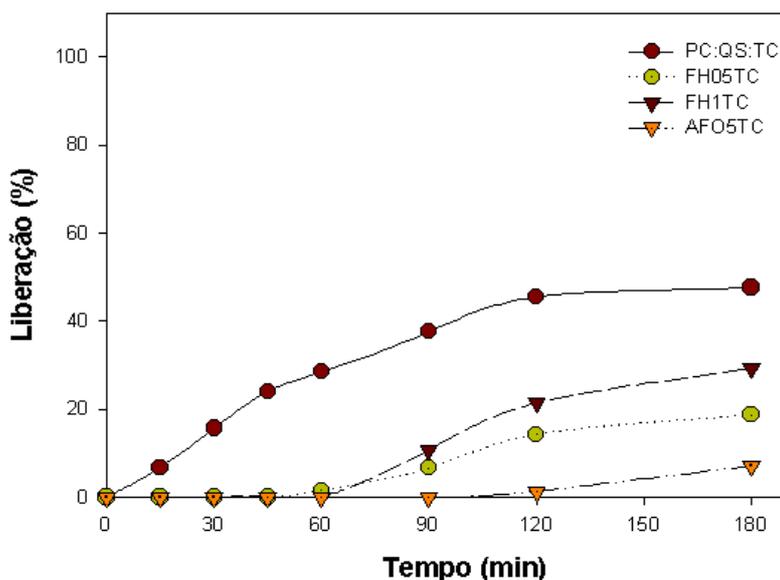


Figura 44. Perfil de liberação da TC dos lotes contendo AFC ou FHPMC e dos lotes sem estes polímeros, em meio gástrico simulado.

Os lotes AF05TC e FH05TC, foram os que apresentaram a menor taxa de liberação, cerca de 7,2 e 18,7%, respectivamente, durante as 3h de ensaio. O lote AF05TC foi o que apresentou maior controle de liberação da TC, não liberando nada durante 120 min de análise, liberando somente 7,2% de fármaco na última hora do ensaio.

As partículas incorporadas com o FHPMC foram modificadas quanto à proporção deste polímero, tendo como objetivo o maior controle sobre a liberação do fármaco. Entretanto, foi possível verificar que este aumento da concentração do polímero gastrorresistente FHPMC, não proporcionou um maior controle da liberação do fármaco, fato este, que pode estar relacionado com uma diminuição na proporção de cálcio ligado à cadeia polimérica da PC, devido a tendência que o ftalato possui em complexar-se a íons metálicos, prejudicando assim a reticulação das partículas obtidas.

A diminuição de Ca^{2+} ligado à cadeia de PC, leva a diminuição na reticulação da rede tridimensional formada pelo complexo PC: Ca^{2+} , complexo este responsável em parte, pela insolubilidade do polímero e conseqüentemente pelo controle da liberação do fármaco (LUCINDA-SILVA, 2003).

6.2. Ensaio de liberação do fármaco em meio entérico simulado

Com a finalidade de simular o trânsito gastrintestinal, para o ensaio em meio entérico simulado as amostras (40 mg) foram, primeiramente submetidas há duas horas em meio gástrico simulado sendo então transferidas para o meio entérico simulado, aonde permaneceram por 4 horas.

As cubas contendo 900 mL de meio entérico foram colocadas no aparelho de dissolução no início do ensaio em meio gástrico, tomando-se o cuidado de tampá-las com parafilme para evitar a evaporação do meio de dissolução. Após as 2 horas em meio ácido foi feita rapidamente a troca das cubas e foi então dado início ao ensaio em meio entérico simulado.

Não houve a reposição do meio de dissolução, sendo feita, a correção dos valores de concentração.

Os lotes FH05TC; FH1TC; AF05TC, apresentaram um perfil de liberação do fármaco maior em meio entérico do que em meio gástrico (Figura 45), entretanto apresentando maior controle de liberação, liberando menos que 40% do fármaco em 4h de ensaio, enquanto que os lotes PC:QS:TC, liberaram cerca de 51% do fármaco em apenas 1h de análise.

Estes resultados estão de acordo com os obtidos nos testes de intumescimento em pH 7,4, no qual as partículas contendo AFC ou FHPMC, apresentaram taxa de intumescimento bem menor do que as partículas sem os polímeros gastrorresistentes. Além da diminuição na taxa de intumescimento as partículas não sofreram erosão neste meio, o que diminui a difusão do fármaco da matriz polimérica, reduzindo a taxa de liberação.

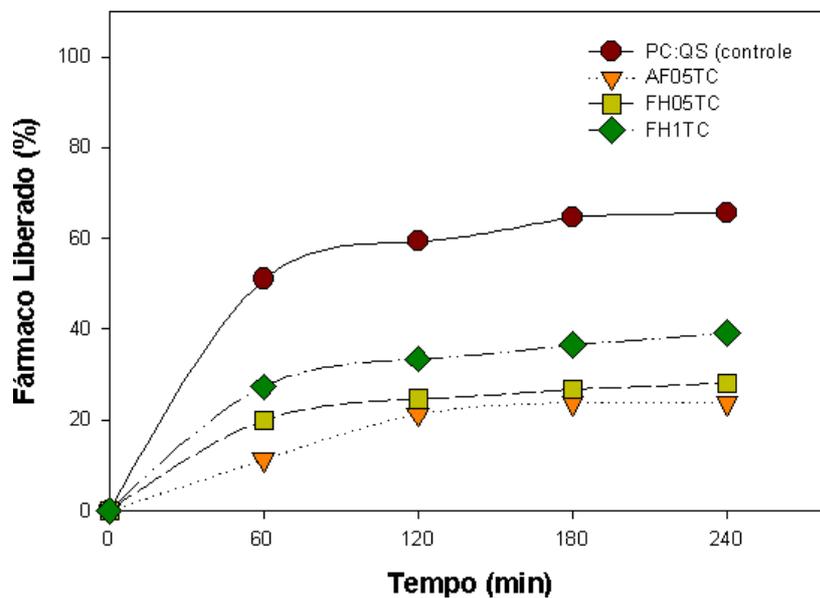


Figura 45. Perfil de liberação em meio entérico simulado dos lotes PC:QS (controle); AF05TC; FH05TC e FH1TC.

