

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Campus de Araraquara**



**DESENVOLVIMENTO DE DISPERSÕES  
SÓLIDAS PARA LIBERAÇÃO  
COLÔNICA DE METRONIDAZOL**

**PRISCILEILA COLERATO FERRARI**

**ARARAQUARA  
2008**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

## PRISCILEILA COLERATO FERRARI

### “DESENVOLVIMENTO DE DISPERSÕES SÓLIDAS PARA LIBERAÇÃO COLÔNICA DE METRONIDAZOL”

---

A Comissão Julgadora dos trabalhos de defesa da Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 23/01/2008, consideraram a candidata ***Priscileila Colerato Ferrari***:

( ) REPROVADA

( X ) APROVADA

1) Examinadora (*Profa. Dra. Ana Dóris de Castro*)

\_\_\_\_\_

2) Examinador (*Prof. Dr. Osvaldo de Freitas*)

\_\_\_\_\_

3) Presidente (*Prof. Dr. Raul Cesar Evangelista*)

\_\_\_\_\_

**“É enfrentando as dificuldades que você fica forte.**

**É superando seus limites que você cresce.**

**É resolvendo problemas que você desenvolve a maturidade.**

**É desafiando o perigo que você descobre a coragem.**

**Arrisque e descobrirá como as pessoas crescem**

**quando exigem mais de si próprias.”**

Roberto Shinyashiki

***Dedico este trabalho à minha mãe, Suely e à minha irmã Veridiana, pelo apoio, incentivo e compreensão. Muito obrigada. Amo vocês.***

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

Primeiramente a DEUS por estar sempre presente na minha vida me protegendo e trazendo a mim pessoas fundamentais para o meu crescimento e minha felicidade.

A minha família, pela força, incentivo e companheirismo que sempre obtive.

Em especial, meu agradecimento de coração, ao Prof. Dr Raul Cesar Evangelista pela orientação, dedicação, estímulo, confiança e amizade sempre presente em todos os dias da nossa convivência.

À minhas grandes amigas Danila, Layane e Priscila, pela amizade, força, incentivo, auxílio nos momentos de dificuldade, sempre me apoiando e me ouvindo...

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Anselmo Gomes de Oliveira pela amizade, apoio, auxílio e confiança nos momentos de dificuldade.

À Profa. Dra. Maria Palmira Daflon Gremião pelas contribuições prestadas no exame geral de qualificação, e pelo apoio e amizade sempre.

Ao Prof. Dr. Marco Vinícius Chaud pelas contribuições prestadas no exame geral de qualificação.

À Profa. Dra. Ana Dóris de Castro pela amizade, confiança e sugestões dadas ao aperfeiçoamento do trabalho.

Ao Prof. Dr. Osvaldo de Freitas pelas contribuições prestadas para o aperfeiçoamento do trabalho.

À Profa. Dra. Hérica Regina Nunes Salgado e à Profa. Dra. Maria Virgínia Scarpa pelo auxílio e colaboração quanto ao uso do Laboratório de Controle de Qualidade.

Ao Prof. Dr. João Aristeu da Rosa pelo auxílio e colaboração com o uso dos equipamentos de seu laboratório.

## *Agradecimentos*

---

Ao funcionário Osmar, professores e alunos do Laboratório de Química Farmacêutica pelo auxílio na utilização de equipamentos.

Ao amigo Arnóbio Antônio da Silva Júnior pela amizade, colaboração e atenção dedicadas a mim, mesmo nos momentos mais corridos, auxiliando sempre.

Ao amigo Fabrício Cordeiro de Mattos pela amizade e ajuda em todos os momentos.

Aos amigos do laboratório, em especial a Ana Luiza, Beatriz, Cristina Franzini, Cristina Terruggi, Dani, Flávia Chiva, Flávio, Giselle, Gustavo, Joceana, Kelly, Suzana e Thalita pela amizade, compreensão e colaboração em tudo que sempre foi preciso.

Às amigas de outros laboratórios, Grace Pelissari, Juliane Farinelli, Michele Caiado e Renata Tomé.

Às funcionárias Fátima, Margareth e Zenaide pela amizade e auxílio.

Aos funcionários da Biblioteca e da Faculdade de Ciências Farmacêuticas pelo apoio.

A secretaria de pós-graduação em especial a Cláudia, Laura e Sônia.

## RESUMO

Os sistemas de liberação colônica de fármacos têm sido amplamente estudados, a fim de se obter medicamentos que possam atuar de maneira mais específica no colón para o tratamento de doenças que acometem essa região do intestino. Com essa finalidade, em trabalhos anteriores do nosso grupo de pesquisa foram preparados sistemas multiparticulados constituídos de quitosana, pectina e alginato. Estudos subseqüentes incluíram polímeros gastrorresistentes, como acetoftalato de celulose e ftalato de hidroxipropilmetilcelulose, a fim de se evitar uma liberação gástrica prematura do fármaco a partir desses sistemas. No presente trabalho foram preparadas dispersões sólidas de metronidazol, constituídas de quitosana e polímeros gastrorresistentes. A utilização da quitosana se deve à presença de enzimas colônicas que a degradam, e os polímeros derivados de celulose são utilizados devido à sua insolubilidade nos meios com baixos valores de pH. Esses sistemas foram preparados por evaporação do solvente, analisados por espectrofotometria no UV e IV, caracterizados morfológicamente e granulometricamente com a utilização de estereoscópio, sendo que mais de 50% das partículas apresentaram-se na faixa de distribuição de tamanho entre 0,003 e 0,06 mm, indicando que a dissolução poderá ser facilitada devido ao aumento considerável da área superficial disponível. Também foram analisados quanto à capacidade de intumescimento, demonstrando que a presença de CAP e QS interfere nas propriedades de intumescimento das dispersões sólidas. As dispersões sólidas foram analisadas *in vitro* quanto à sua capacidade de atingir a região colônica. Primeiramente, foi observado que durante 2h de experimento 60% de fármaco livre foram dissolvidos em meio gástrico simulado. Isso se deve à baixa solubilidade do metronidazol e à necessidade de um tempo maior de ensaio. Das dispersões sólidas, durante o mesmo período de tempo, 25 a 45% de fármaco foram liberados das amostras no meio gástrico simulado. Esses resultados dão indício da gastrorresistência obtida pela utilização dos polímeros entéricos no desenvolvimento das dispersões sólidas. No ensaio de liberação no meio entérico simulado, acima de 70% do fármaco foi liberado das dispersões sólidas durante 4h de experimento. No ensaio de liberação no meio colônico simulado, a maioria das

amostras apresentou taxa de liberação do fármaco acima de 90%, exceto aquelas que continham MT a 1%, na qual houve 65% de fármaco liberado em 10h de experimento. Esses resultados indicam que a concentração do fármaco presente na dispersão sólida influencia a sua liberação, tornando-a, assim, mais prolongada. A cinética de liberação do fármaco foi estudada por dois modelos matemáticos, o de Korsmeyer-Peppas e o de Weibull. Esses modelos foram escolhidos baseados no coeficiente de correlação ajustado, obtido através da plotagem de suas respectivas equações e análise de seus parâmetros. Assim, foi possível concluir que a liberação do fármaco das dispersões sólidas se deve a um mecanismo complexo de liberação, no qual estão envolvidos vários processos, como difusão, intumescimento e erosão, que podem ocorrer simultaneamente.

## **ABSTRACT**

Colonic drug delivery systems have been widely studied, purposing to obtain dosage forms able to act more specifically at the colon in order to treat typical diseases of this intestinal region. According to this goal, in previous works of our research group, multiparticulate systems constituted by chitosan, pectin and alginate were prepared and characterized. Subsequent studies included enteric polymers, such as cellulose acetate phtalate (CAP) and hydroxypropylmethylcellulose phtalate (HPMCP), aiming to avoid the premature gastric release of the drug from these systems. In the present work, solid dispersions containing metronidazol (MT) and based on chitosan (CS) and the referred enteric polymers were prepared. The use of CS is due to the presence of colonic enzymes that specifically degrade it and the enteric polymers were used due to their insolubility in environments with low pH values. These systems were prepared by solvent evaporation, analyzed by UV and IR spectrophotometries and morphologically and granulometrically characterized by means of a stereoscope. By this latest assay, more than 50% of the particles showed a size distribution range from 0.003 to 0.06 mm, indicating that a further dissolution can be facilitated due to the considerable increasing of the superficial area available to solvation. The systems were also characterized in respect to the swelling capacity, demonstrating that the presence of CAP and CS influence the swelling properties of the solid dispersions. The ability of the solid dispersions to reach the colonic region was also assessed *in vitro*. At first, it was observed that 60% of the drug was released into simulated gastric fluid during the first 2h of assay. This is explained by the low solubility of MT. From the solid dispersions, during the same time period, 25% to 45% of the drug was released into this medium. These results indicate the effective gastric resistance resulted from the use of enteric polymers. In simulated enteric fluid more than 70% of the drug was released from the solid dispersions during 4h of assay. In simulated colonic medium, the majority of the samples presented drug release rate higher than 90%, except for those containing 1% of MT, in which only 65% of the drug was released after 10h of assay. Such results indicate that the amount of drug incorporated into the solid dispersions prolong its release. Two mathematical models, namely Korsmeyer-Peppas and Weibull, were applied to

analyze the drug release kinetics. These models were chosen based on the adjusted correlation coefficients obtained by plotting the respective equations and parameters analyzed. Thus, it was possible to conclude that the drug release from the solid dispersions follows a complex release mechanism, in which several processes including diffusion, swelling, and erosion are involved and may occur simultaneously.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas  
Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos

**DESENVOLVIMENTO DE DISPERSÕES SÓLIDAS  
PARA LIBERAÇÃO COLÔNICA DE  
METRONIDAZOL**

**Priscileila Colerato Ferrari**

**Orientador: Prof. Dr. Raul Cesar Evangelista**

**Araraquara – SP  
2008**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas  
Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos

**DESENVOLVIMENTO DE DISPERSÕES SÓLIDAS PARA  
LIBERAÇÃO COLÔNICA DE METRONIDAZOL**

**Priscileila Colerato Ferrari**

Dissertação apresentada ao programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

**Orientador:** Prof. Dr. Raul Cesar Evangelista

**Araraquara – SP  
2008**

### **Ficha Catalográfica**

Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

**Faculdade de Ciências Farmacêuticas**

**UNESP – Campus de Araraquara**

#### **Ferrari, Priscileila Colerato**

F375d      Desenvolvimento de dispersões sólidas para liberação colônica de metronidazol. / Priscileila Colerato Ferrari. – Araraquara, 2008.  
96 f.

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

Orientador: Raul César Evangelista

1.Dispersões sólidas. 2.Liberação colônica de fármacos.  
3.Metronidazol. I.Evangelista, Raul Cesar, orient. II. Título.

**CDD: 615.4**

CAPES: 40300005

## SUMÁRIO

Abreviaturas	
Lista de Tabelas	
Lista de Figuras	
INTRODUÇÃO .....	1
OBJETIVOS .....	5
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	6
MATERIAIS .....	22
METODOLOGIA.....	23
1. CARACTERIZAÇÃO DOS POLÍMEROS .....	23
1.1. Purificação da quitosana .....	23
1.2. Determinação do grau de desacetilação da quitosana.....	23
2. CARACTERIZAÇÃO DO FÁRMACO-MODELO METRONIDAZOL (MT).....	24
2.1 Determinação do pico de absorção máxima do fármaco na região do ultravioleta (UV).....	24
2.2 Curva analítica para quantificação do fármaco por espectroscopia na região do UV .....	24
2.3 Solubilidade.....	25
2.4 Espectro do fármaco na região do infravermelho.....	25
3. PREPARAÇÃO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS .....	25
3.1. Preparação das dispersões sólidas contendo MT.....	25
4. ANÁLISES DAS DISPERSÕES SÓLIDAS.....	27
4.1 <i>Análise granulométrica</i> .....	27
4.2 Análise do Intumescimento .....	27
4.3 Análise da interação dos constituintes por espectroscopia no infravermelho.....	28
5. CARACTERIZAÇÃO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS .....	28
5.1 Validação da metodologia empregada para a determinação do Teor e Eficiência de incorporação por espectroscopia na região do ultravioleta. 28	
5.1.1 Especificidade .....	29
5.1.2 Linearidade.....	29
5.1.3 Precisão.....	29
5.1.4 Recuperação .....	30

5.1.5 Limite de Detecção e Limite de Quantificação .....	31
5.2 Determinação do Teor e Eficiência de incorporação .....	33
6. ENSAIO DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> DO FÁRMACO.....	32
6.1 Ensaio de liberação do fármaco em meio ácido simulado .....	32
6.2 Ensaio de liberação do fármaco em meio entérico simulado .....	33
6.3 Ensaio de liberação do fármaco em meio colônico simulado.....	33
6.4 Análise dos mecanismos de liberação <i>in vitro</i> do fármaco.....	34
RESULTADOS .....	35
1. CARACTERIZAÇÃO DOS POLÍMEROS .....	35
1.1 Purificação da quitosana.....	35
1.2. Determinação do grau de desacetilação da quitosana.....	35
2. CARACTERIZAÇÃO DO FÁRMACO-MODELO METRONIDAZOL (MT).....	39
2.1 Determinação dos picos de absorção máxima do fármaco na <i>região do ultravioleta (UV)</i> .....	39
2.2 Curva analítica para quantificação do fármaco por espectroscopia na região do UV .....	40
2.3 Solubilidade.....	45
2.4 Análise do MT na região do Infravermelho.....	46
3. PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS .....	47
3.1. Preparação das dispersões sólidas contendo MT.....	47
4. ANÁLISES DAS DISPERSÕES SÓLIDAS.....	48
4.1 Análise granulométrica .....	48
4.2 Análise do Intumescimento .....	53
4.3 Análise da interação dos constituintes por espectroscopia no infravermelho.....	59
5. CARACTERIZAÇÃO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS .....	65
5.1 <i>Validação da metodologia analítica empregada para determinação do teor e eficiência de incorporação de MT por espectroscopia na região do UV</i> .....	65
5.1.1 Especificidade .....	65
5.1.2 Linearidade.....	66
5.1.3 Precisão .....	67
5.1.4 Recuperação .....	67
5.1.5 Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) .....	68

5.2 Determinação do teor e eficiência de incorporação .....	68
6. ENSAIO DE LIBERAÇÃO IN VITRO DO FÁRMACO.....	69
6.1 Ensaio de liberação do fármaco em meio gástrico simulado.....	69
6.2 Ensaio de liberação do fármaco em meio entérico simulado .....	73
6.3 Ensaio de liberação do fármaco em meio colônico simulado.....	76
6.4 Análise dos mecanismos de liberação <i>in vitro</i> do fármaco .....	79
CONCLUSÃO.....	86
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	88

## **ABREVIATURAS**

CAP – Acetofalato de Celulose

CV – Coeficiente de Variação

DP – Desvio Padrão

DS – Dispersões Sólidas

FD – Fator de Diluição

GD – Grau de Desacetilação

HPMCP – Ftalato de Hidroxipropilmetil Celulose

IV - Infravermelho

LD – Limite de Detecção

LQ – Limite de Quantificação

MF – Mistura Física

MT - Metronidazol

NAG – N- Acetil-glicosamina

QN - Quitina

QS - Quitosana

TGI – Trato Gastrintestinal

UV - Ultravioleta

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição das amostras de dispersões sólidas.....	26
Tabela 2. Rendimento do processo de purificação de QS .....	35
Tabela 3. Análise espectrofométrica de MT em água destilada na região do UV .....	41
Tabela 4: Análise espectrofotométrica de MT em HCl 0,1N pH1,2 na região do UV .....	42
Tabela 5: Análise espectrofotométrica de MT em tampão fosfato 50mM pH 7,4 na região do UV.....	44
Tabela 6: Concentrações obtidas a partir das absorvâncias no UV.....	45
Tabela 7: Solubilidade do MT nos diferentes meios.....	45
Tabela 8: Composição e rendimento das dispersões sólidas .....	48
Tabela 9: Coeficiente de variação das amostras empregadas no teste de precisão .....	67
Tabela 10: Percentual de recuperação de MT das dispersões sólidas .....	67
Tabela 11: Limites de detecção e quantificação de MT em 320nm.....	68
Tabela 12: Teor e eficiência de incorporação.....	69
Tabela 13: Parâmetros da equação de Peppas para os dados de liberação <i>in vitro</i> do MT em meio gástrico simulado.....	81
Tabela 14: Parâmetros da equação de Peppas para os dados de liberação <i>in vitro</i> do MT em meio entérico simulado .....	81
Tabela 15: Parâmetros da equação de Peppas para os dados de liberação <i>in vitro</i> do MT em meio colônico simulado.....	82
Tabela 16: Interpretação dos mecanismos de liberação de fármacos .....	83
Tabela 17: Parâmetros da equação de Weibull para os dados de liberação <i>in vitro</i> do MT nos meios entérico e colônico simulados.....	85