Isto evidencia que a incorporação tanto do AFC quanto do FHPMC diminui a taxa de intumescimento também em pH 7,4, valor de pH no qual a PC encontra-se altamente ionizada, o que favorece uma alta taxa de intumescimento e, conseqüentemente, uma maior taxa de liberação do fármaco (LUCINDA-SILVA, 2003).

As partículas da formulação AF05TC foram as que apresentaram maior controle e menor taxa de liberação, liberando somente cerca de 23,70% do fármaco em 4h de análise.

6.3. Ensaio de liberação do fármaco em meio colônico simulado contendo enzima

Utilizou-se nesta análise enzima Pectinex[®] Ultra SP-L, a fim de mimetizar a ação enzimática do meio colônico.

A Pectinex[®] Ultra SP-L é uma preparação enzimática produzida por cepas selecionadas de *Aspergillus aculeates* com alta atividade pectinolítica. Esta preparação enzimática contém enzimas pectinolíticas, como pectintranseliminase, poligalacturonase e pectinesterase, e também possui pequenas quantidades de hemicelulases e celulases.

A análise foi realizada através da adição da enzima em tampão fosfato 10 mM pH 5,0, como apresentado no item III 6.3.1. Este pH foi escolhido como um pH médio entre o pH de máxima atividade da enzima (pH 3,5) e o pH do cólon, referindo como estando entre 6,4 e 7,0 do cólon ascendente ao cólon descendente (LUCINDA-SILVA, 2003).

A Figura 46 apresenta o perfil de liberação das partículas dos lotes PC:QS (controle); AF05TC; FH05TC e FH1TC.

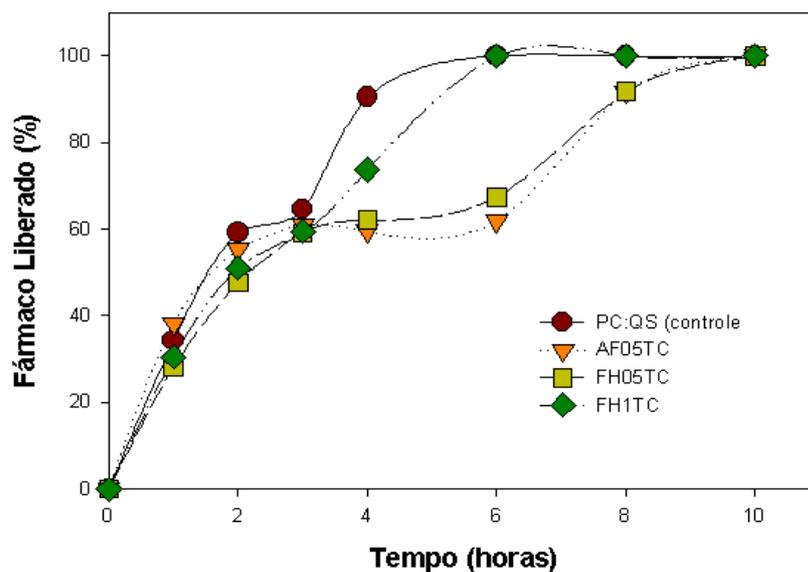


Figura 46. Perfil de liberação do fármaco, em meio colônico simulado contendo enzima, dos lotes PC:QS:TC; AF05TC; FH05TC e FH1TC.

A ação das enzimas pectinolíticas causa a degradação do filme de PC:QS pela quebra da cadeia polimérica da PC. Segundo Munjeri e colaboradores (1997), a presença de cálcio pode ser um fator positivo, pois verificaram o aumento na ação da enzima na presença deste íon.

Comparando-se o perfil de liberação do fármaco dos lotes AF05TC, FH05TC e FH1TC com o lote PC:QS:TC (controle), observa-se que os lotes contendo os polímeros gastrorresistentes prolongaram a liberação do fármaco em até 10h de análise, enquanto que as partículas do lote PC:QS:TC (controle) liberaram 100% do fármaco em 5h de ensaio.

Os lotes AF05TC e FH05TC, apresentaram liberação mais lenta e mais prolongada quando comparado com os outros lotes analisados (FH1TC e PC:QS:TC), sendo cerca de 62% do fármaco liberado em 4h e somente após 10h de análise houve 100% de liberação.

O perfil de liberação observado nestes lotes (AF05TC e FH05TC) já era esperado, pois foi também observado nos ensaios de intumescimento e liberação *in vitro*, tanto em meio ácido como em meio entérico, sendo que em ambos os meios as partículas destes lotes, apresentaram-se mais resistentes (Figura 47).

É importante considerar que a redução do pH de 7,4 para 5,0 altera significativamente a ionização da PC. Em pH 7,4, a PC está altamente ionizada, apresentando alta taxa de intumescimento, com conseqüente aumento na liberação do fármaco e em pH 5,0 ela estão parcialmente ionizados.

Esse perfil de ionização em pH 5,0, influencia a interação entre os polímeros e, conseqüentemente, altera a capacidade de intumescimento. Esta redução da taxa de intumescimento favorece a redução do processo de erosão das partículas intumescidas, fato este que leva a diminuição na liberação do fármaco (LUCINDA-SILVA, 2003).

Nota-se, portanto, que a redução do valor de pH de 7,4 para 5,0 na liberação em meio colônico simulado, não limitou a liberação, sendo o fármaco liberado mais rapidamente do que em meio entérico. Isto sugere que as partículas mantiveram apesar da adição dos polímeros AFC e FHPMC, as características de degradação enzimática e aparentemente tornaram-se mais seletivas para o meio colônico. Esses resultados apresentados mostram que as partículas contendo AFC ou FHPMC produzidas aliaram a liberação pH-dependente com a liberação enzimática.

As partículas do lote AF05TC foram as que promoveram resultados melhores em todos os meios analisados.

Este comportamento pode estar relacionado com a estrutura molecular do AFC que possui mais substituintes com caráter hidrofóbico, tornando-o mais

resistente ao meio alcalino, fato observado na dificuldade em se preparar à dispersão deste polímero, e pode estar relacionado também à morfologia deste lote apresentada no item IV 4.4.1, no qual verifica-se através das fotomicrografias eletrônicas de varredura, uma diferença na superfície externa das partículas do lote AF05TC e FH05TC.

A Figura 47 apresenta o perfil de liberação das partículas em meio ácido e gástrico simulado.

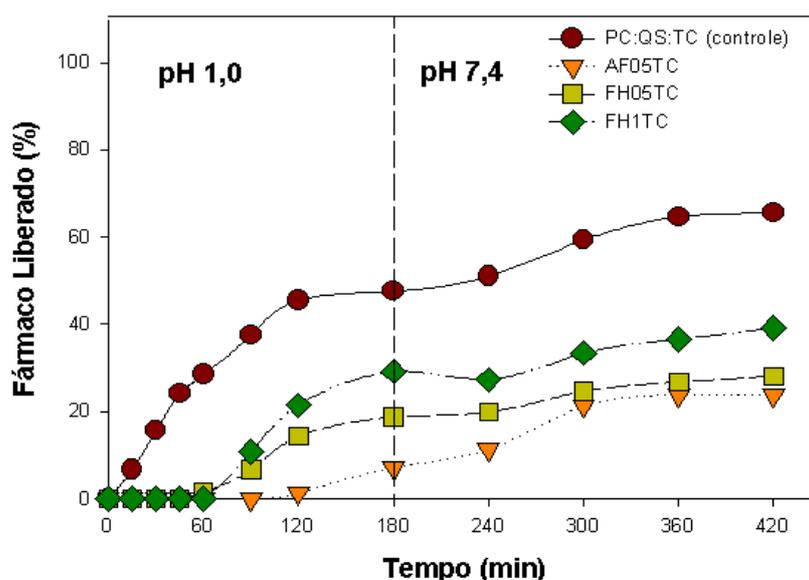


Figura 47. Perfil de liberação do fármaco em meio gástrico e entérico simulados das partículas PC:QS:TC (controle); AF05TC; FH05TC e FH1TC.

O lote AF05TC apresentou uma superfície mais uniforme, menos rugosa e com poucos espaços intersticiais, enquanto que o lote FH05TC apresentou uma superfície porosa com muitos espaços intersticiais, o que pode ter resultado em uma

maior penetração dos meios de liberação, acelerando o processo de difusão e conseqüentemente aumentando a taxa de intumescimento, o que resultou em um menor controle sobre a liberação do fármaco.

VI. CONCLUSÃO

As análises granulométricas e morfológicas mostraram que o método de coacervação complexa produziu partículas uniformes e esféricas, mesmo quando os polímeros gastrorresistentes foram acrescentados.

O método de solubilização dos polímeros gastrorresistentes que permitiu melhor complexação foi o que utilizou solução NaOH 0,05 mol/L, sendo que as partículas contendo AFC ou FHPMC obtidas, mostraram-se morfológicamente semelhantes às partículas obtidas sem os polímeros gastrorresistentes .

Através das análises de intumescimento, observou-se melhora significativa da gastrorresistência das partículas contendo os polímeros AFC E FHPMC.

A taxa de intumescimento foi mais baixa para as partículas com o polímero gastrorresistente AFC do que para as partículas com o FHPMC.

Uma taxa de intumescimento maior foi observada em pH 3,0 e em meio entérico simulado (tampão fosfato pH 7,4), entretanto os lotes com AFC e FHPMC, apresentaram um maior controle em todos os meios testados, quando estes foram comparados com os lotes de PC:QS-controle.

A incorporação do fármaco-modelo não alterou significativamente a morfologia e granulometria das cápsulas, observou-se uma pequena redução do tamanho das partículas, o que pode estar relacionado com um melhor rearranjo dos polímeros e do fármaco, havendo assim uma otimização do espaço interno das partículas.

Os ensaios de liberação *in vitro*, mostraram que o acréscimo dos polímeros AFC e FHPMC resultou em um maior controle sobre a liberação do fármaco em todos os meios analisados. Os lotes AF05TC e FH05TC foram os que liberaram

menos, cerca de 1,33 e 14,29 %, respectivamente, em meio ácido, após 3 horas de análise, enquanto que o lote de partículas utilizado como controle (PC:QS-controle), liberou cerca de 45,52% em 2h de análise.

Estes resultados apresentados evidenciam a melhora na gastrorresistência obtida após a incorporação tanto do acetofalato de celulose, quanto do ftalato de hidroxipropilmetil celulose.

VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOU, H. M. *Dissolution, bioavailability & bioequivalence*. Easton: Mack Publishing, 1989, 554p.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). *Resolução- RE nº 899, de maio de 2003*. D.O.U. 02/06/2003.

AHRABI, S.F.; MADSEN, G.; DYRSTAD, K.; SANDE, S.A.; GRAFFNER, C. Development of pectin matrix tablets for colonic delivery of model drug ropivacaine. *Eur. J. Pharm. Sci.*, v.10, p.43-52, 2000.

ASHFORD, M. O trato gastrointestinal: fisiologia e absorção de fármacos. In: AULTON, M.E. (Eds). *Delineamento de formas farmacêuticas*. Porto Alegre: Artmed, 2005, v.2, p.229-244.

ASHFORD, M.; FELL, J.T. Targeting drugs to the colon: delivery systems for oral administration. *Journal of Drug Targeting*, 2 (3), p. 241-257, 1994.