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química do Metronidazol.....	3
Figura 2: Trato Gastrintestinal .....	12
Figura 3: Estrutura da Quitosana .....	18
Figura 4: Estrutura do Ftalato de Hidroxipropilmetil Celulose.....	20
Figura 5: Estrutura do Acetofalato de Celulose.....	21
Figura 6: Dispositivo de Enslin para determinação do intumescimento .....	27
Figura 7: Primeira derivada do espectro de soluções de ácido acético (0,01; 0,02; 0,03 mol/L) e soluções de QS (100 µg/mL) em ácido acético 0,01 mol/L na região do UV .....	37
Figura 8: Primeira derivada do espectro de soluções de NAG (5,0; 10,0; 20,0; 30,0 40,0 µg/mL) em relação ao ponto isobéptico obtido pela convergência de ácido acético 0,01; 0,02 e 0,03 mol/L ..	37
Figura 9: Curva analítica de NAG em ácido acético 0,01 mol/L .....	38
Figura 10: Espectro de MT em tampão fosfato na região do ultravioleta. ....	39
Figura 11: Espectro de MT em HCl na região do ultravioleta.....	39
Figura 12: Espectro de MT em água destilada na região do ultravioleta.....	40
Figura 13: Curva Analítica de MT em água destilada.....	41
Figura 14: Curva Analítica de MT em HCl 0,1N pH 1,2.....	43
Figura 15: Curva Analítica de MT em tampão fosfato 50 mM pH 7,4.....	44
Figura 16: Espectro do MT na região do infravermelho. ....	46
Figura 17: Distribuição do tamanho das partículas da amostra QS.CAP.HPMCP0,5 .....	49
Figura 18: Distribuição do tamanho de partícula da amostra QS.HPMCP0,5.MT0,5. ....	50
Figura 19: Distribuição do tamanho de partícula da amostra QS.CAP.MT0,5 .....	50
Figura 20: Distribuição do tamanho de partícula da amostra QS.CAP.HPMCP0,5MT0,5.....	51
Figura 21: Distribuição do tamanho de partícula da amostra QS.CAP.HPMCP1.MT0,5.....	51
Figura 22: Distribuição do tamanho de partícula da amostra QS.CAP.HPMCP0,5.MT1 .....	52

Figura 23: Distribuição do tamanho de partícula da amostra QS.CAP.HPMCP1.MT1 .....	52
Figura 24: Perfil de intumescimento em meio gástrico simulado.....	54
Figura 25: Perfil de intumescimento em meio entérico simulado .....	55
Figura 26: Perfil de intumescimento das formulações contendo QS em meio gástrico simulado.....	56
Figura 27: Perfil de intumescimento das formulações contendo QS em meio entérico simulado.....	56
Figura 28: Perfil de intumescimento das formulações contendo CAP em meio gástrico simulado.....	57
Figura 29: Perfil de intumescimento das formulações contendo CAP em meio entérico simulado .....	57
Figura 30: Perfil de intumescimento das formulações contendo HPMCP em meio gástrico simulado.....	58
Figura 31: Perfil de intumescimento das formulações contendo HPMCP em meio entérico simulado.....	58
Figura 32: Perfil de intumescimento das Dispersões Sólidas em meio gástrico simulado .....	59
Figura 33: Perfil de intumescimento das Dispersões Sólidas em meio entérico simulado .....	59
Figura 34: Espectro de QS na região do infravermelho .....	60
Figura 35: Espectro de QS.MT na região do infravermelho .....	60
Figura 36: Espectro de CAP na região do infravermelho. ....	61
Figura 37: Espectro de MF de CAP.MT na região do infravermelho .....	61
Figura 38: Espectro de HPMCP na região do infravermelho .....	62
Figura 39: Espectro de MF de HPMCP.MT na região do infravermelho .....	62
Figura 40: Espectro de QS.HPMCP0,5.MT0,5 na região do infravermelho ....	63
Figura 41: Espectro de QS.CAP.MT0,5 na região do infravermelho .....	63
Figura 42: Espectro de QS.CAP.HPMCP0,5.MT0,5 na região do infravermelho .....	64
Figura 43: Espectro de QS.CAP.HPMCP1.MT0,5 na região do infravermelho	64
Figura 44: Espectro de QS.CAP.HPMCP0,5MT1 na região do infravermelho	64
Figura 45: Espectro de QS.CAP.HPMCP1MT1 na região do infravermelho ...	65

Figura 46: Especificidade do método de análise no espectro de absorção na região do UV.....	66
Figura 47: Dissolução de MT em meio gástrico simulado .....	70
Figura 48: Liberação de QS.CAP.MT0,5 em meio gástrico simulado .....	70
Figura 49: Liberação de QS.HPMCP0,5.MT0,5 em meio gástrico simulado....	70
Figura 50: Liberação de QS.CAP.HPMCP0,5.MT0,5 em meio gástrico simulado.....	71
Figura 51: Liberação de QS.CAP.HPMCP1.MT0,5 em meio gástrico simulado	71
Figura 52: Liberação de QS.CAP.HPMCP0,5.MT1 em meio gástrico simulado	71
Figura 53: Liberação de QS.CAP.HPMCP1.MT1 em meio gástrico simulado.	71
Figura 54: Perfil de liberação das dispersões sólidas em meio gástrico simulado.....	72
Figura 55: Dissolução de MT em meio entérico simulado.....	73
Figura 56: Liberação de QS.CAP.MT0,5 em meio entérico simulado .....	74
Figura 57: Liberação de QS.HPMCP0,5.MT0,5 em meio entérico simulado....	74
Figura 58: Liberação de QS.CAP.HPMCP0,5.MT0,5 em meio entérico simulado .....	74
Figura 59: Liberação de QS.CAP.HPMCP1.MT0,5 em meio entérico simulado	74
Figura 60: Liberação de QS.CAP.HPMCP0,5.MT1 em meio entérico simulado	75
Figura 61: Liberação de QS.CAP.HPMCP1.MT1 em meio entérico simulado .	75
Figura 62: Dissolução de MT em meio colônico simulado .....	76
Figura 63: Liberação de QS.CAP.MT0,5 em meio colônico simulado.....	77
Figura 64: Liberação de QS.HPMCP0,5.MT0,5 em meio colônico simulado ...	77
Figura 65: Liberação de QS.CAP.HPMCP0,5.MT0,5 em meio colônico simulado .....	77
Figura 66: Liberação de QS.CAP.HPMCP1.MT0,5 em meio colônico simulado .....	77
Figura 67: Liberação de QS.CAP.HPMCP0,5.MT1 em meio colônico simulado .....	78
Figura 68: Liberação de QS.CAP.HPMCP1.MT1 em meio colônico simulado.	78

## INTRODUÇÃO

Problemas relacionados com a administração sistêmica de fármacos, como biodistribuição, dificuldade de vetorização, necessidade de altas doses para obtenção de níveis adequados do fármaco em locais específicos, toxicidade e efeitos colaterais indesejáveis, têm levado ao desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de fármacos, capazes de direcioná-los para sítios específicos no organismo. Entre os órgãos-alvo utilizáveis para a vetorização de fármacos encontra-se o cólon (ASHFORD; FELL, 1994; RUBINSTEIN, 1995; LUCINDA-SILVA; EVANGELISTA, 2001, 2002a).

Os sistemas para liberação colônica de fármacos têm sido foco de muito interesse nestas últimas décadas, devido à importância recentemente reconhecida desta região no TGI, não somente para terapia local, mas também sistêmica (ASHFORD; FELL, 1994; LEOPOLD, 1999; KO et al., 2002; CHOURASIA; JAIN, 2003). A distribuição específica de fármacos para o cólon é considerada uma importante alternativa para o tratamento de doenças inflamatórias, como a doença de Crohn e a colite ulcerativa, doenças infecciosas, como colites espasmódicas, amebiana, bacteriana e viral, e carcinomas (CHANDY; SHARMA, 1993; KENYON et al., 1997; WIKBERG; ULMIUS; RAGNARSSON, 1997; FRIEND, 1998; LUCINDA-SILVA; EVANGELISTA, 2001, 2002a). Por outro lado, a absorção sistêmica específica na região colônica oferece interessantes possibilidades para o tratamento de doenças susceptíveis ao ritmo diurno, tais como asma, artrite ou inflamação (BERTHOLD; CREMER; KREUTER, 1996; CUI; MUMPER, 2001). O cólon tem sido descrito também como um sítio ideal para absorção de proteínas e peptídeos com potencial terapêutico, pois apresenta baixa atividade de enzimas proteolíticas (LUCINDA-SILVA; EVANGELISTA, 2001, 2002a; YANG; CHU; FIX, 2002).

Do ponto de vista do desenvolvimento farmacotécnico de formulações para liberação colônica de fármacos, estratégias baseadas na pressão causada pelas ondas peristálticas no cólon distal, no tempo de trânsito do medicamento e nas variações de pH ao longo do TGI não são totalmente adequadas, pois estão sujeitas a muitas variações interindividuais. A estratégia baseada na

degradação específica do excipiente por enzimas bacterianas no cólon mostra-se mais racional e seletiva (FALLINGBORG; CHRISTENSEN; ASCANIUS, 1993; McDOUGAL et al., 1993; LEOPOLD, 1999; LUCINDA-SILVA; EVANGELISTA, 2001, 2002a; CHOURASIA; JAIN, 2003). Alguns polissacarídeos, destacando-se a quitosana (QS) e a pectina, vêm sendo investigados como carreadores para liberação colônica de fármacos, pois, além de serem biocompatíveis e biodegradáveis, são degradados especificamente pela flora colônica humana (FELT; BURI; GURNY, 1998; FERNÁNDEZ-HERVÁS; FELL, 1998; LORENZO-LAMOSA et al., 1998; SEMDÉ et al., 2000; SINHA; KUMRIA, 2001; KO et al., 2002; LUCINDA-SILVA; EVANGELISTA, 2002b; PAN et al., 2002; AGNIHOTRI; MALLIKARJUNA; AMINABHAVI, 2004).

Em trabalhos desenvolvidos em nosso laboratório (LUCINDA, 1999; LUCINDA-SILVA; EVANGELISTA, 2002a; LUCINDA-SILVA 2003), foram obtidas, por coacervação complexa, micropartículas de quitosana (QS) e alginato (AL) ou pectina (PC), reticuladas ou não com glutaraldeído. Embora as partículas conseguissem atingir o cólon, conforme verificado em testes *in vivo* em ratos (LUCINDA-SILVA, 2003), grande parte do fármaco incorporado, a isoniazida, foi liberada prematuramente, *in vitro*, nos meios entérico e gástrico simulados, pelo fato de que sofriam intumescimento nesses meios. Outros resultados parciais promissores indicam que a adição de polímeros gastrorresistentes, como o acetofalato de celulose (CAP) e o acetato de hidroxipropilmetilcelulose (HPMCP) são capazes de diminuir consideravelmente o intumescimento e, conseqüentemente, a liberação prematura do fármaco em meio gástrico.

A adição de polímeros gastrorresistentes, como acetofalato de celulose (CAP) e o ftalato de hidroxipropilmetilcelulose (HPMCP), pode proporcionar a diminuição considerável do intumescimento de partículas no meio gástrico simulado, evitando, conseqüentemente, a liberação prematura do fármaco (LUCINDA, 1999; LUCINDA-SILVA, EVANGELISTA, 2002 a).

Dispersões sólidas são dispersões ultrafinas de um fármaco sólido num excipiente sólido (KREUTER, 1999). Como na dispersão sólida as partículas do fármaco se encontram em dimensões extremamente reduzidas (podendo chegar ao nível atômico ou molecular) e altamente dispersas no excipiente, a

área superficial disponível para dissolução torna-se muito maior (LEUNER; DRESSMAN, 2000). Portanto, representam uma ferramenta farmacotécnica eficiente para melhorar significativamente a biodisponibilidade de fármacos fracamente solúveis. Outra vantagem das dispersões sólidas sobre outros processos de melhoria de solubilidade é que a velocidade de liberação obtida é muito maior. Isso pode levar a um aumento tão grande na biodisponibilidade que a dose a ser administrada pode ser reduzida, diminuindo, conseqüentemente, os efeitos colaterais adversos (LEUNER; DRESSMAN, 2000).

O metronidazol, 1-(b-hidroxietil)-2-metil-5-nitroimidazol (MT, Figura 1) é um fármaco bactericida para microrganismos anaeróbios e microaerófilos. Além disso, durante muito tempo foi o fármaco de escolha para o tratamento da tricomoníase e para o tratamento da amebíase sintomática. Também é considerado tratamento alternativo para giardíase e infecções causadas por *Entamoeba polecki*. Vem sendo usado para o tratamento de colite pseudomembranosa e no tratamento da doença de Crohn. Observa-se, no entanto, que como o MT é bem absorvido por via oral, as concentrações no intestino inferior (íleo-distal) algumas vezes não são altas o suficiente para erradicar as amebas (NICHOLS, 2004).

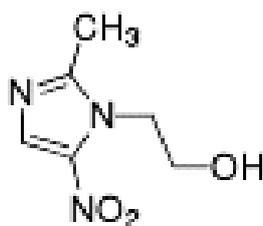


Figura 1: Estrutura química do Metronidazol

Assim sendo, torna-se interessante desenvolver formulações para liberação controlada do MT, capazes de veicular o fármaco até o cólon, e aí, baseado na degradação enzimática específica do excipiente da forma farmacêutica, permitir a liberação efetiva do fármaco, já que este estará em dimensões praticamente moleculares, como soluto de uma dispersão sólida. Assim, a concentração de MT que alcançaria o cólon poderia ser suficiente para agir mais efetivamente contra doenças típicas do cólon para o qual é

geralmente prescrito, como amebíases, giardíases, colites e doença de Crohn, e, portanto, uma menor dose seria provavelmente suficiente para o efeito terapêutico, diminuindo a ocorrência de efeitos colaterais.

## OBJETIVOS

### Objetivo Geral

O objetivo do presente trabalho é o desenvolvimento de dispersões sólidas constituídas de QS, contendo polímeros gastrorresistentes, HPMCP e/ou CAP e, como fármaco modelo, o MT, visando obter sistemas que possam atravessar inalterados o meio gástrico e entérico para liberar o fármaco na região colônica, em condições de se dissolver mais facilmente.

### Objetivos Específicos

- Preparação das dispersões sólidas contendo QS, HPMCP e/ou CAP e MT pelo método de evaporação de solvente;
- Caracterização morfológica e granulométrica das partículas;
- Análise espectrofotométrica dos sistemas formados;
- Avaliação da capacidade de intumescimento dos sistemas obtidos em meios com diferentes valores de pH;
- Determinação do teor e eficiência de incorporação dos sistemas obtidos;
- Determinação do perfil de liberação do fármaco *in vitro*, utilizando meios de dissolução que simulem o trânsito gastrintestinal.
- Análise dos mecanismos que regem a liberação *in vitro* do fármaco

## **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **BIODISPONIBILIDADE DE FÁRMACOS**

Solubilidade e biodisponibilidade de fármacos são fatores inter-relacionados e freqüentemente constituem uma barreira no desenvolvimento de formas farmacêuticas. Nos regimes terapêuticos convencionais, muitas vezes, uma grande quantidade de fármaco é administrada e uma grande fração é excretada sem exercer nenhuma atividade. Alternativas eficientes que tornem os fármacos mais disponíveis para determinado sítio de absorção, com taxas de dissolução mais adequadas, têm sido amplamente descritas na literatura e visam direcionar os fármacos para sítios específicos do organismo, aumentar sua solubilidade em sistemas aquosos, promover sua liberação controlada e aumentar o efeito terapêutico (LIMA, 2006)

A biodisponibilidade de fármacos administrados por via oral é afetada por uma variedade de fatores que influenciam sua absorção no trato gastrointestinal. A absorção de vários fármacos administrados por esta via pode ser influenciada por suas propriedades de solubilidade e permeabilidade. A solubilidade, por exemplo, pode ser modificada pela complexação do fármaco com alguns excipientes inertes e, através desse processo, a biodisponibilidade oral de fármacos com baixa solubilidade aquosa pode ser consideravelmente aumentada (DANIEL-MWAMBETE et al., 2004). Junto com a permeabilidade, a solubilidade do fármaco é um fator determinante na sua biodisponibilidade oral. É grande o número de fármacos pouco solúveis em água. Assim, estratégias para aumentar a solubilidade de fármacos pouco solúveis a fim de aumentar sua biodisponibilidade é de grande interesse para a indústria farmacêutica e tem sido objeto de vários estudos. Contudo, este fator permanece como um dos principais desafios tecnológicos nessa área. As principais limitações estão relacionadas à coesão das partículas, molhabilidade, estabilidade e transposição de escala de produção, entre outras (EMARA; BADR; ELBARY, 2002; SETHIA; SQUILLANTE, 2003).

Entre as estratégias atualmente utilizadas para superar estas limitações destacam-se as dispersões sólidas de fármacos com carreadores hidrossolúveis ou hidrodispersíveis. As dispersões sólidas podem ser

empregadas para melhorar as características de dissolução de fármacos hidrofóbicos e, assim, sua biodisponibilidade. A distribuição do fármaco no carreador, juntamente com o aumento da molhabilidade promovida pelo carreador, pode aumentar a solubilidade e a taxa de dissolução. Durante os últimos 40 anos, mais de 700 trabalhos foram publicados sobre os estudos relacionados com o uso e características farmacêuticas das dispersões sólidas (SIX et al., 2005). A partir desses resultados, várias estratégias utilizando a micro/nanotecnologia têm sido exploradas, incluindo as dispersões sólidas (ROUCHOTAS; CASSIDY; ROWLEY, 2000; EMARA; BADR; ELBARY, 2002; VERMA et al., 2003; GOHEL; PATEL, 2003).

## **DISPERSÕES SÓLIDAS**

O termo dispersão sólida tem sido utilizado para descrever um tipo de tecnologia farmacêutica na qual o fármaco está disperso em uma matriz biologicamente inerte com o objetivo de melhorar a sua biodisponibilidade oral (SETHIA; SQUILLANTE, 2003).

As dispersões sólidas são caracterizadas pela mistura de um ou mais componentes farmacologicamente ativos em um carreador fisiologicamente compatível, com a finalidade de alterar as propriedades do estado sólido, aumentar a taxa de dissolução, promover a liberação sustentada, melhorar o coeficiente de solubilidade e a estabilidade de fármacos, podendo promover, também, dependendo do tipo de carreador, um sistema de liberação modificada (SETHIA; SQUILLANTE, 2003; WEUTS et al., 2005).

As dispersões sólidas têm sido classificadas basicamente em quatro categorias: a) misturas eutéticas simples; b) soluções sólidas; c) precipitação amorfa de fármacos em carreador cristalino e d) combinações entre estes grupos (SETHIA; SQUILLANTE, 2003).

A mistura eutética de um fármaco pouco solúvel em água e um carreador altamente hidrossolúvel pode ser considerada, termodinamicamente, uma mistura física entre dois ou mais componentes. Contudo, estes componentes devem ser capazes de cristalizarem-se em pequenas partículas. Neste caso, o aumento da área de superfície seria o mecanismo responsável

pelo aumento da taxa de dissolução do fármaco (SETHIA; SQUILLANTE, 2003).

A solução sólida consiste de um soluto sólido dissolvido em um solvente também no estado sólido. Se o carreador é cristalino, um cristal misto é formado porque os dois componentes cristalizam juntos (GOLDBERG; GIBALD; KANING, 1966; CHIOU; RIEGELMAN, 1971; PALMIERI et al., 2002; NARANG; SRIVASTA, 2002). Este sistema é caracterizado pela complexação de dois componentes em um sistema binário durante a preparação da dispersão sólida. A biodisponibilidade de fármacos em um complexo é dependente da solubilidade, da constante de dissociação e da taxa de solubilidade intrínseca do complexo (CHIOU; RIEGELMAN, 1971).

A precipitação amorfa ocorre quando o fármaco precipita na forma amorfa no carreador inerte. O estado alto de energia do fármaco neste sistema geralmente produz uma maior taxa de dissolução do que a forma cristalina correspondente. A conversão para a forma amorfa resultante da co-precipitação aumenta a sua taxa de dissolução (CHIOU; RIEGELMAN, 1971).

Quanto à preparação das dispersões sólidas, várias técnicas têm sido utilizadas.

Na preparação pelo método de fusão, o carreador é aquecido a uma temperatura ligeiramente superior a do seu ponto de fusão e o fármaco é incorporado ao carreador. A mistura é resfriada sob agitação constante, o que permite uma mistura homogênea do fármaco com o carreador. Este líquido é solidificado e, em seguida, pulverizado para se obter um pó com uma granulometria adequada (JAFARI; DANTI; AHMED, 1988; ALDEN; TEGENFELDT; SJOKVIST, 1992; 1993; SAERS; NYSTROM; ALDEN, 1993). Se o fármaco tem um alto grau de solubilidade no carreador, ele pode permanecer dissolvido no estado sólido, originando o que é conhecido como solução sólida. Sob estas condições, a redução no tamanho das partículas provê um nível máximo de dispersão molecular do fármaco no carreador. Se, por outro lado, a solubilidade do fármaco no estado sólido não é alta, os cristais do fármaco não se dispersam no carreador. Estes sistemas mostram, apenas, um aumento moderado na taxa de dissolução. Outro mecanismo seria o da formação de um pó amorfo na presença do carreador, o que acarretaria, também, diferentes taxas de dissolução e solubilidade (CHIOU; RIEGELMAN,

1969; KREUSCHENER; FROMMING; HOSEMAN, 1980). A estabilidade do fármaco pode ser afetada pela fusão e pela velocidade de resfriamento (CARCAMANO; GANA, 1974; CHIOU, 1977). Este método é útil, principalmente, para fármacos e carreadores que se misturam no estado líquido após a fusão de ambos. A obtenção da mistura é um processo relativamente simples e rápido. As desvantagens incluem sublimação, transformação polimórfica e degradação térmica de fármacos termossensíveis, as quais podem afetar as propriedades físico-químicas do fármaco, taxa de cristalização, tamanho do cristal e, inclusive, sua taxa de dissolução (GOLDBERG; GIBALDI; KANING, 1965; EL-BANNA; ABD-ELFATTAH; DAABIS, 1975; FORD; STEWART; RUBINSTEIN, 1979).

Outro método de preparação é por evaporação do solvente, no qual o carreador e o fármaco são dissolvidos num solvente, geralmente orgânico, o qual é evaporado a uma temperatura fixa e à pressão reduzida. Com a remoção do solvente ocorre uma supersaturação do meio seguida de precipitação simultânea dos constituintes. O solvente, aderido à superfície da partícula co-precipitada, é removido por secagem com auxílio de vácuo. Nestes casos, contudo, há a possibilidade de formação de solvatos, pelo fato do solvente não ser completamente removido (TACHIBANA; NAKAMURA, 1965; SEKIKAWA et al., 1983; BLOCH; ELEGAKEY; SPEISER, 1983). O método de evaporação do solvente é indicado para fármacos termolábeis, que poderiam se degradar na temperatura de fusão do carreador. A dificuldade deste método está em encontrar um solvente que dissolva tanto o fármaco como o carreador. Além disso, o uso de diferentes solventes pode induzir o aparecimento de diferentes polimorfos (SETHIA; SQUILLANTE, 2003).

O sistema de revestimento em leito fluidizado pode ser usado para nebulizar a solução fármaco-carreador sobre a superfície granular ou esférica de excipientes a fim de se obter grânulos para a preparação de comprimidos ou *pellets* revestidos para encapsulação (SETHIA; SQUILLANTE, 2003).

O método de preparação por fusão-extrusão é amplamente utilizado para sistemas que necessitem de controle de temperatura ou para sistemas semi-sólidos viscosos. Este método permite produção continuada, sendo muito utilizado na indústria farmacêutica para a preparação de *pellets* de liberação sustentada (SETHIA; SQUILLANTE, 2003).

O fluido supercrítico caracteriza-se como um sistema que acima de um determinado valor de temperatura, denominada temperatura crítica, e pressão, denominada pressão crítica, o equilíbrio líquido/vapor deixa de existir, surgindo uma fase fluida densa (SETHIA; SQUILLANTE, 2003). As propriedades dos fluidos supercríticos com maior importância são a densidade, a viscosidade e o coeficiente de difusão que tomam valores que se aproximam dos valores dos líquidos, no caso da densidade e valores próximos dos gases, no caso da viscosidade e do coeficiente de difusão. Estas propriedades, particularmente a densidade, podem ser alteradas com pequenas variações de pressão e/ou temperatura. Na zona próxima do ponto crítico é onde se produzem, com pequenas alterações de pressão e temperatura, as maiores variações da densidade do fluido supercrítico, e por consequência do seu poder solvente. O solvente mais utilizado é o dióxido de carbono isolado ou com a adição de pequenas quantidades de um solvente, designado como co-solvente. Os co-solventes mais utilizados são o hexano, o etanol, o metanol e a acetona (SETHIA; SQUILLANTE, 2003).

Muitos trabalhos relatam o grande interesse da área farmacêutica no uso de dispersões sólidas, já que o uso deste tipo de tecnologia farmacêutica tem mostrado ser de grande utilidade na melhora da taxa de dissolução e, portanto, na biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em água (CHIOU; RIEGELMAN, 1970; SERAJUDDIN ; SHEEN; AUGUSTINE, 1990; MARIN; MARGARIT; SALCEDO, 2002; SETHIA; SQUILLANTE, 2003; TRAPANI et al., 2004). Contudo, a dissolução do fármaco contido em uma dispersão sólida é influenciada por vários fatores, como o método empregado para prepará-la, proporção e características do carreador usado, pH do meio de dissolução, temperatura e características da superfície das partículas resultantes da dispersão sólida (OZKAN et al., 2000).

## **INTESTINO GROSSO**

O intestino grosso curva-se em torno do intestino delgado e mede cerca de 1,5m (o intestino delgado mede cerca de 6,0m). Apresenta pequena área superficial de mucosa, quando comparado com o intestino delgado. Todas as três funções do cólon – reabsorção de água, fermentação de carboidratos residuais e estocagem e propulsão do material fecal em sua porção distal – são lentas, pois dependem do contato do conteúdo luminal com a mucosa. A motilidade do cólon é diferente da motilidade do estômago e do intestino delgado (RUBINSTEIN, 1995).

O trato gastrintestinal (TGI) humano consiste de um ecossistema de microrganismos aeróbicos e anaeróbicos altamente complexo. O meio do intestino grosso é naturalmente anaeróbico ou anaeróbico facultativo, com uma concentração bacteriana típica de  $10^{11}$  CFU/mL, possuindo muitas espécies distintas de microrganismos (RUBINSTEIN, 1995).

Para a obtenção de energia para funções celulares, a microbiota colônica fermenta uma variedade de dissacarídeos não absorvíveis, oligossacarídeos e polissacarídeos. Além disso, outros polímeros que são originários da parede de células vegetais, tais como celulose, hemicelulose e substâncias pécicas, também são susceptíveis de fermentação no intestino grosso. As enzimas glicosídicas típicas são amilase, pectinase, xilanase,  $\beta$ -D-xilodase,  $\beta$ -D-galactosidase e  $\beta$ -D-glicosidase, sendo as três últimas as glicosidases mais ativas (RUBINSTEIN, 1995). 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. 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).

O pH ao longo do TGI de indivíduos saudáveis está razoavelmente bem caracterizado. O pH no íleo distal em humanos saudáveis corresponde a  $7,5 \pm 0,4$ . Alguns estudos demonstram que o pH no lúmen do cólon é ácido, em razão da presença de ácidos graxos de cadeia curta (produzidos por fermentação de fibras alimentares pela microbiota colônica), caindo para cerca de  $6,4 \pm 0,4$  no

ceco. Do cólon ascendente ao cólon descendente o pH permanece entre 6,4 e 7,0 (Figura 2) (McDOUGAL et al., 1993).

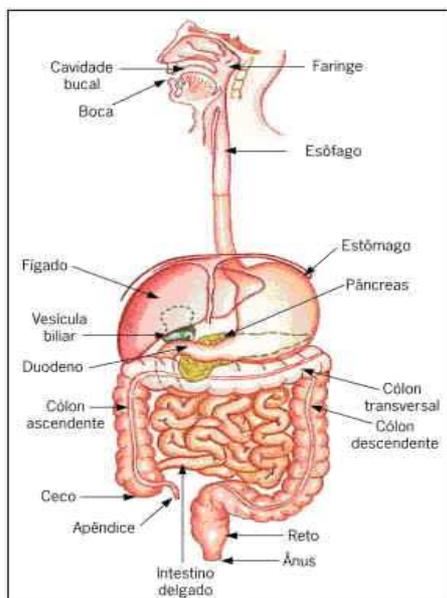


Figura 2: Trato Gastrintestinal

## DIRECIONAMENTO DE FÁRMACOS PARA O CÓLON

Historicamente, a liberação colônica de fármacos está associada à administração local de derivados salicilados no intestino grosso, para o tratamento de doenças intestinais inflamatórias, principalmente da colite ulcerativa. (RUBINSTEIN,1995).

Em contraposição à liberação no intestino delgado, a liberação direcionada para o intestino grosso parece, a principio, sem sentido, quando se pensa na pequena área de absorção à disposição e nas fortes propriedades de barreira desse compartimento inferior do intestino.

O intestino grosso apresenta, no entanto, algumas propriedades que o tornam um interessante órgão-alvo para a liberação de fármacos. Sua atividade enzimática é inferior à do estômago ou do intestino delgado, o que permite, por exemplo, a liberação de fármacos pépticos sensíveis nessa região. Um tempo de trânsito significativamente maior que no TGI superior, proporciona um tempo de residência maior no cólon, o que constitui um aspecto positivo na absorção

(RUBINSTEIN,1995). Alguns fatores que afetam a absorção de fármacos no cólon são:

- Características físico-químicas do fármaco, como o pKa e o grau de ionização;
- O tempo de residência colônica;
- Degradação pelas enzimas bacterianas;
- Ligação seletiva ou não-seletiva à mucosa;
- Ação fisiológica local do fármaco;
- Presença ou não de enfermidade no cólon;
- Uso de substâncias promotoras de absorção, inibidores enzimáticos ou bioadesivos.

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).

O movimento das formas farmacêuticas ao longo do TGI de pacientes com doenças inflamatórias intestinais precisa ser conhecido, quando do desenvolvimento de formas farmacêuticas para liberação colônica. Se o trânsito for muito rápido, principalmente no cólon, a liberação do fármaco pode ser incompleta, resultando na perda de eficácia (FRIEND, 1998).

Assim, no direcionamento de fármacos para o intestino delgado, facilmente exequível, prevê-se a utilização de revestimentos poliméricos ácidos, resistentes ao suco gástrico, os quais se dissolvem no meio neutro do intestino delgado, liberando o fármaco.

Já o delineamento de formulações medicamentosas específicas para o intestino grosso deve ser visto como um desafio tecnológico, porque o medicamento deve passar intacto pelo estômago e pelo intestino delgado, liberando o fármaco somente no intestino grosso (LEOPOLD,1999).

O sistema de liberação colônica, 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, por pressão

luminal do intestino grosso ou pela ação enzimática produzida pela microbiota intestinal (DRESSMAN et al., 1993; SEMDÉ et al., 2000).

A necessidade de desenvolvimento de novos polímeros para uso farmacêutico tem resultado numa variedade de materiais de revestimento, objetivando a liberação colônica. Polímeros acrílicos com intumescimento e propriedades de dissolução pH-dependentes, como 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).

Estudos baseados na atividade da microbiota colônica sobre polissacarídeos têm resultado em alguns sistemas carreadores. 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).

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 maior superfície de contato destes sistemas à degradação enzimática bacteriana, a liberação do fármaco ocorrerá mais rapidamente. Tais sistemas transpõem 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).

## **TIPOS DE SISTEMAS PARA LIBERAÇÃO COLÔNICA DE FÁRMACOS**

Quatro direções estão sendo seguidas, para se alcançar a liberação de fármacos no intestino grosso, em razão de suas condições fisiológicas especiais (KENYON et al., 1997; TOZAKI et al., 1997):

- sistemas com revestimento entérico com liberação do fármaco dependente do pH;
- sistemas de liberação controlada pelo tempo de trânsito;
- sistemas de liberação controlada por pressão luminal;
- sistemas com liberação controlada pela degradação enzimática, incluindo também os pró-fármacos;

### **Liberação controlada pelo pH**

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 unidade de pH (RUBINSTEIN, 1995). Tal diferença levou ao desenvolvimento de formas farmacêuticas capazes de liberar o fármaco em valores de pH mais elevados. Alguns estudos concluíram que esta diferença de pH entre o intestino delgado e a porção distal do intestino grosso é muito pequena para promover uma liberação confiável do fármaco no intestino grosso. 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, 1999; LEOPOLD; EIKELER, 1998).

Revestimentos gastrorresistentes não somente protegem o medicamento do meio gástrico, permitindo o 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 (CHOURASIA; JAIN, 2003).

### **Liberação controlada pelo tempo**

O tempo de trânsito constitui uma medida fisiológica importante para estudos de liberação de fármacos. Alguns autores constataram que o medicamento, após passar pelo estômago, deve liberar o fármaco após uma fase de retardamento de 3 a 4 horas (FRIEND, 1998; RUBINSTEIN, 1995).

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 (LEOPOLD, 1999).

### **Liberação controlada pela pressão**

Outra condição fisiológica importante é a elevação temporária da pressão luminal, que é obtida através das fortes ondas peristálticas no intestino grosso (liberação controlada pela pressão) (KENYON et al., 1997; LEOPOLD, 1999; TOZAKI et al., 1997).

Uma formulação desenvolvida com esta finalidade baseia-se numa cápsula de etilcelulose. O rompimento da cobertura de etilcelulose é induzido pela pressão intraluminal. O conteúdo da cápsula constitui-se de uma solução do fármaco, para contornar um eventual retardamento do processo de dissolução do fármaco, provocado pela pequena quantidade de líquido presente no conteúdo denso do intestino grosso (CHOURASIA; JAIN, 2003).