AZEVEDO, M.M.M., Nanoesfera e a liberação controlada de fármacos, Monografia, Instituto de Química, UNICAMP, Campinas, 2002

BARBER, T. A. Particle population analysis. In:_____. *Pharmaceutical particulate matter: analysis and control*. Buffalo Grove: Interpharma, 1993, p.266-303.

BASILISCO, G.; PHILLIPS, S.F. The small bowel and the ileocaecal region. In: KUMAR, D.; WINGATE, D. (Eds.). *An illustrated guide to gastrointestinal motility*. London: Churchill Livingstone, 1993, p.410-426.

BATHE, R. V.; HÄFLIGEL, O.; LANGENBUCKER, F.; SCHÖNLEBER, D. In vitro comparison of the beaker, the rotating-basket and the column dissolution-rate methods. *Pharm. Acta. Helv.*, Zurich, v.50, n.1/2, p.3-10, 1975.

BEPPU, M.M; Estudo da calcificação *in vitro* de quitosana. Campinas, 1999, Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química – UNICAMP, Campinas, 1999.

BERGER, J., REIST, M., MAYER, J.M., FELT, O., PEPPAS, N.A., GURNY, R. Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications, *Eur. J. Pharm. Bioph*, v.57, p.19-34, 2004.

BERNKOP-SCHNÜRCH, A. Chitosan and its derivatives: potencial excipients for peroral peptide delivery systems. *Int. J. Pharm.*, v.194, p.1-13, 2000.

BEYER, W. F.; SMITH, E. W. Automation of NF method I-USP dissolution rate test. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v.60, n.10, p.1556-1558, 1971.

BRINE, C.J. In: ZIKAKIS, J.P. (Ed.). Chitin, chitosan and related enzymes. New York: Academic Press, 1984.

CANELLA, K.M.N.C.; GARCIA, R.B., Caracterização de Quitosana por cromatografia de permeação em gel-influência do método de preparação e do solvente, *Quím. Nova*, v.24, n.1, p.13-17, 2001.

CARSTENSEN, J. T.; YONGZANA, Y. dissolution profile in column dissolution. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v.75, n.8, p.764-768, 1986.

CECIL, J.E.; FRANCIS, J.; READ, W. Comparison of the effects of a high-fat and high carbohydrate soup delivered orally and intagastrically on gastric emptying, appetite, and eating behaviour. *Physiol. Behav.*, v.67, p.299-306, 1999.

CERVERA, M.F.; HEINÄMÄKI, J.; KROGARS, K.; JÖRGRNSEN, A.C.; KARJALAINEN, M.; COLARTE, A.I.; YLIRUUSI, J. Solid-state and mechanical properties of aqueous chitosan-amylose starch films plasticized with polyols. *AAPS. Pharm. Sci. Tech*, v.5, n.1, p.1-6, 2004.

CHANG, K.L.B.; LIN, J. Swelling behavior and the release of protein from chitosan-pectin composite particles. *Carb. Polym.*, v.43, p.163-169, 2000.

CHOURASIA, M.K.; JAIN, S.K. Pharmaceutical approaches to colon target drug delivery systems. *J. Pharm. Pharmac. Sci.*, v.6, n.1, p.33-66, 2003.

CIFTCI, K.; GROVES, M.J. Delivery of antitumor compounds to the rat colon: *in vitro* and *in vivo* evaluation. *Int. J. Pharm.*, v.145, p.157-164, 1996.

CORÁ, L.A. Formas Farmacêuticas Magnéticas avaliadas no Trato gastrintestinal humano por Biosusceptometria AC. Botucatu, 2004. 117p. Tese (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2004.

CORÁ, L.A.; ROMEIRO, F.G.; STELZER, M., AMÉRICO, M.F.; OLIVEIRA, R.B. ; BAFFA, O.; MIRANDA, J.R.A. AC biosusceptometry in the study of drug delivery. Review Article. *Adv. Drug Delivery. Rev.*, n.8, v.57, p.1223-1241, 2005.

COUPE, A.J.; DAVIS, S.S.; EVANS, D.F.; WILDING, I.R. Correlation of the gastric emptying of nondisintegrating tablets with gastrointestinal motility. *Pharm. Res.*, v.8, p.1281-1285, 1991.

CUTOTTO, E.; AROS, F. Quantitative determination of chitosan and the percentage of free amino groups. *Anal. Biochem.*, v.211, p.240-241, 1993.

DAVIS, S.S.; HARDY, J.G.; FARA, J.W. Transit of pharmaceutical dosage forms through the small intestine. *Gut*, v.27, p.886-892, 1986.

DEBON, S.J.J.; TESTER, R.F. In vitro binding of calcium, iron and zinc by non-starch polysaccharides. *Food Chem.*, v.73, p.401-410, 2001.

DENKBAS, E.B.; KILIÇAY, E.; BIRLIKSEVEN, C.; ÖRZTÖRK, E. Magnetic chitosan microspheres: preparation and characterization. *Reactive & Functional Polym.*, v.50, p.225-232, 2002.

DOEKLER, E. Cellulose derivates. *Adv. Polym. Sci.*, v.107, p. 199-265, 1993.

DRESSMAN, J.B.; BASS, P.; RITSCHER, W.A.; FRIEND, D.R.; RUBINSTEIN, A. Gastrointestinal parameters that influence oral medications. *J. Pharm. Sci.*, v.82, n.9, p.857-872, 1993.

EHRHARDT, L.; PATT, L.; SCHINDLER, E. Optimization of film coating systems. *Pharm. Ind.*, v.35, p.719-722, 1973.

EVANS, A.M. Influence of dietary components on the gastrointestinal metabolism and transport of drugs. *Ther. Drug Monit.*, v.22, p.131-136, 2000.