### **Liberação controlada enzimaticamente**

A microbiota colônica produz uma série de enzimas que não são encontradas no estômago ou no intestino delgado e que podem ser utilizadas para induzir a liberação de fármacos por clivagem enzimática de componentes da formulação ou por ligações entre o fármaco e o carreador. Em razão disso,

pró-fármacos, materiais de revestimentos biodegradáveis, hidrogéis, comprimidos matriciais e sistemas multiparticulados (*pellets*) têm sido desenvolvidos.

Alguns aspectos devem ser considerados na utilização de polímeros para a obtenção de formas farmacêuticas cólon-específicas, como (LEOPOLD, 1999):

- boas propriedades filmógenas;
- insolubilidade em água;
- permeabilidade suficientemente baixa para o fármaco no filme polimérico formado, o que previne sua liberação prematura no TGI superior e
- possível toxicidade dos produtos de degradação.

Revestimentos biodegradáveis poliméricos com ligações glicosídicas constituem-se basicamente de polímeros à base de galactomanas, de quitosana, bem como ésteres graxos de alto peso molecular da dextrana (LEOPOLD, 1999). Diferentemente da tecnologia de revestimento entérico, que fornece uma barreira pH-dependente altamente influenciada pelas variações do trânsito intestinal, os polímeros biodegradáveis, em sua maioria hidrogéis, são mais controláveis porque seu intumescimento e sua erosão são previsíveis (BERNKOP-SCHNURCH, 2000; RUBINSTEIN, 1995).

## **POLISSACARÍDEOS BIODEGRADÁVEIS**

Polímeros produzidos naturalmente, como celulose, amido, quitosana, pectina e alginato, 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-SCHNURCH, 2000; JANES; CALVO; ALONSO, 2001). A possibilidade de decomposição enzimática destes polímeros por ação das enzimas colônicas, principalmente pelas glicosidades, torna possível a sua aplicação como suporte para formas farmacêuticas de liberação colônica de fármacos.

### Quitosana (QS)

A QS é um polissacarídeo derivado da quitina. A quitina é considerada um derivado da celulose, embora não ocorra em organismos que a produzem. A celulose é formada de unidades  $\beta$ -(1,4)-D-glicopirranose, enquanto a quitina é formada de unidades  $\beta$ -(1,4)-D-acetamido-2-desoxi-D-glicopirranose (GlcNAc) (RATHKE, HUDSON, 1994).

Portanto, a quitina é uma poliamina acetilada, biodegradável e atóxica (KARLSEN, 1991), constituindo a base do exoesqueleto de crustáceos aquáticos, além de ser um componente do exoesqueleto de insetos e da parede celular de leveduras e fungos. Foi relatado, por exemplo, que cerca de 50-80% da composição orgânica das cascas de crustáceos e da cutícula de insetos consiste de quitina (MUZZARELLI, 1977), enquanto nas leveduras e fungos a quantidade relativa está na faixa de 30 a 60% (PETER, 1995).

A QS (Figura 3) pode ser encontrada naturalmente na parede de alguns fungos, especialmente nas espécies do gênero *Mucor* (PETER, 1995). Porém, a maior fonte disponível de QS é o processo de desacetilação da quitina (BORCHARD; JUNGINGER, 2001; BRINE; ZIKAKIS, 1984; KNORR, 1984).

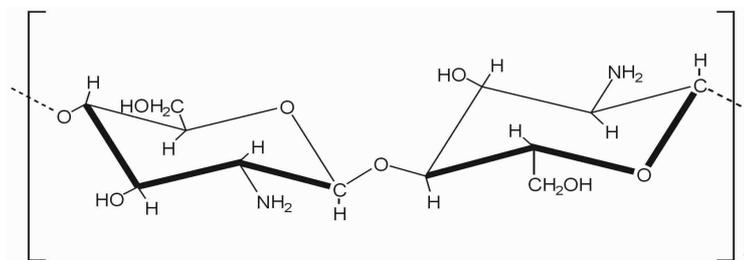


Figura 3: Estrutura da Quitosana

A QS tem sido amplamente utilizada pela indústria farmacêutica devido ao seu uso potencial em sistemas de liberação controlada de fármacos. Seu caráter catiônico dá a ela propriedades únicas para sua utilização em tecnologias de liberação controlada (BANERJEE et al., 2002; KARLSEN, 1991).

Além disso, devido ao baixo custo de produção, sua biocompatibilidade e sua baixa toxicidade, a QS tornou-se um excipiente muito interessante no desenvolvimento de sistemas para administração de vacinas (VAN DER LUBBEN et al., 2001).

A QS tem se mostrado promissora na preparação de sistemas carreadores para liberação colônica de fármacos (ZHANG; NEAU, 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, Bacteróides 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.

## **POLÍMEROS GASTRORRESISTENTES**

Polímeros utilizados para o direcionamento ao cólon devem ser capazes de suportar os baixos valores de pH do estômago e da parte proximal do intestino delgado, sendo capazes de se desintegrar somente no pH neutro e levemente alcalino do íleo terminal e, preferencialmente, na junção íleo-cecal (CHOURASIA, JAIN, 2003).

Os sistemas pH-dependentes aproveitam-se do aumento progressivo de pH do TGI. No estômago, em jejum, o pH está por volta de 1-2 e aumenta para 4 durante a digestão. No intestino delgado alcança valores de pH de 6-7, aumentando para 7-8 no íleo distal e, portanto, possibilitam um retardamento na liberação e maior proteção do princípio ativo nos fluidos gástricos.

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 (MUNJERI; COLLETT; FELL, 1997).

### Ftalato de hidroxipropilmetilcelulose (HPMCP)

É um derivado de celulose, constituído por grupos hidroxila, alguns deles substituídos por éster metílico, éster 2-hidroxipropílico ou éster ftálico, preparado através da esterificação de hidroxipropilmetil celulose (HPMC) com anidrido ftálico (Figura 4). O grau de substituinte alcóxi ou carboxibenzoíla determina as propriedades do polímero e, em particular, o pH no qual ele se dissolve em meio aquoso (BUGAY; FINDLAY, 1999).

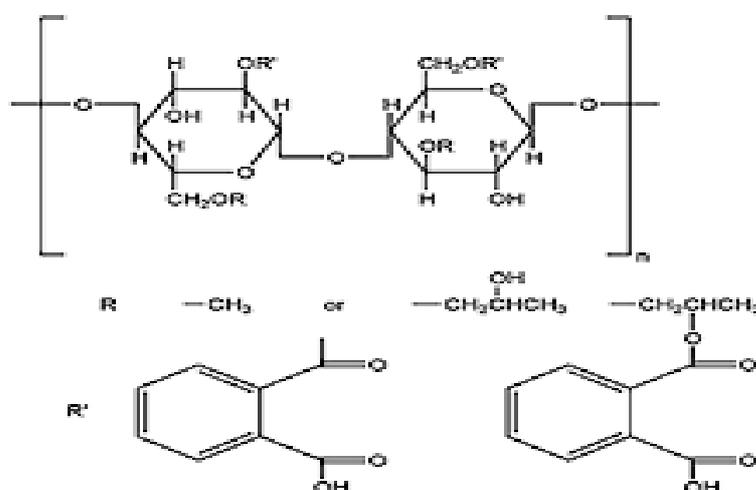


Figura 4: Estrutura do Ftalato de Hidroxipropilmetilcelulose

É encontrado comercialmente com diferentes valores de massa molecular, sendo os mais usados os que estão na faixa de 80.000-130.000. É amplamente utilizado em formulações farmacêuticas orais como revestimento entérico para comprimidos ou grânulos. Insolúvel em meio gástrico, porém intumescce, dissolvendo-se rapidamente em meio entérico. Por ser insípido e insolúvel em pH salivar tem grande aplicação no revestimento de comprimidos com a finalidade de mascarar sabor desagradável.

Pode ser usado sozinho ou em combinação com outros excipientes, solúveis ou insolúveis, na preparação de grânulos para propiciar a liberação sustentada de fármacos, sendo a taxa de liberação pH-dependente.

### Acetofalato de celulose (CAP)

Acetofalato de celulose é um derivado da celulose no qual metade dos grupos hidroxila estão acetilados e aproximadamente um quarto deles estão esterificados, com um dos dois grupos ácidos, com ácido ftálico. O outro grupo ácido está livre (Figura 5) (DOELKER, 1993).

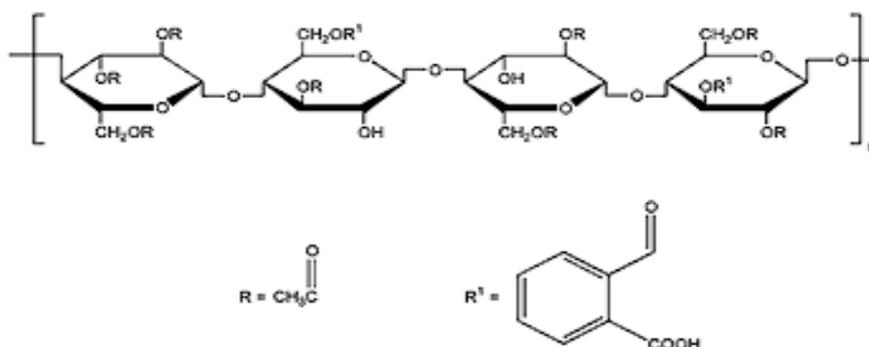


Figura 5: Estrutura do Acetofalato de Celulose

CAP é usado como material de revestimento entérico, ou como matriz de comprimidos e cápsulas. É capaz de resistir ao contato prolongado com o meio gástrico fortemente ácido, e dissolve-se no ambiente neutro do intestino (O'CONNOR; BERRYMAN, 1992).

É comumente aplicado a formas farmacêuticas sólidas com revestimento em sistemas de solventes orgânicos ou aquosos, ou por compressão direta. A adição de plastificantes aumenta a resistência à água dos materiais de revestimento, e a utilização dos plastificantes torna o revestimento mais efetivo do que quando o CAP é usado sozinho. É também possível ser usado em combinação com outros agentes de revestimento para liberação controlada de fármacos, como etilcelulose, por exemplo, e outros derivados (O'CONNOR; BERRYMAN, 1992).

**MATERIAIS E MÉTODOS****MATERIAIS****Matérias-Primas:**

Metronidazol (Sigma),  
Quitosana (Galena),  
Ftalato de Hidroxipropilmetilcelulose (Sigma),  
Acetofalato de Celulose (Sigma),  
N-Acetil-Glicosamina 99% (Sigma),  
Acetona P.A. (Synth),  
Ácido Acético Glacial P.A. (Synth),  
Ácido Clorídrico P.A. (Synth),  
Fosfato de Potássio Monobásico P.A. (Merck),  
Hidróxido de Sódio (Synth).

**Equipamentos:**

Agitador Magnético (Selecta Multimatic 9S),  
Agitador – Homogeneizador de sangue (AP 22, Phoenix)  
Balança Analítica (Ohaus, Mod. As 200s E Ap250d),  
Bomba à Vácuo (Tecnal – TE- 058)  
Centrifuga (Sorvall TC 6 Du Pont)  
Espectrofotômetro UV/Vis (Hewlett Packard, Mod. 8453, com HP UV-Visible ChemStation Software),  
Espectrofotômetro IV (Shimadzu 8300)  
Estação de Dissolução (Hanson Sr-8),  
Estereoscópio (Leica, Mod. Mz Apo, com Qwin Image Analysis Systems Software),  
Evaporador Rotativo (MA 120, Marconi)  
Liofilizador (Edwards, Mod. Modulyo Pirani 10),  
Microscópio Eletrônico de Varredura (Jeol, Mod. Jsm-T330a),  
Peagômetro (Quimis, Mod. Q-400m),  
Purificador de Água Milli-Q Plus (Millipore Ltda – Brasil)  
Banho de Ultrassom (Soniclean, Mod. Snc 5036 D.M.C)

## **METODOLOGIA**

### **1. CARACTERIZAÇÃO DOS POLÍMEROS**

#### **1.1. Purificação da quitosana**

A quitosana impura (2,0g) foi dissolvida em 400ml ácido clorídrico 0,1N. A dispersão resultante foi filtrada a vácuo e o filtrado (solução coloidal de quitosana impura) foi, então, precipitado pela adição de excesso de solução de hidróxido de sódio 1N, sob agitação. A amostra purificada foi filtrada a vácuo em funil de Büchner, congelada e liofilizada. O rendimento foi verificado por gravimetria.

#### **1.2. Determinação do grau de desacetilação da quitosana**

O grau de desacetilação (GD) da quitosana (QS) foi determinado pelo método da primeira derivada da absorvância na região do UV descrito por Tan e colaboradores (1998), em trabalho que visava aprimorar a metodologia descrita por Muzzarelli em 1985.

Os ensaios foram realizados em triplicata, obtendo-se leituras da absorvância na faixa de 190 a 250 nm. 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 espectro 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 a 201,9 nm.

Para a determinação do GD da amostra de QS é necessária a obtenção da curva de calibração de 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; 40 µg/mL).

O gráfico obtido com as soluções de ácido acético (0,01; 0,02; 0,03 N) foi sobreposto ao obtido com o NAG (5; 10; 20; 30; 40 µg/mL), e a curva analítica traçada com a medida da intensidade dos picos de cada concentração de NAG em relação ao ponto isosbético a 201,9 nm.

Para a quantificação dos grupos acetil nas amostras de QS, foram preparadas dispersões de QS na concentração de 100 µg/mL em solução de ácido acético 0,01 mol/L e as leituras foram realizadas no comprimento de onda de 201,9 nm no espectro de primeira derivada de absorvância.

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

## **2. CARACTERIZAÇÃO DO FÁRMACO-MODELO METRONIDAZOL (MT)**

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

Foram realizadas análises do MT por espectrofotometria no UV em pH neutro e em pH ácido, para determinação do pico de absorção máxima do fármaco. Foram preparadas soluções diluídas de MT em tampão fosfato 50 mM pH 7,4; em HCl 0,1 N pH 1,2 e em água destilada. Estas soluções foram analisadas na região do UV e os picos de absorção máxima foram registrados.

### ***2.2 Curva analítica para quantificação do fármaco por espectroscopia na região do UV***

Foram obtidas curvas analíticas de MT em água destilada, solução de HCl 0,1N pH 1,2 e solução de tampão fosfato 50mM pH 7,4. Partindo de uma solução estoque, foram tomadas alíquotas para o preparo de diluições na faixa de concentração entre 1,25 µg/mL e 35 µg/mL para a água, de 0,625 µg/mL e 25 µg/mL para a solução HCl e 0,625 µg/mL e 30 µg/mL para o tampão fosfato. Todas as porções foram transferidas para balão volumétrico de 10 mL e o volume foi completado. Para cada diluição foram preparadas três soluções, partindo-se de soluções estoques diferentes. As leituras de MT em solução de HCl 0,1N pH1,2 foram realizadas em 277 nm e as leituras de MT em água e

tampão fosfato pH 7,4 foram realizadas em 320 nm em espectrofotômetro. Os valores médios das leituras de cada concentração foram utilizados para construção dos gráficos correspondentes e para o cálculo das equações das retas.

### **2.3 Solubilidade**

Para a determinação da solubilidade do fármaco, 200 mg de MT foram mantidos em contato com 10 mL do solvente (tampão fosfato 50 mM, solução de HCl 0,1 N e água) e deixados em agitação a 30 rpm por 8 h. Após este período, as soluções foram centrifugadas e o sobrenadante foi filtrado em membrana de 0,45 µm. Em seguida, foram realizadas diluições (FD= 1000) do filtrado para quantificação por espectrofotometria na região do UV. O ensaio foi realizado a 25°C e em triplicata.

### **2.4 Espectro do fármaco na região do infravermelho**

Para a análise do MT na região do infravermelho, as amostras foram preparadas adicionando-se 5 mg de MT em 100 mg de KBr, sendo esta mistura homogeneizada e posteriormente compactada. Os discos foram submetidos à análise no intervalo de 400-4000 cm<sup>-1</sup>.

## **3. PREPARAÇÃO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS**

### **3.1. Preparação das dispersões sólidas contendo MT**

As dispersões sólidas de MT foram preparadas pelo método da evaporação do solvente descrito por Leuner e Dressman, 2000, com proporções variadas entre os constituintes. Para tanto, quantidades de MT, QS, CAP e HPMCP foram dissolvidas em solventes adequados (soluções diluídas de ácido acético, soluções diluídas de hidróxido de sódio e acetona), selecionados de acordo com a solubilidade dos materiais.

As concentrações utilizadas foram QS a 0,5% em ácido acético 0,1N, pH 4,8 e CAP a 0,5% em NaOH 0,05N, pH 5,2. Preparou-se dispersões de

HPMCP a 0,5 e 1,0% em NaOH 0,05 N, pH 5,1; e dispersões de MT a 0,5 e 1,0% em ácido acético 0,1N, pH 5,2 (LUCINDA-SILVA, 2003; OLIVEIRA, 2005).

A composição das amostras está descrita na Tabela 1. A proporção de cada constituinte das amostras é de duas partes de volume da QS para uma parte de volume de cada polímero e do fármaco.

Tabela 1. Composição das amostras de dispersões sólidas

Amostra	Composição (%)			
	QT	CAP	HPMCP	MT
MT	—	—	—	100
QS	100	—	—	—
QS.MT	0,5	—	—	0,5
QS.HPMCP0,5.MT0,5	0,5	—	0,5	0,5
QS.CAP.MT0,5	0,5	0,5	—	0,5
QS.CAP.HPMCP0,5	0,5	0,5	0,5	—
QS.CAP.HPMCP0,5.MT0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
QS.CAP.HPMCP1.MT0,5	0,5	0,5	1,0	0,5
QS.CAP.HPMCP0,5.MT1	0,5	0,5	0,5	1,0
QS.CAP.HPMCP1.MT1	0,5	0,5	1,0	1,0
CAP	—	100	—	—
HPMCP	—	—	100	—

Após a realização da misturas dos constituintes da fórmula, as soluções foram levadas ao rotaevaporador sob vácuo por aproximadamente 2,5 h à temperatura de 60°C, a fim de evaporar a acetona presente.

Em seguida, as amostras foram congeladas e secas em liofilizador por 24 h. O material obtido foi pulverizado manualmente em gral de porcelana por 10 min e armazenado em frascos para posterior manuseio.

## 4. ANÁLISES DAS DISPERSÕES SÓLIDAS

### 4.1 Análise granulométrica

A análise morfológica das dispersões sólidas foi realizada através do estereoscópio Leica MZ APO, para observação global. A captura de imagens associada ao programa Leica Qwin Image Analysis Systems do estereoscópio Leica MZ APO permite a obtenção da distribuição do tamanho das partículas das dispersões sólidas.

As partículas foram colocadas em placa de Petri e analisadas no estereoscópio e a distribuição do tamanho das partículas de cada lote analisado foi obtida, usando-se para medição o diâmetro de Feret a 0°. As análises foram realizadas com objetiva com aumento de 80 vezes.

### 4.2 Análise do Intumescimento

O intumescimento das dispersões sólidas foi avaliado em meios com diferentes valores de pH, simulando os diferentes ambientes do TGI: meio gástrico simulado (pH 1,2), e meio entérico simulado (tampão fosfato pH 7,4). A análise do intumescimento foi realizada num dispositivo de Enslin (Figura 6) (VOIGT, 2000), mantendo-se as amostras em contato com os meios estudados por até 2 h.

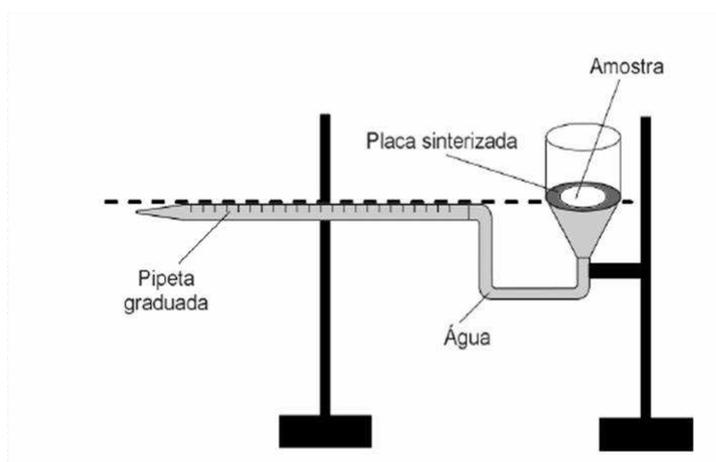


Figura 6: Dispositivo de Enslin para determinação do intumescimento.

Para realização deste ensaio foram utilizadas amostras de 0,05 g de partículas e o volume do líquido absorvido pela amostra foi avaliado nos intervalos de 30, 60, 90 e 120 min. Os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados expressos em % de intumescimento em relação à massa inicial da amostra, levando-se em consideração a densidade do líquido utilizado na temperatura da experiência.

### ***4.3 Análise da interação dos constituintes por espectroscopia no infravermelho***

Amostras dos adjuvantes e do fármaco isolados, de misturas físicas e das dispersões sólidas, em todas as proporções estudadas, foram preparadas em pastilhas de KBr para análise na região do infravermelho, procurando-se identificar as bandas características de cada uma das substâncias, visando esclarecer o tipo de interação ocorrida entre elas.

## **5. CARACTERIZAÇÃO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS**

### ***5.1 Validação da metodologia empregada para a determinação do teor e da eficiência de incorporação por espectroscopia na região do ultravioleta***

Este experimento foi realizado para garantir, por meio de estudos experimentais, que a metodologia utilizada para a determinação do teor e da eficiência de incorporação atendesse 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) e limite de quantificação (LQ) (ANVISA, 2003; ICH, 1996; USP, 2002).

### **5.1.1 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 dispersão sólida. 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 sua presença (ANVISA, 2003; ICH, 1996; USP, 2002).

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

### **5.1.2 Linearidade**

A linearidade é a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado (ANVISA, 2003; ICH, 1996; USP, 2002).

A linearidade do método foi determinada através da obtenção da curva analítica de MT em tampão fosfato 50mM 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 0,625 a 30 µg/mL, em triplicata.

A curva analítica foi gerada relacionando a concentração de MT à resposta obtida por espectroscopia na região do UV, através dos valores de absorvância a 320nm correspondentes às concentrações de MT.

### **5.1.3 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 (alta, média e baixa) em triplicata ou no mínimo de seis determinações com 100% da concentração do teste (ANVISA, 2003).

A partir da solução estoque de MT em tampão fosfato 50mM pH 7,4, foram preparadas soluções de MT nas concentrações de 2,5; 10 e 30 µg/mL, correspondentes às concentrações baixa, média e alta do intervalo linear da curva analítica. Estas soluções foram analisadas por espectroscopia na região do UV e a análise foi realizada em triplicata.

#### 5.1.4 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 MT na solução de tampão fosfato 50mM pH7,4, contendo 5mg de partículas inertes para o preparo de soluções amostrais. A quantidade de fármaco adicionada corresponde às regiões inferior, mediana e superior da curva analítica, respectivamente, 5, 10 e 30 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:

$$R\% = \frac{C}{C_0} \times 100 \quad (\text{eq. 1})$$

Onde:

C = média das concentrações determinadas experimentalmente;

C<sub>0</sub> = concentração teórica inicial.

### 5.1.5 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 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 foi calculado baseando-se no desvio padrão (s) e na inclinação da curva analítica ( $\alpha$ ) expresso como:

$$LD = 3 \times \frac{s}{\alpha} \quad (\text{eq. 2})$$

Onde:

s = desvio padrão

$\alpha$  = inclinação da curva analítica.

O 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 foi calculado baseando-se no desvio padrão (s) e na inclinação da curva analítica ( $\alpha$ ) expresso como:

$$LQ = \frac{s}{\alpha} \times 10 \quad (\text{eq. 3})$$

Onde:

s = desvio padrão

$\alpha$  = inclinação da curva analítica

## 5.2 Determinação do teor e da eficiência de incorporação

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

Para determinação do teor de incorporação, 5mg de partículas foram pesados e adicionados a 100mL de solução tampão fosfato 50mM pH7,4, e deixadas sob agitação constante em agitador magnético por 3h.

Após agitação, a amostra foi centrifugada por 10 min a 3500 rpm e filtrada em membrana com poros de 0,45 µm, para retirada de eventuais resíduos, e a quantificação do fármaco foi realizada em espectrofotômetro de UV a 320nm. Os ensaios foram realizados em triplicata.

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

Eficiência de incorporação corresponde a quantidade de fármaco que foi incorporado pelo sistema. A eficiência de incorporação foi calculada a partir do teor e do rendimento em massa do lote das dispersões sólidas analisadas.

## 6. ENSAIO DE LIBERAÇÃO *IN VITRO* DO FÁRMACO

### 6.1 Ensaio de liberação do fármaco em meio gástrico simulado

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, usando 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: 2h;

Tempos de amostragem: 5; 10; 15; 30; 45; 60; 75; 90; 105 e 120 min;

Amostra: 40 mg de partículas;

Meio: suco gástrico simulado sem enzimas. O fármaco foi quantificado por espectroscopia no UV a 277 nm.

### **6.2 Ensaio de liberação do fármaco em meio entérico simulado**

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, usando 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: 4h;

Tempos de amostragem: 5; 15; 30; 45; 60; 90;120; 150;180; 210 e 240 min

Amostra: 40 mg de partículas

Meio: meio entérico simulado sem enzimas, utilizando tampão fosfato 50 mM pH 7,4. O fármaco foi quantificado por espectroscopia no UV a 320 nm.

### **6.3 Ensaio de liberação do fármaco em meio colônico simulado**

A fim de verificar o perfil de liberação do MT no cólon, as amostras foram submetidas ao ensaio em meio colônico simulado. Para tanto, usou-se como meio tampão fosfato 10mM pH 5,0, contendo 2% de enzima pectinase. O ensaio foi realizado em estação de dissolução, usando 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: 10h;

Tempos de amostragem: 0,5;1;2;3;4;5;6;7;8;9 e 10h

Amostra: 40 mg de partículas

Meio: meio colônico simulado com enzima pectinase, utilizando tampão fosfato 10 mM pH 5,0. O fármaco foi quantificado por espectroscopia no UV a 320 nm.

#### **6.4 Análise dos mecanismos de liberação in vitro do fármaco**

Os mecanismos de liberação do fármaco a partir das dispersões sólidas foram analisados através de modelos matemáticos. A interpretação quantitativa dos valores obtidos nos ensaios de dissolução é facilitada pela utilização de uma equação genérica, que traduz matematicamente a curva de dissolução em função de alguns parâmetros relacionados com a forma farmacêutica.

A partir dos valores obtidos do ensaio de liberação do fármaco nos meios estudados foram plotadas diferentes equações matemáticas. Essas equações correspondem aos mecanismos que regem a liberação do fármaco. Os modelos escolhidos foram os de Korsmeyer-Peppas e Weibull que apresentaram maiores valores de coeficiente de correlação ajustado.

## RESULTADOS

### 1. CARACTERIZAÇÃO DOS POLÍMEROS

#### 1.1 Purificação da quitosana

A QS é solúvel em soluções de ácidos diluídos em pH inferior a 6,0 e apresenta solubilidade limitada em pH mais elevado, geleificando ou precipitando em pH maior que 6,0. Por isso, pode-se purificá-la através de sua dissolução em ácido diluído e precipitação pela adição de solução alcalina, eliminando-se, desta forma, algumas impurezas que não apresentem o mesmo comportamento de solubilidade ou que ficam retidas na filtração.

A purificação da QS comercial foi realizada devido à necessidade de se obter uma matéria-prima de melhor qualidade, facilitando, assim, sua identificação e melhorando algumas propriedades, como solubilidade e viscosidade de suas dispersões.

No procedimento de purificação, logo após a liofilização, obteve-se um material de característica esponjosa, quebradiça e de difícil trituração.

O rendimento obtido com a purificação de amostras de QS está representado na tabela 2.

Tabela 2. Rendimento do processo de purificação de QS

Lotes	QS impura (g)	QS purificada (g)	Rendimento (%)
01	2,0	1,59	79,8
02	2,0	1,71	85,5
03	2,0	1,61	80,2

#### 1.2. Determinação do grau de desacetilação da quitosana

A QS é obtida a partir da reação de desacetilação da quitina (QN) em soluções alcalinas. 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.

O grau de desacetilação (GD) é uma característica importante que pode influenciar o desempenho da QS em muitas de suas aplicações. 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 dos filmes, capacidade de quelar metais e 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.

Entre os métodos utilizados para a determinação do GD da QS estão a espectroscopia no infravermelho (MUZZARELLI, 1977), espectroscopia na região do infravermelho próximo e espectro de primeira derivada na região do ultravioleta (MUZZARELLI, 1977).

No presente trabalho, o método escolhido para a determinação do GD foi o do espectro da primeira derivada 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).

As soluções de ácido acético em diferentes concentrações (0,01; 0,02; 0,03 mol/L) foram analisadas, usando-se água como branco, e observou-se a convergência de todos os espectros para um ponto comum em 201,9 nm, chamado de ponto isobéptico (Figura 7). Este ponto corresponde ao comprimento de onda de máxima absorção da *N*-acetilglicosamina (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 (Figura 8).

Para a determinação do GD da QS por este método foi obtida a curva analítica da NAG em ácido acético 0,01 mol/L (Figura 9).

A partir do espectro da primeira derivada na região do UV da amostra e da aplicação na curva de NAG, obteve-se o grau de desacetilação da QS igual a 78,55%.

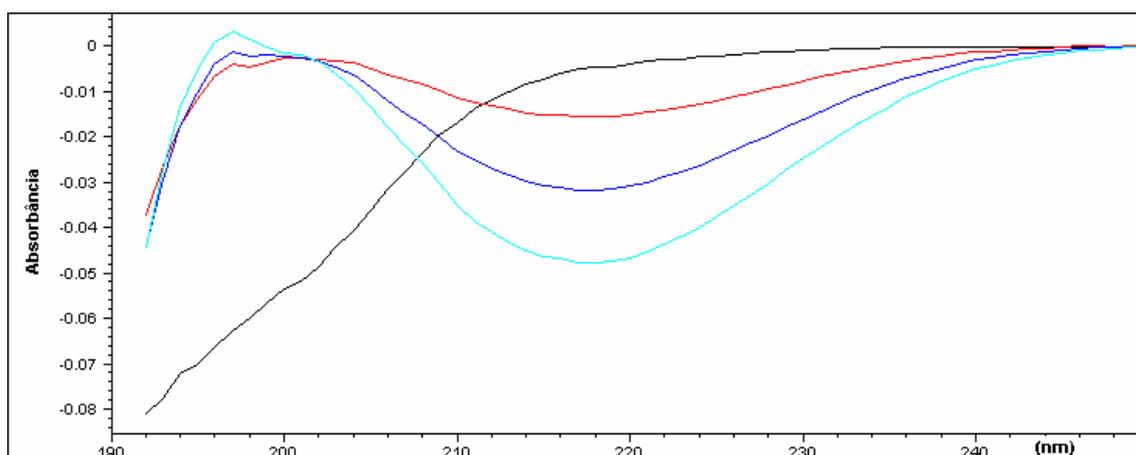


Figura 7. Espectro da primeira derivada de soluções de ácido acético ( — 0,01; — 0,02; — 0,03 mol/L) e soluções de QS — (100 µg/mL) em ácido acético 0,01 mol/L na região do UV.

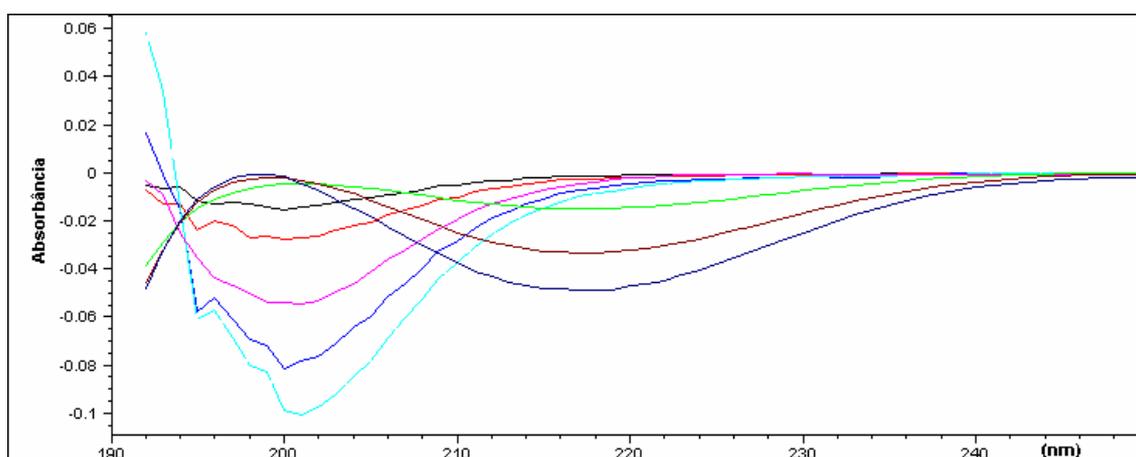


Figura 8: Espectro da primeira derivada de soluções de NAG ( — 5,0; — 10,0; — 20,0; — 30,0 — 40,0 µg/mL) em relação ao ponto isobéstico obtido pela convergência de ácido acético — 0,01; — 0,02 e — 0,03 mol/L.