EVANS, D.F.; PYE, G.; BRAMLEY, R.; CLARK, A.G.; DYSON, T.J.; HARDCASTLE, J.D. Measurement of gastrointestinal pH profiles in normal ambulant human subjects. *Gut.*, v.29, p.1035-1041, 1998.

EWE, K.; PRESS, A.G.; BOLLEN, S., SCHUHN, I. Gastric emptying of indigestible tablets in relation to composition and time of ingestion of meals studied by metal detector. *Dig. Dis. Sci.*, v.36, p.146-152, 1991.

FALLINGBORG, J.; CHRISTENSEN, L.A.; ASCANIUS, B. Very low intraluminal colonic pH in patients with active ulcerative colitis. *Dig. Dis. Sci.*, v.38, p.1989-1993, 1993.

FARMACOPÉIA brasileira. 4 ed. São Paulo: Atheneu editora, 1988.

FELL, J. T. Targeting of drugs and delivery systems to specific sites in the gastrointestinal tract. *J. Anat.*, v.189, p.517-519, 1996.

FERNÁNDEZ-HERVÁS, M.J.; FELL, J.T. Pectin/chitosan mixtures as coating for colon-specific drug delivery: an *in vitro* evaluation. *Int. J. Pharm.*, v.169, p.115-119, 1998.

FRIEND, D.R. Issues in oral administration of locally acting glucocorticosteroids for treatment of inflammatory bowel disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, v.12, n.7, p.591-603, 1998.

FRIEND, D.R. New oral delivery systems for treatment of inflammatory bowel disease. *Adv. Drug Delivery Rev.*, v.57, p.247-265, Monmouth Junction, 2005.

GAMZAZADE, A.I.; NASIBOV, S.M. Formation properties of polyelectrolyte complexes of chitosan hydrochloride and sodium dextran sulfate. *Carbohydr. Polym.*, v.50, p.339-343, 2002.

GIELKENS, H.A.J.; NIEUWENHUIZEN, A.; BIEMOND, I.; LAMERS, C.B.H.W.; MASCLEE, A.A.M.. Interdigestive antraduodenal motility and gastric acid secretion. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, v.12, p.27-33, 1998.

GRAY, V.; DRESSMAN, J. Simulated intestinal fluid TS- change to pH 6.8. *Pharmacopeial Forum*, v.22, p.1943-1945, 1996.

GROVES, M. J.; ALKAN, M. H.; DEER, M. A. The evaluation of a column-type dissolution apparatus. *J. Pharm. Pharmacol.*, London, v.27, p.400-407, 1975.

HANAUER, S.B. Medical therapy of ulceratives colitis. *The Lancet*, v.342, n.8868, p.412-417, 1993.

HASLER, W.L. The physiology of gastric motility and gastric emptying. In: YAMADA, T. (Ed). *Textbook of gastroenterology*. Philadelphia: J.B. Lippincott, p.181-206, 1995.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF THE CHINESE REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICAL FOR HUMAN USE. ICH Harmonised Tripartite Guideline. *Validation of Analytical Procedures: Methodology Q2B*. 1996. p.1-12. Disponível em: http://www.ich.org/MediaServer.jserv?@_ID=4188C_MODE=GLB. Acesso em: 03 maio 2005.

JOHNSON, J. B.; KENNEDY, P. G.; RUBIN, J. H. System for automated determination of dissolution rate. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v.63, n.12, p.1931-1935, 1974.

JOSÉ, M.N.; SOUZA, C.M.L.; YOSHIDA, I.V.P.; FELISBERTI, M.I. Sínteses de redes à base de PMDS e reticulantes dendríticos. In: *CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIAS DOS MATERIAIS*, 14th, 2000, São Pedro. Anais...São Pedro, 2000, p.46802-46808. Disponível em: <http://gppol.iqm.unicamp.br/Congressos/14CBECIMAT/TC401-004.pdf>. Acesso em 10 julho 2005

JOSUÉ, A.; LARANJEIRA, M.C.; FÁVERE, V.T., KIMURA, I.Y.; PEDROSA, R.C. Liberação controlada de eosina impregnada em microesferas de copolímero de quitosana e poli(ácido acrílico). *J. Polim.*, v.3, n^o 10, p.116-121, 2000.

KAKOULIDES, E.P.; SMART, J.D.; TSIBOUKLIS, J. Azocross-linked poli(acrylic acid) for colonic delivery and adhesion specificity: *in vitro* degradation and preliminary *ex vivo* bioadhesion studies. *J. Contr. Release*, v.54, p.95-109, 1998.

KAMBA, M.; SETA, Y.; TAKEDA, N.; HAMAURA, T.; KUSAI, A.; NAKANE, H.; NISHIMURA, K. Measurement of agitation force in dissolution test and mechanical destructive force in disintegration test. *Int. J. Pharm.*, v.250, p.99-109, 2003.

KAS, H.S. Chitosan: properties, preparations and application to microparticulate systems. *J. Microen.*, v.14, p.689-711, 1997.

KENYON, C.J.; NARDI, R.V.; WONG, D.; HOOPER, G.; WILDING, I.R.; FRIEND, D.R. Colonic delivery of dexametason: a pharmacoscintigrafic evaluation. *Alimen. Pharmacol. Ther.*, v.11, n.1, p.205-213, 1997.

KHALIL, S. A. H.; ALI, L. M. M.; KAHLEK, M. M. A. Dissolution rate studies using BP disintegrations apparatus. *J. Pharm. Phamacol.*, London, v.23, p.125-130, 1971.

KHOR, E.; LIM, L.Y. Implantable applications of chitin and chitosan. *Biomaterials*, v.24, p.2339-2349, 2003.

KHOSLA, R.; FEELY, L.C.; DAVIS, S.S. Gastrintestinal transit of non disintegrating tablets in fed subjects. *Int. J. Pharm.*, v.53, p.107-117, 1989.