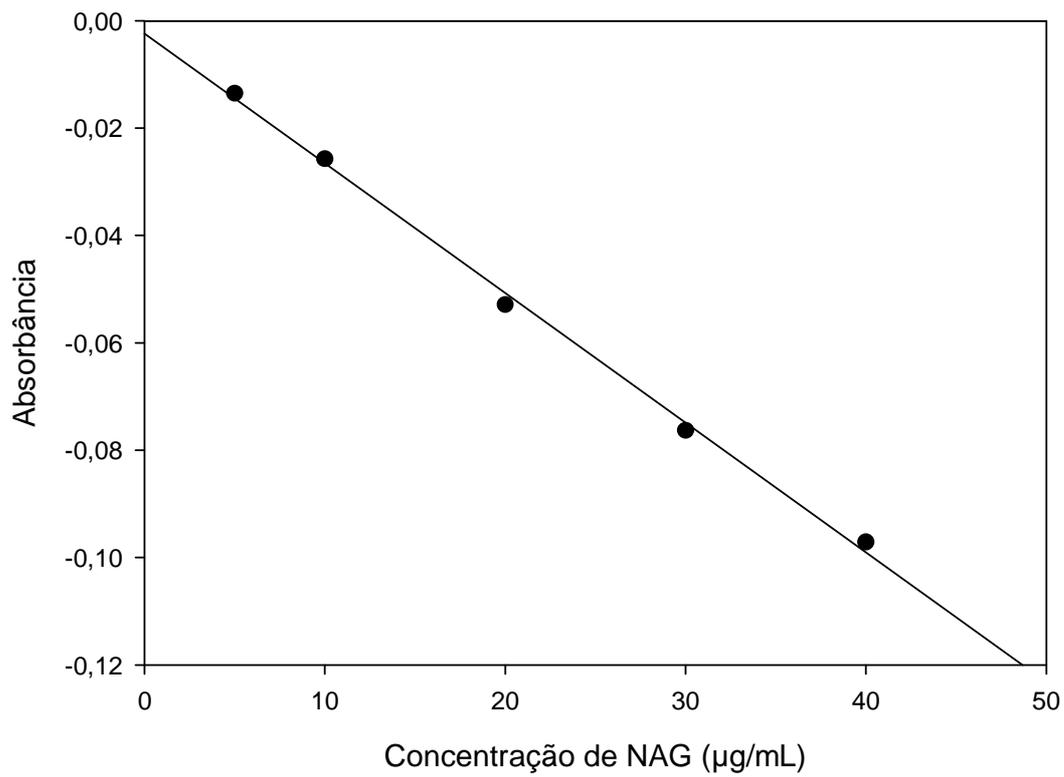


Figura 9: Curva analítica de NAG em ácido acético 0,01 mol/L.

$$y = -0,0024153x - 0,0023931$$

$$R^2 = 0,9975$$

## 2. CARACTERIZAÇÃO DO FÁRMACO-MODELO METRONIDAZOL (MT)

### 2.1 Determinação dos picos de absorção máxima do fármaco na região do ultravioleta (UV)

Os espectros de absorção do MT em tampão fosfato 50 mM pH 7,4; HCl 0,1N pH1,2 e água destilada foram obtidos por espectrofotometria na região do UV e os picos de absorção máxima (Figuras 10 a 12) obtidos em 320 nm, 277 nm e 320 nm, respectivamente, foram selecionados para a realização das análises quantitativas do fármaco.

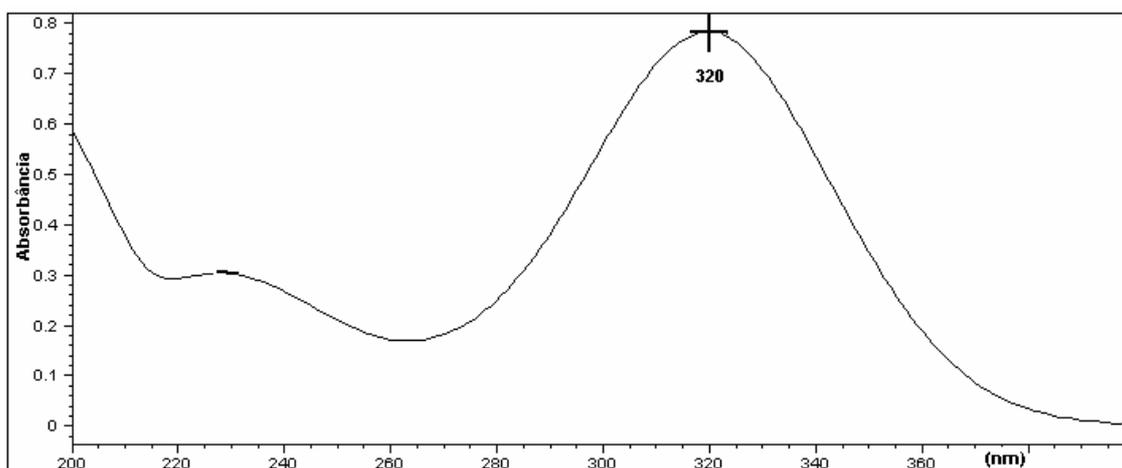


Figura 10: Espectro de MT em tampão fosfato pH 7,4 na região do UV.

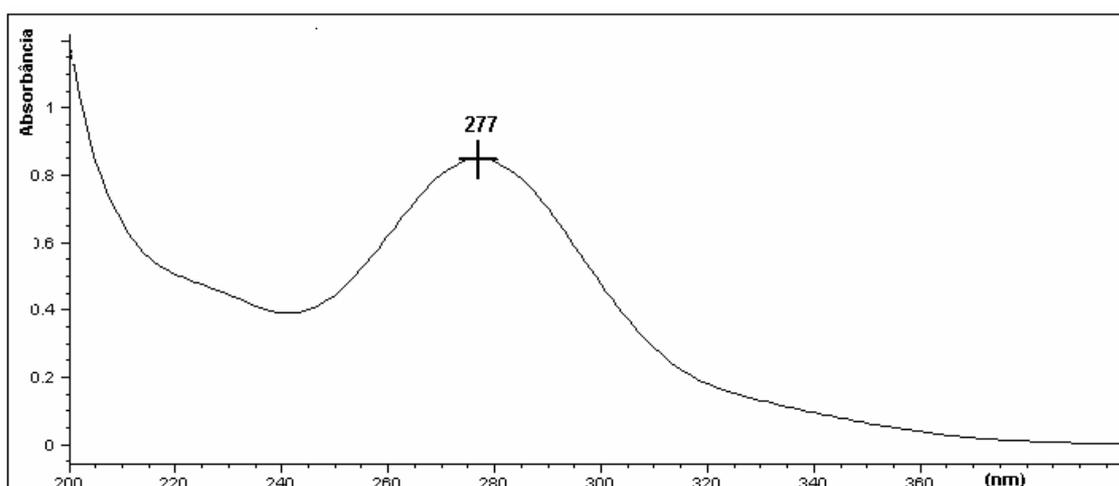


Figura 11: Espectro de MT em HCl 0,1 pH 1,2 na região do UV.

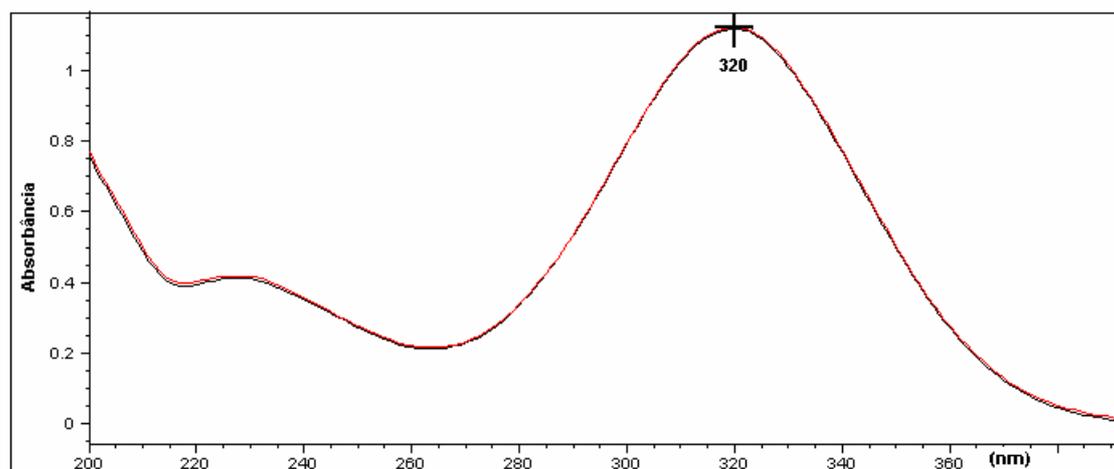


Figura 12: Espectro de MT em água destilada na região do ultravioleta.

## 2.2 Curva analítica para quantificação do MT por espectroscopia na região do UV

A leitura das absorbâncias nos diferentes meios foi realizada em triplicata, sendo os valores obtidos descritos nas Tabelas 3 a 5.

### a) Obtenção da curva analítica de MT em água destilada

Na análise realizada em água destilada o fármaco apresentou absorção máxima em 320 nm com pico de absorção bem definido. A regressão linear forneceu a equação de reta:  $[MT] = (A - 0,001361) / 0,05615$ ; e o coeficiente de correlação,  $R^2 = 0,99831$  (Figura 13).

Tabela 3. Análise espectrofotométrica de MT em água destilada na região do UV

Concentração (µg/mL)	N1	N2	N3	Média	D.P.	C.V. (%)
1,25	0,0974	0,0943	0,0992	0,0970	0,0025	2,5533
2,50	0,1596	0,1590	0,1610	0,1598	0,0010	0,6334
5,00	0,2739	0,2717	0,2756	0,2737	0,0020	0,7032
10,00	0,5722	0,5712	0,5625	0,5686	0,0053	0,9382
15,00	0,7765	0,7799	0,7761	0,7775	0,0021	0,2648
20,00	1,1185	1,1235	1,1158	1,1193	0,0039	0,3491
30,00	1,6750	1,7179	1,7053	1,6994	0,0221	1,2975
35,00	1,9601	2,0115	1,9808	1,9841	0,0259	1,3034

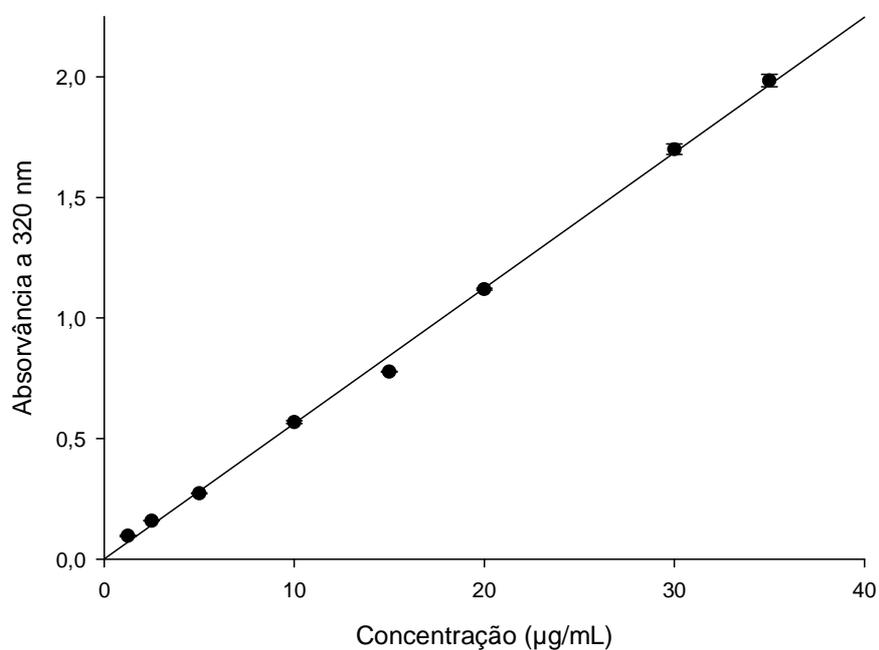


Figura 13 : Curva Analítica de MT em Água Destilada

**b) Obtenção da curva analítica de MT em HCl 0,1N pH1,2**

Na análise realizada em HCl 0,1N o fármaco apresentou absorção máxima em 277 nm com pico de absorção bem definido. A regressão linear forneceu a equação de reta:  $[MT] = (A - 0,03117)/0,078458$ ; e o coeficiente de correlação,  $R^2 = 0,99945$  (Figura 14).

Tabela 4: Análise espectrofotométrica de MT em HCl 0,1N pH 1,2 na região do UV

Concentração ( $\mu\text{g/mL}$ )	N1	N2	N3	Média	D.P.	C.V. (%)
0,625	0,0773	0,0757	0,0730	0,0753	0,0022	2,9068
1,25	0,1401	0,1381	0,1345	0,1376	0,0028	2,0526
2,50	0,2082	0,2133	0,2081	0,2099	0,0029	1,4031
5,00	0,4193	0,4218	0,4200	0,4203	0,0013	0,3062
10,00	0,8487	0,8486	0,8485	0,8486	0,0001	0,0143
15,00	1,1853	1,2168	1,1801	1,1941	0,0199	1,6631
20,00	1,6220	1,6159	1,6101	1,6160	0,0059	0,3682
25,00	1,9945	1,9904	1,9624	1,9824	0,0175	0,8812

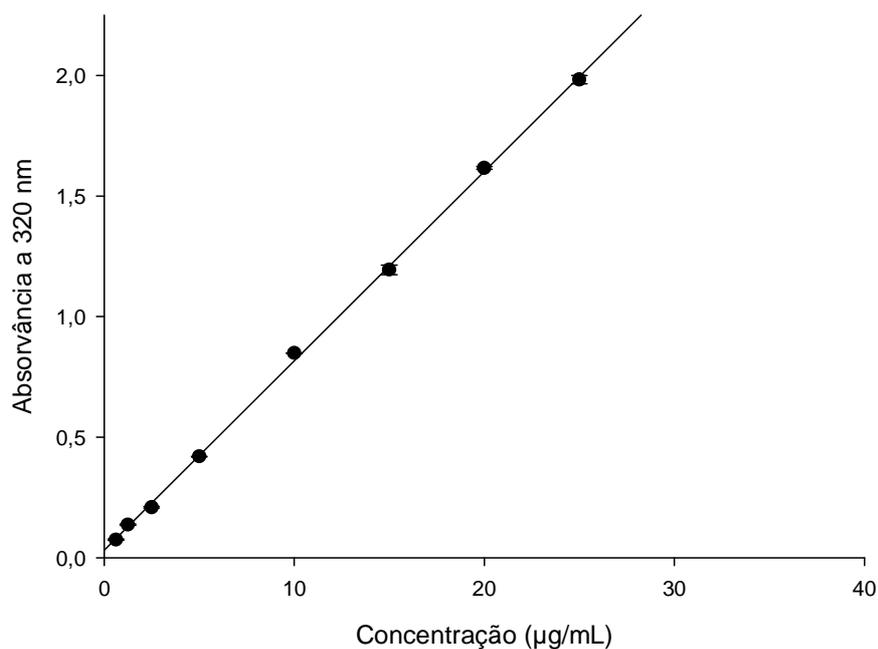


Figura 14: Curva Analítica de MT em HCl 0,1N pH 1,2

### c) Obtenção da curva analítica de MT em tampão fosfato 50mM pH7,4

Na análise realizada em tampão fosfato pH 7,4 o fármaco apresentou absorção máxima em 320 nm com pico de absorção bem definido. A regressão linear forneceu a equação de reta:  $[MT] = (A - 0,05256) / 0,05163$ ; e o coeficiente de correlação,  $R^2 = 0,99893$  (Figura 15).

Tabela 5: Análise espectrofotométrica de MT em Tampão Fosfato 50mM pH 7,4 na região do UV

Concentração (µg/mL)	N1	N2	N3	Média	D.P.	C.V. (%)
0,625	0,0665	0,0374	0,0366	0,0468	0,0170	2,9068
1,25	0,1121	0,1104	0,1084	0,1103	0,0018	2,0526
2,50	0,1929	0,1941	0,1899	0,1923	0,0022	1,4031
5,00	0,3069	0,3125	0,3077	0,3090	0,0030	0,3062
10,00	0,5923	0,5882	0,5892	0,5899	0,0021	0,0143
15,00	0,7829	0,7947	0,7995	0,7924	0,0085	1,6631
20,00	1,0684	1,1028	1,0981	1,0898	0,0187	0,3682
30,00	1,6494	1,5939	1,5823	1,6085	0,0359	0,8812

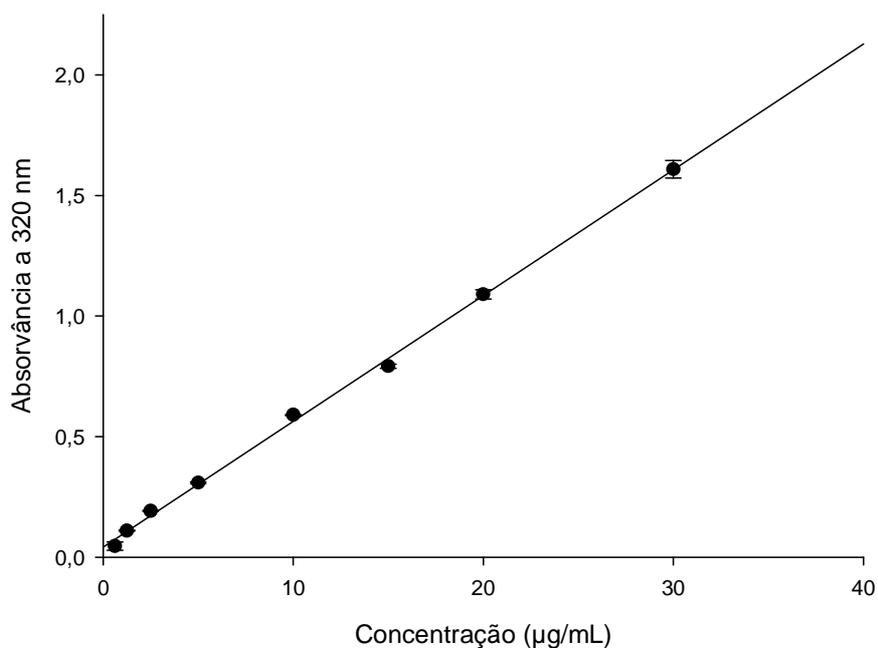


Figura 15: Curva Analítica de MT em tampão fosfato 50 mM pH 7,4.

### 2.3 Solubilidade

Os resultados de solubilidade realizados com três diferentes solventes, água destilada, HCl 0,1N pH 1,2, e tampão fosfato 50mM pH 7,4, estão apresentados nas Tabelas 6 e 7.

Tabela 6: Concentrações obtidas a partir das absorvâncias no UV.

Amostra	Absorvância	FD	Concentração ( $\mu\text{g/mL}$ )
Água 1	1,0703	1000	19037,20
Água 2	1,052	1000	18711,30
Água 3	1,038	1000	18461,98
HCl 1	1,2581	1000	15621,72
HCl 2	1,2445	1000	15448,56
HCl 3	1,2338	1000	15312,32
Tampão 1	0,87121	1000	15855,48
Tampão 2	0,87308	1000	15891,70
Tampão 3	0,87491	1000	15927,14

Tabela 7: Solubilidade do MT nos diferentes meios.

Solvente	Média (Abs)	DP	Concentração (mg/mL)	Concentração (g/100mL)
Água	1,053	0,016	18,737	1,874
HCl	1,245	0,012	15,461	1,546
Tampão	0,873	0,001	15,891	1,589

## 2.4 Análise do MT na região do Infravermelho

A Figura 16 representa o espectro do MT na região do infravermelho entre 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ . As bandas nas regiões de 1300 a 1600  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas ao grupo  $\text{NO}_2$ . As bandas nas regiões de 3200 a 3600  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas ao estiramento do grupo O-H. As bandas em 2900 e 3100  $\text{cm}^{-1}$  representam estiramento de carbonos  $sp^3$  e  $sp^2$ , respectivamente.

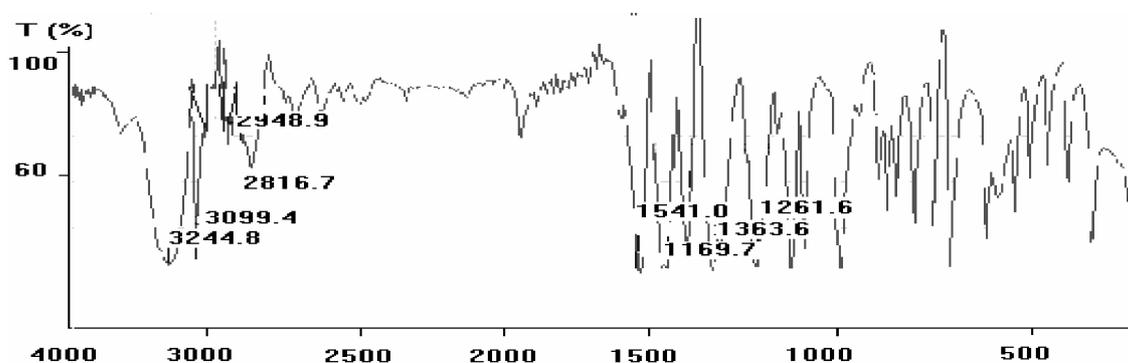


Figura 16: Espectro do MT na região do infravermelho.

### 3. PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS

#### 3.1. Preparação das dispersões sólidas contendo MT

As dispersões sólidas têm sido utilizadas como uma das principais alternativas para melhorar a solubilidade de fármacos hidrossolúveis através do aumento da taxa de dissolução. Contudo, são também uma alternativa para viabilizar a obtenção de novas formas farmacêuticas, geralmente limitadas pelas fracas solubilidade ou permeabilidade dos fármacos através da membrana intestinal.

Primeiramente, verificou-se a solubilidade dos componentes utilizados na formulação. Houve dificuldade para obter-se um sistema solvente capaz de dissolver simultaneamente todos os componentes e foi necessário dissolvê-los separadamente, para, em seguida, misturá-los.

Através do estudo de solubilidade, foram selecionados os solventes adequados para cada constituinte. O fármaco-modelo, MT, apresenta baixa solubilidade em água e álcool, porém é solúvel em ácidos diluídos. Utilizou-se, então, para dissolução do MT o ácido acético 0,1N.

A QS é muito pouco solúvel em água, e praticamente insolúvel em etanol e outros solventes orgânicos. Apresenta solubilidade em ácidos diluídos. Portanto, foi dissolvida em ácido acético 0,1N.

O CAP é insolúvel em água e álcool e é solúvel em acetona e em soluções de álcalis. Para sua dispersão, o CAP foi previamente umedecido em acetona e dissolvido em hidróxido de sódio 0,05 mol/L.

O HPMCP também é solúvel em acetona e soluções alcalinas. Foi previamente umedecido em acetona e dissolvido em hidróxido de sódio 0,05 mol/L.

A correção do pH se fez necessária a fim de evitar a precipitação dos constituintes no momento da mistura das dispersões. Em pH alcalino observa-se a precipitação da QS durante a mistura, interferindo na obtenção da dispersão sólida. O pH foi ajustado em diferentes valores, conforme o soluto, para manter as soluções estáveis. Assim, ajustou-se o pH das dispersões em

4,8 para a QS, 5,2 para o CAP, 5,1 para o HPMCP e 5,2 para o MT (OLIVEIRA, 2005).

As dispersões sólidas obtidas conforme as diferentes composições e rendimento estão descritas na Tabela 8, e apresentaram-se como pós. Algumas amostras apresentaram menor friabilidade, sendo mais facilmente pulverizadas, enquanto que outras amostras mostraram-se mais rígidas, obtendo-se, nestes casos, partículas com dimensões maiores, já que o tempo de pulverização foi padronizado em 10 min.

Tabela 8: Composição e rendimento das dispersões sólidas

Amostra	Composição (%)				Rendimento(%)
	QT	CAP	HPMCP	MT	
MT	—	—	—	100	—
QS	100	—	—	—	—
QS.MT	0,5	—	—	0,5	42,9
QS.HPMCP0,5.MT0,5	0,5	—	0,5	0,5	97,7
QS.CAP.MT0,5	0,5	0,5	—	0,5	79,4
QS.CAP.HPMCP0,5	0,5	0,5	0,5	—	85,6
QS.CAP.HPMCP0,5.MT0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	84,9
QS.CAP.HPMCP1.MT0,5	0,5	0,5	1,0	0,5	86,6
QS.CAP.HPMCP0,5.MT1	0,5	0,5	0,5	1,0	80,7
QS.CAP.HPMCP1.MT1	0,5	0,5	1,0	1,0	60,2
CAP	—	100	—	—	—
HPMCP	—	—	100	—	—

## 4. ANÁLISES DAS DISPERSÕES SÓLIDAS

### 4.1 Análise granulométrica

A análise foi realizada por meio do estereoscópio Leica MZ APO, para observação global das partículas. A captura de imagens foi associada ao programa Leica Qwin Image Analysis Systems, permitindo a verificação da distribuição do tamanho das partículas das dispersões sólidas. Foram

analisadas cerca de 250 partículas de cada amostra, e como estas apresentavam forma irregular, a caracterização do tamanho foi analisada pela medição do diâmetro segundo Feret a 0°, que é a distância entre duas linhas paralelas, tangentes à partícula na direção horizontal. Nesta técnica observa-se diretamente as partículas, avaliando-se a sua dimensão através da sua imagem bidimensional (BARBER, 1993). Foram construídos gráficos relacionando o diâmetro de Feret com as porcentagens da frequência de tamanho e com a frequência acumulada (Figuras 17 a 23).

A Figura 17 representa a distribuição do tamanho de partículas da amostra QS.CAP.HPMCP0,5. As partículas sem fármaco apresentaram distribuição de tamanho na faixa de 0,003 a 0,4 mm, sendo que aproximadamente 60% das partículas analisadas apresentaram-se entre 0,003 e 0,06 mm.

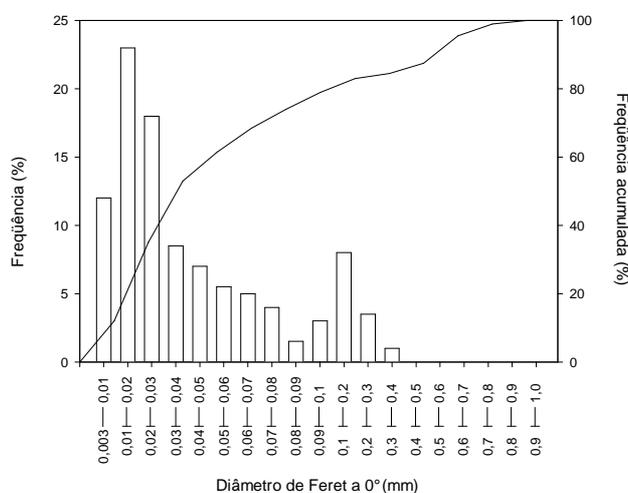


Figura 17: Distribuição dos tamanhos de partícula da amostra QS.CAP.HPMCP0,5.

A Figura 18 representa a distribuição do tamanho de partículas da amostra QS.HPMCP0,5.MT0,5. As partículas contendo apenas HPMCP como polímero gastrorresistente apresentaram-se entre 0,003 a 0,7 mm, sendo que 70% das partículas apresentaram-se na faixa de 0,003 a 0,06 mm.

A distribuição do tamanho de partículas da amostra QS.CAP.MT0,5 está representada na Figura 19. As partículas contendo apenas o CAP como polímero gastrorresistente, apresentaram diâmetros distribuídos entre 0,0003 e 1,0 mm, sendo que aproximadamente 50% das partículas analisadas apresentaram-se na faixa de 0,003 a 0,06 mm.

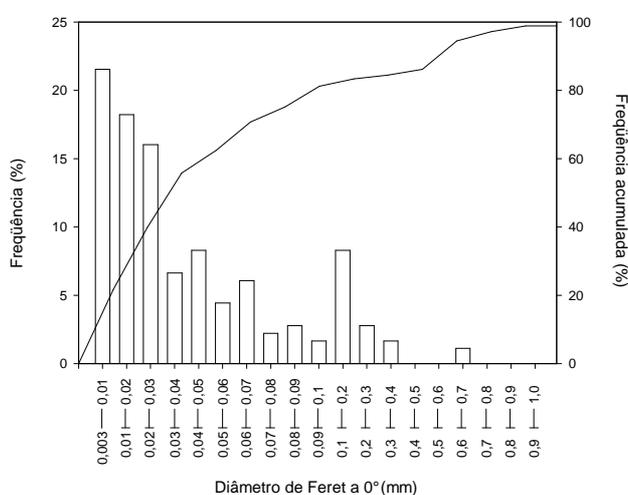


Figura 18: Distribuição dos tamanhos de partícula da amostra QS.HPMCP0,5.MT0,5.

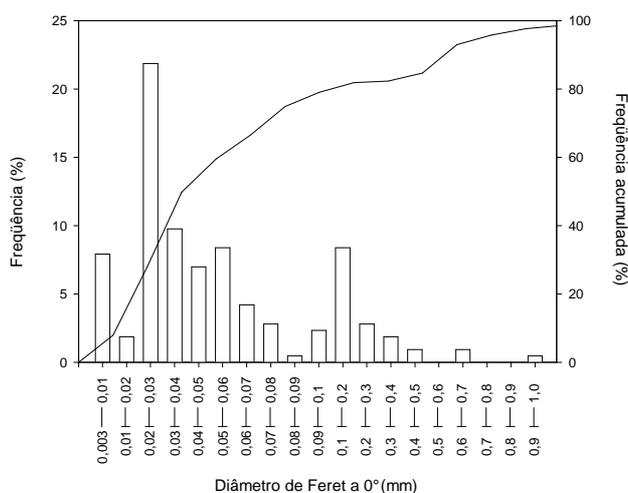


Figura 19: Distribuição dos tamanhos de partícula da amostra QS.CAP.MT0,5.

A Figura 20 representa a distribuição do tamanho de partículas da amostra QS.CAP.HPMCP0,5.MT0,5. As partículas das dispersões sólidas contendo proporções iguais de fármaco e de polímeros gastroresistentes apresentaram tamanhos entre 0,003 e 0,4 mm, sendo que aproximadamente 75% das partículas analisadas estavam na faixa de 0,003 a 0,06 mm.

A distribuição do tamanho de partículas da amostra QS.CAP.HPMCP1.MT0,5 está representado na Figura 21. As partículas da amostra preparada com HPMCP a 1% apresentaram tamanhos entre 0,003 e 0,3 mm, sendo que aproximadamente 65% das partículas analisadas ocorreram na faixa de 0,003 a 0,06 mm.

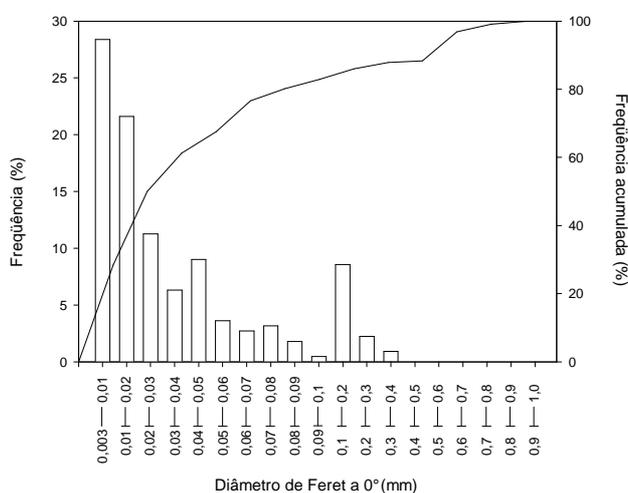


Figura 20: Distribuição dos tamanhos de partícula da amostra QS.CAP.HPMCP0,5. MT0,5.

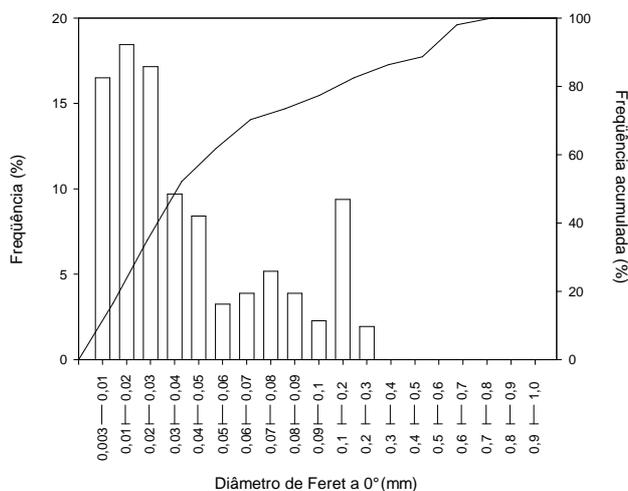


Figura 21: Distribuição dos tamanhos de partícula da amostra QS.CAP.HPMCP1.MT0,5.

A Figura 22 representa a distribuição do tamanho de partículas da amostra QS.CAP.HPMCP0,5.MT1. As partículas preparadas com fármaco a 1% apresentaram-se entre 0,003 e 0,4 mm, sendo aproximadamente 80% delas na faixa de 0,003 a 0,06 mm.

A granulometria da amostra QS.CAP.HPMCP1.MT1 está representada na Figura 23. Aquelas partículas preparadas com HPMCP e MT a 1% apresentaram tamanho entre 0,003 e 0,2 mm, sendo que aproximadamente 85% das partículas analisadas estavam entre o valor mínimo e 0,06 mm.

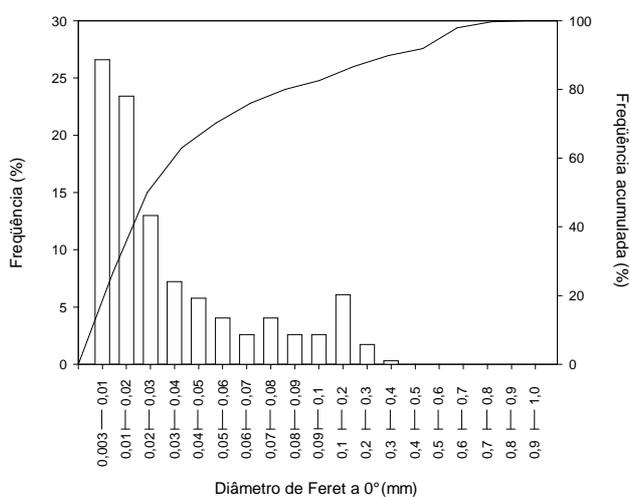


Figura 22: Distribuição dos tamanhos de partícula da amostra QS.CAP.HPMCP0,5.MT1.