KIMURA, I.Y. Remoção de corantes reativos contendo grupos vinilsufona e triazina por adsorção e coagulação/floculação com quitosana, Florianópolis, 2001, Tese (Doutorado em Química) – Departamento de Química, UFSC, Florianópolis, 2001.

KINGET, R.; KALALA, W.; VERVOORT, L.; MOOTER, G.V.D. Colonic drug targeting. *J. Drug. Target.*, v.6, n.2, p.129-149, 1998.

KLOTZ, U.; SCHWAB, M. Topical delivery of therapeutic agents in the treatment of inflammatory bowel disease. *Adv. Drug Delivery Rev.*, v.57, p.267-279, Auerbachstraße, 2005.

KRISHNAIAH, Y.S.R.; SATYANARAYANA, S.; RAMA PRASAD, Y.V.; NARASIMHA RAO, S. evaluation of guar gum as a compression coat for drug targenting to colon. *Int. J. Pharm.*, v.171, p.137-146, 1998.

LEOPOLD, C.S. Coated dosage forms for colon-specific drug delivery. *PSTT*, v.2, n.5, p.197-204, 1999.

LEOPOLD, C.S.; EIKELER, D. Eufragit® E as coating material for the pH-controlled frug realese in the topical treatment of inflammatory bowel diseade (IBD). *J. Drug. Target.*, v.6, n.2, p.85-94, 1998.

LEVY, G. Impact of pharmacodynamic variability on drug delivery. *Adv. Drug Delivery Rev.*, v.33, p.201-206, 1988.

LIN, S. L.; MENIG, J.; SWARTZ, C. J. Comparative evaluation of various dissolution apparatus for capsula dosage forms. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v.59, n.7, p.989-994, 1970.

LIN, Y.; LIANG, H.; CHUNG, C.; CHEN, M.; SUNG, H. Physically crosslinked alginate/N,O-carboxymethyl chitosan hydrogels with calcium for oral delivery of protein drugs. *Biomaterials*, v.26, p.2105-2113, 2005.

LIPKA, E.; AMIDON, G.L. Setting bioequivalence requirements for drug development based on preclinical data: optimizing oral drug delivery system. *J. Control. Release*, v.62, p.41-49, 1999.

LOPES DE ALBA, P.L.; LOPEZ-MARTINEZ, L.; GUZMAN-GARCIA, M. Determination espectrofotométrica de la pureza de la quitosana mediante reacción con ninhidrina. *An. Quim.*, v.86, p.801-804, 1990.

LORENZO-LAMOSA, M. L.; REMUÑÁN-LOPEZ, C.; VILA-JATO, J.L.; ALONSO, M.J. Design of microencapsulated chitosan microspheres for colonic drug delivery. *J. Control. Release*, v.52, p.109-118, 1998.

LUCINDA-SILVA, R. M. Sistemas multiparticulados à base de quitosana para liberação colônica de fármacos. Araraquara, 2003. 185p. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, 2003.

MACLEOD, G.S.; FELL, J.T.; COLLET, J.H. An in vivo investigation into the potential for bimodal drug release from pectin/chitosan/HPMC-coated tablets. *Int. J. Pharm.*, v.188, p.11-18, 1999.

MARSHALL, K.; BROOK, D. B. A simplified dissolution rate apparatus. *J. Pharm. Pharmacol.*, London, v.21, p.790, 1969.

MATHUR, N.K., NARANG, K.C. Versatile polysaccharides from marine animals. *J. Chem. Educ.*, v.67, n.11, p.938, 1990.

MATSUMOTO, S.; KOBAYASHI, H.; TAKASHIMA, Y. Production of monodispersed capsules. *Journal of Microencapsul.*, v.3, p. 25-31, 1986.

MCDUGALL, C.J.; WONG, R.; SCUDERA, P.; LESSER, M.; DeCOSSE, J.J. Colonic mucosal pH in humans. *Dig. Dis. Sci.*, v.38, n.3, p.542-545, 1993.

MERCK INDEX: an encyclopaedia of chemical, drugs, and biologicals. 13th ed. Rahway: Merck, 2001.

MOFFAT, A.C. (Ed.) *Clarke's isolation and identification of drugs in pharmaceuticals, body, fluids and post-mortem material*. 2th ed. Londres: The Pharmaceutical Press, 1986, p.1036-1037.

MONTENBAULT, A.; CITON, C.; DOMARD, A. Rheometric study of gelation of chitosan in a hydroalcoholic medium. *Biomaterials*, v.26, p.1634-1643, 2005.

MUNJERI, O.; COLLETT, J.H.; FELL, J.T. Hydrogel beads based on amidated pectins for colon-specific drug delivery: the role of chitosan in modifying drug release. *J. Control. Release*, v.46, p.273-278, 1997.

MUZZARELLI, R.A.A.; REOCCHETTI, R.; STANIC, V.; WECKX, M. Methods for the determination of the degree of acetylation of chitin and chitosan. In : MUZZARELLI, R.A.A.; PETER, M.G. *Chitin handbook*. Torrette: European Chitin Society, 1997, p. 109-119.

NEEDHAM, T. E.; LUZZI, L. A. Comparison of dissolution profiles of tablets and capsules from the USP, Levy, and magnetic basket methods. *Pharm. Technol.*, New York, v.63, n.6, p.925-928, 1974.

NEURATH, A.R.; STRICK, N.; LI, YY.; DEBANATH, A.K. Cellulose acetate phthalate, a common pharmaceutical excipient, inactivates HIV-1 and blocks the coreceptor binding site on the virus envelope glycoprotein gp 120. *BMC Infect. Dis.*, v.1, n.17, p., 2001

O'BRIEN, M.D.; PHILLIPS, S.F. Colonic motility in health and disease. *Gastroenterol. Clin. North Am.*, v.25, p.147-162, 1996.

OFORI-KWAKYE, K.; FELL, J.T. Biphasic drug release: the permeability of films containing pectin, chitosan and HPMC. *Int. J. Pharm.*, v.226, p.139-145, 2001.

OLIVEIRA, A.G., SCARPA, M.V., BUENO, J.H.F., EVANGELISTA, R.C. Micro e nanocápsulas: Um eficiente sistema, com dimensões reduzidas para liberação controlada e direcionamento de fármacos encapsulados. *Ver. Ciênc. Farm.*, v.14, p.37-49, 1992.

PETER, M.G. Applications and environmental aspects of chitin and chitosan. *J.M.S. Pure Appl. Chem.*, v.A32, p.629-640, 1995.

PETRAK, K. Polyelectrolyte complexes in biomedical applications - review. *J. Bioact. Compat. Polym.*, v.1, p.202-219, 1986.

PINEDO, U. G.; DELGADO, E. C.; DELLAMARY, F.L. et al. Utilización de prótesis de Quitosana y silicona en la regeneración del nervio ciático axotomizado de ratas. *Arch. Neurocién.*, v. 64, n.4, p.184-193, 2001.

QUIGLEY, E. M. M. Gastroduodenal Motility. *Curr. Opin. Gastroen.*, v.16, p.479-488, 2000.

RAMA PRASAD, Y. V.; KRISHNAIAH, Y. S. R.; SATYANARAYANA, S. *In Vitro* evaluation of guar gum as a carrier for colon-specific drug delivery. *J. Control. Release*, v.51, p.281-287, 1998.

RAO, S.S.C.; SCHULZE-DELRIEU, K. The stomach, pylorus and duodenum. IN : KUMAR, D.; WINGATE, D.(Eds.). *An illustrated guide to gastrointestinal motility*. London: Churchill Livingstone, 1993, p.373-392.

RATHKE, T. D., HUDSON, S. M. Review of chitin and chitosan as fiber and films formers. *J. Macromol. Sci. - Rev. Macromol. Chem. Phys.*, v.C34, 375-437, 1994.

RHODES, C.T.; PORTER, S.C. Coatings for controlled-release drug delivery systems. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, v.24, p.1139-1154, 1998.

ROBERTS, G. A.F. ROBERTS. *Chitin Chemistry*. The London Press, Macmillan: 1992.

ROUGE, N.; BURI, P.; DOELKER, E. Drug absorption sites in the gastrointestinal tract and dosage forms for site-specific delivery. *Int. J. Pharm.*, v.136, p.117-139, 1996.

ROWE, R. C. Molecular weight studies on hydroxy propyl methylcellulose phatalate (HP 55). *Acta. Pharm. Technol.*, v.28, n.2, p.127-130, 1982.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P.J.; WELLER, P.J. (Ed.). *Handbook of pharmaceutical excipients*. 4th. ed. London: The Pharmaceutical Press, 2003. p. 120-122, 301-305.

RUBINSTEIN, A. Approaches and opportunities in colon-specific drug delivery. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, v.12, n.273, p.101-149, 1995.

RUBINSTEIN, A. Microbially controlled drug delivery to the colon. *Biopharm. Drug Disposition*, v.6, p.465-475, 1990.

RUBINSTEIN, A.; RADAI, R.; EZRA, M.; PATHAK, S.; ROKEM. J.S. In vitro evaluation of calcium pectinate: a potencial colon-specific drug delivery carrier. *Pharm. Res.*, v.10, n.2, p.258-263, 1993.

SABNIS, S.; BLOCK, L. H. Improved infrared spectroscopic method for the analysis of degree of N-deacetylation of chitosan. *Polym. Bull.*, v.39, p.67-71, 1997.

SAKELLARIOU, P., ROWE, R. C. Interactions in cellulose derivate films for oral drug delivery. *Prog. Polym. Sci.*, v.20, p.889-942, 1995.

SANTOS, J. E.; SOARES, J. P.; DOCKAL, E. R.; CAMPANA, S. P. F.; CAVALHEIRO, E. T. G. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. *Polim. Ciência e Tecnologia*, v.13, n.4, p.242-249, 2003.

SAVAGE, G.V.; RHODES, C.T. The sustained release coating of solid dosage forms: a historical review. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, v.21, p.93-118, 1995.

SEMDÉ, R.; AMIGHI, K.; DEVLEESCHOUWER, M.J.; MOËS, A.J. Effect of pectinolytic enzymes on the theophylline release from pellets coated with water insoluble polymers containing pectin HM or calcium pectinate. *Int. J. Pharm.*, v.197, p.169-179, 2000.

SERTSOU, G.; BUTLER, J.; HEMPENSTALL, J.; RADES, T. Solvent change coprecipitation with hydroxypropyl methylcellulose phthalate to improve dissolution characteristics of a poorly water-soluble drug. *J. Pharm. Pharmacol.*, v.54, p.1041-1047, 2002.

SHAMEEN, M.; KATORI, N.; AOYAGI, N.; KOJIMA, S. Oral solid controlled release dosage forms: role of GI-mechanical destructive forces and colonic release in drug absorption under fasted and fed conditions in humans. *Pharm. Res.*, v.12, p.1049-1054, 1995.

SHIGEMASA, Y.; MATSUURA, H.; SASHIWA, H.; SAIMOTO, H. Evaluation of different absorbance ratios from infrared spectroscopy for analyzing the degree of deacetylation in chitin. *Int. J. Biol. Macromol.*, v.18, p.237-242, 1996.

SHIMONO, N.; TAKATORI, T.; UEDA, M.; MORI, M.; HIGASHI, Y.; NAKAMURA, Y. Chitosan dispersed system for colon-specific drug delivery. *Int. J. Pharm.*, v.245, p. 45-54, 2002.

SICCARD, D.; TURNER, J.R.; MRSNY, R.J. Regulation of epithelial function: a link between opportunities for macromolecular drug delivery and inflammatory bowel disease. *Adv. Drug Delivery Rev.*, v.57, p.219-235, 2005.

SIGNINI, R. Estudo das relações estruturas/propriedades de quitina e quitosana. São Carlos, 2002, Tese (Doutorado em Físico-Química) – Instituto de Química – USP, São Carlos, 2002.

SILVA, J. E. Obtenção e caracterização de pelletes para liberação prolongada de Triancinolona a partir de microesferas biodegradáveis de ácido poli-láctico-glicólico, 85p. 2004. Dissertação (Mestrado em Ciências farmacêuticas)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2004.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2000.

SINGH, B. N. Effects of food on clinical pharmacokinetics. *Clin. Pharmacokinet.*, v.37, p.213-255, 1999.

SINHA, V. R.; KUMRIA, R. Microbially triggered drug delivery to the colon. *Eur. J. Pharm. Sci.*, v.18, p.3-18, Índia, 2003.

SINHA, V.R.; KUMRIA, R. Polysaccharides in colon-specific drug delivery. *Int. J. Pharm.*, v.224, p.19-38, 2001.

SOCIEDADE PORTUGUESA DE ENDOSCOPIA DIGESTIVA – SPED. Disponível em: <<http://www.sped.pt/banco.php>>. Acesso em 10 jun 2003.

SRIAMORNSAK, P.; NUNTHANID, J. Calcium pectinate gel beads for controlled release drug delivery: II. Effect of formulation and processing variables on drug release. *J. Microencapsul.*, v.16, p.303-313, 1999.

STUBBS, J. B.; VALENZUELA, G.A.; STUBBS, C.C.; CROFT, B.Y.; TEATES, C.D.; PLANKEY, M.W.; MACCALLUM, R.W. A noninvasive scintigraphic assessment of the colonic transit of nondigestible solids in man. *J. Nucl. Med.*, v.32, p.1375-1381, 1991.

TAKAYA, T.; MARIS, B.; DEN MOOTER, G. V.; SMEDT, S. C. D.; DEMEESTER, J. Importance of dissolution process on systemic availability of drugs delivered by colon delivery systems. *J. Control. Release*, v.50, p.111-122, 1998.

TAN, S.C.; KHOR, E.; TAN, T.K.; WONG, S. M. The degree of deacetylation of chitosan: advocating the first derivate UV-spectrophometry meted of determination. *Talanta*, v.45, p.713-719, 1998.

THAKUR, B.R.; SINGH, R.K.; HANDA, A.K. Chemistry and uses of pectin – a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nut.*, v.37, n.1, p.47-73, 1997.

THOMSON, A. B. R.; DROZDOWSKI, L.; IORDACHE, C.; THOMSON, B.K.A.; VERMEIRE, S.; CLANDININ, M.T.; WILD, G. Small bowel Review: normal physiology 2. *Dig. Dis. Sci.*, N.8, v.48, p.1565-1581, 2003.

TINGSTAD, J.E.; RIEGELMAN, S. Dissolution rate studies I: design and evaluation of a continous flow apparatus. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v.59, n.5, p.692-696, 1970.

TORRES, D.; GARCÍA-ENCINA, G.; SEIJO, B.; VILA JATO, J.L. Formulation and in vitro evaluation of HPMC-microencapsulation drug-resin complexes for sustained release of diclofenac. *Int. J. Pharm.*,v.121, p.239-243, 1995.

TOZAKI, H.; KOMOIKE, J.; TADA, C.; MARUYAMA, T.; TERABE, A.; SUZUKI, T.; YAMAMOTO, A.; MURANISHI,S. Chitosan capsules for colonic-specific drug delivery: improvement of insulin absorption from the rat colon. *J. Pharm. Sci.*, v.86, p.1016-1021, 1997.

The United State Pharmacopeial Convention. 25th ed. Rockville: United State Pharmacopeial Convention, 2001.

URQUHART, J. Controlled drug delivery: therapeutic and pharmacological aspects. *J. Intern. Med.*, v.248, p.357-376, 2000.

USP DI. *Drug Information for the health Care Professional*. 19th. ed. Rockeville: Micromedex, 1999, v.1, p.999.

WAGNER, J.G. Biopharmaceutics and Relevant Pharmacokinetics. Hamilton: *Drug Intelligence publications*, 1971, p.371.

WEIß, G.; KNOCH, A.; STANISLAUS, F.; DANIELS, R. Simple coacervation of hydroxypropyl methylcellulose phthalate (HPMCP). I. Temperature and pH dependency of coacervation formation. *Int. J. Pharm.*, v.124, p.87-96, 1995.

WIKBERG, M.; ULMIUS, J.; RAGNARSSON, G. Review article: targeted drug delivery in treatment of intestinal diseases. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, v.11, p.109-115, 1997.

WYATT, D.M. Cellulose esters as direct compression matrices. *Manuf. Chem.*, n.12, v.62, p.20-23, 1991.

YANG, L.; CHU, J.-S.; FIX, J. A. Colon-specific drug delivery: new approaches and in vitro/in vivo evaluation. *Int. J. Pharm.*, v.235, p.1-15, 2002.

ZAHIRUL, M.; KHAN, I. Dissolution testing for sustained or controlled releases oral dosage forms and correlation with in vivo data: challenges and opportunities. *Int. J. Pharm.*, v.140, p.131-143, 1996.

ZANIBONI, H.C. Preparation and characterization of enteric multiparticulate floating and non-floating beads. Tese de doutorado. Manchester. UK 1995.

ZHANG, H.; NEAU, S. H. In vitro degradation of chitosan by bacterial enzymes from rat cecal and colonic contents. *Biomaterials*, v.23, p.2761-2766, 2002.

ZHAO, L.; MITOMO, H.; NAGASAWA, N.; YOSHI, F.; KUME, T. Radiation synthesis and characteristic of the hydrogels based on carboxymethylated chitin derivatives. *Carbohydrate Polym.*, v.51, p.169-175, 2003.