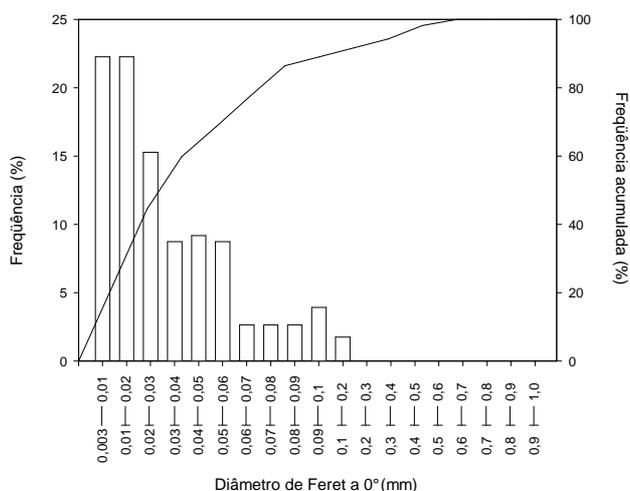


Figura 23: Distribuição dos tamanhos de partícula da amostra QS.CAP.HPMCP1.MT1

Analisando os resultados de distribuição dos tamanhos na faixa de 0,003 e 0,06 mm, observa-se que as amostras constituídas por apenas um dos polímeros gastrorresistentes, ou aquelas que não continham o fármaco, apresentaram menor frequência de partículas. Já as dispersões sólidas preparadas com todos os constituintes apresentaram grande porcentagem de partículas nessa faixa, sendo que as amostras que continham MT a 1% apresentaram as maiores frequências, ou seja, partículas de tamanho reduzido. Estes resultados indicam que as dispersões sólidas obtidas geraram material de fácil pulverização, o que resultou partículas de tamanho reduzido, o que facilitará sua dissolução devido ao aumento considerável da área superficial disponível para solvatação.

#### **4.2 Análise do Intumescimento**

Os sistemas de liberação de fármacos controlados por intumescimento constituem preparações em que o fármaco se encontra disperso ou dissolvido em uma matriz polimérica, a qual, em presença de fluidos biológicos, se hidrata e intumescce, o que possibilita a difusão das moléculas do fármaco para o meio externo (DANCKWERTS; FASSIHI, 1991).

Assim sendo, em sistemas intumescíveis, a liberação do fármaco ocorre a partir de uma seqüência dos seguintes eventos: absorção de água, intumescimento da matriz e difusão do fármaco através da região gel formada (EFENTAKIS; VIACHOU; CHOULIS, 1997; DANCKWERTS; FASSIHI, 1991).

Dessa forma, o conhecimento do comportamento do intumescimento dos hidrogéis utilizados na obtenção de sistemas de liberação prolongada de fármacos é muito importante, já que a taxa de liberação do fármaco é controlada pelas taxas de difusão do fluido penetrante e do fármaco em solução através do polímero geleificado. É importante salientar, ainda, que a quantidade de água absorvida pelo polímero é função de sua hidrofilia, da estrutura da rede formada e da quantidade de grupos ionizáveis presentes na estrutura polimérica (GEHRKE; LEE, 1990).

O intumescimento do MT, da QS e dos polímeros foi analisado individualmente e, em seguida, foram analisados os perfis de intumescimento das dispersões sólidas.

A análise do intumescimento foi realizada em triplicata, o volume de líquido absorvido pela pipeta do dispositivo de Enslin foi convertido em massa através da densidade dos meios e, em seguida, foi calculada a porcentagem de intumescimento em relação à massa de amostra utilizada no ensaio.

As Figuras 24 e 25 mostram os perfis de intumescimento das amostras nos meios gástrico e entérico simulados respectivamente.

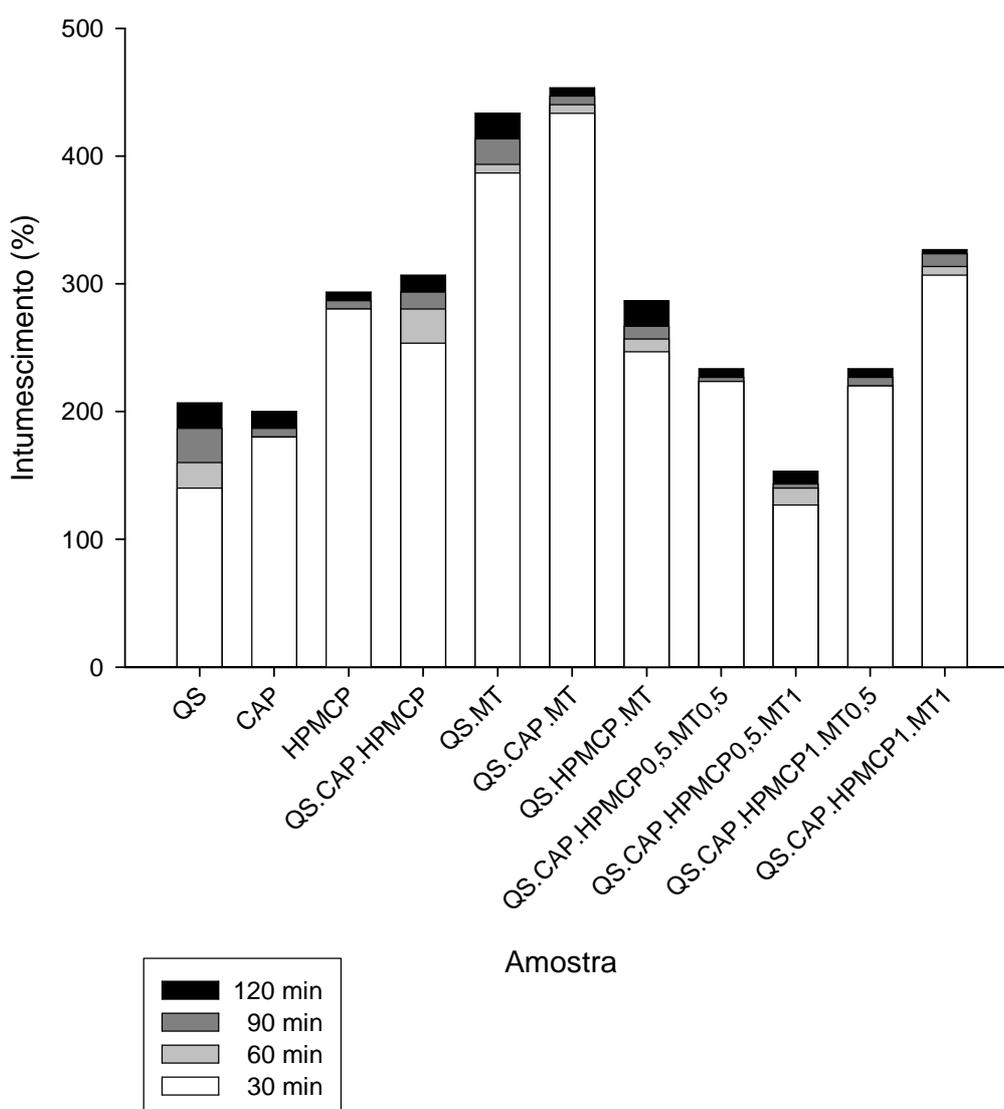


Figura 24: Perfil de intumescimento em meio gástrico simulado

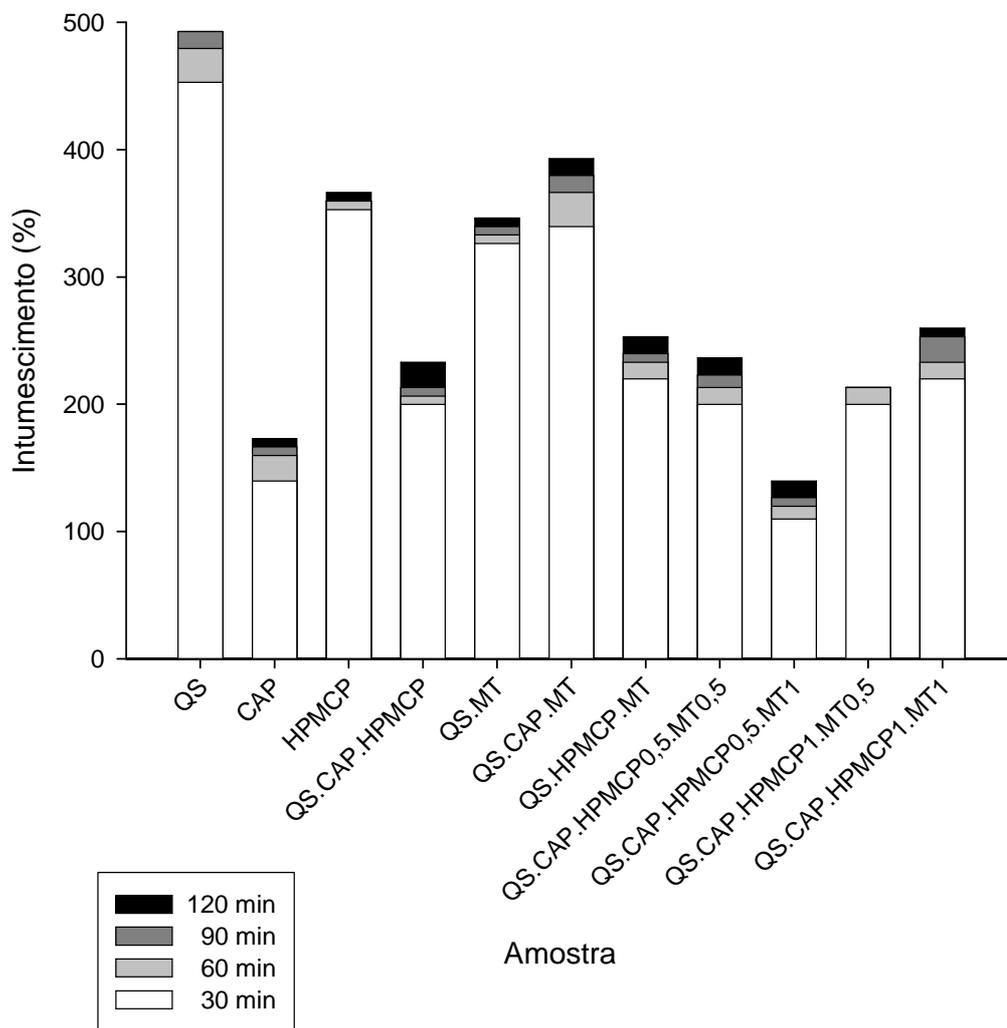


Figura 25: Perfil de intumescimento em meio entérico simulado.

A partir dos gráficos individuais, é possível relacionar as amostras para verificar os perfis de intumescimento de maneira mais comparativa (Figuras 26 a 33).

As Figuras 26 e 27 representam o perfil de intumescimento das amostras contendo QS nos meios gástrico e entérico, respectivamente. Observa-se que a amostra de QS.CAP.MT0,5 apresentou maior porcentagem de intumescimento que QS.HPMCP0,5.MT0,5 nos meios estudados, indicando que a HPMCP detém o intumescimento da QS, que apresenta diferença significativa de perfil nos meios gástrico e entérico.

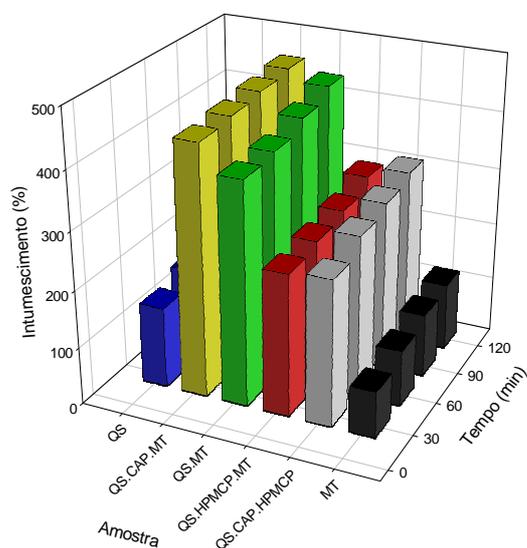


Figura 26: Perfil de intumescimento das formulações contendo QS em meio gástrico simulado.

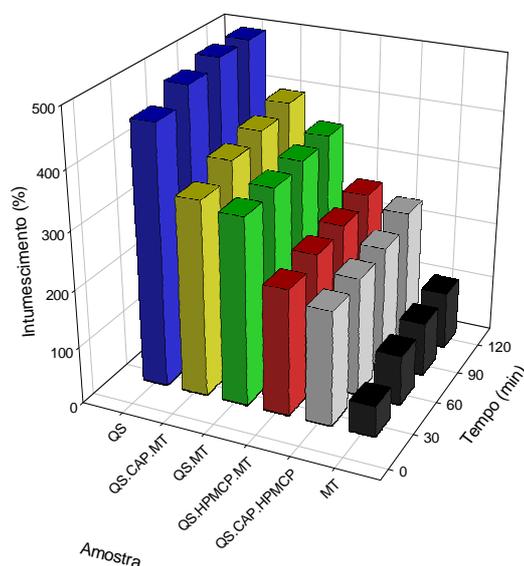


Figura 27: Perfil de intumescimento das formulações contendo QS em meio entérico simulado.

As Figuras 28 e 29 representam o perfil de intumescimento das amostras contendo CAP nos meios gástrico e entérico simulados, respectivamente. Foi observado que a amostra QS.CAP.MT0,5 apresenta maior intumescimento que o polímero isolado, possivelmente devido à presença da QS, e também maior que o da amostra que contém HPMCP.

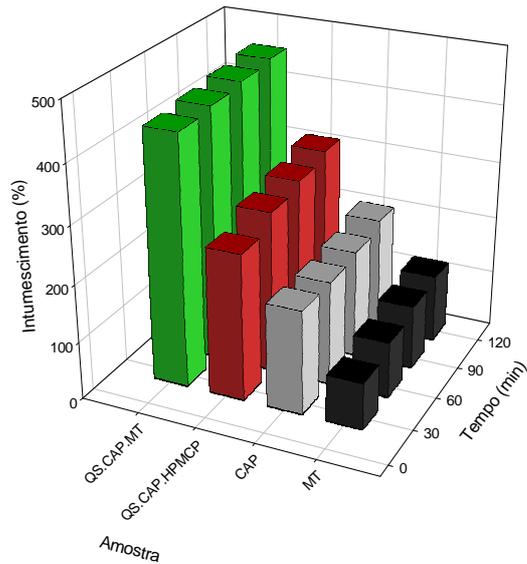


Figura 28: Perfil de intumescimento das formulações contendo CAP em meio gástrico simulado.

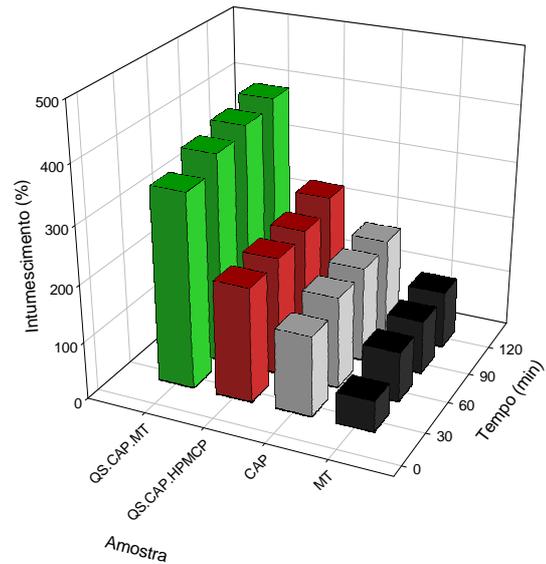


Figura 29: Perfil de intumescimento das formulações contendo CAP em meio entérico simulado.

O perfil de intumescimento das amostras contendo HPMCP nos meios gástrico e entérico simulados está apresentado nas Figuras 30 e 31, respectivamente. As amostras apresentam perfis de intumescimento semelhantes no meio gástrico, enquanto que no meio entérico a que mais intumescceu foi a amostra de HPMCP, ou seja, a presença de CAP não interfere no resultado.

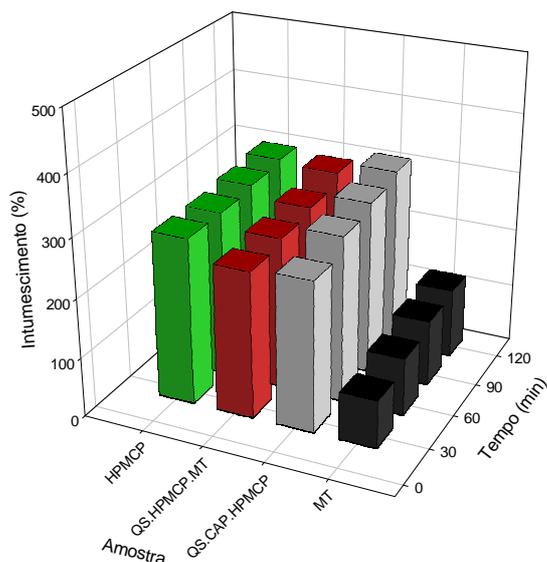


Figura 30: Perfil de intumescimento das formulações contendo HPMCP em meio gástrico simulado.

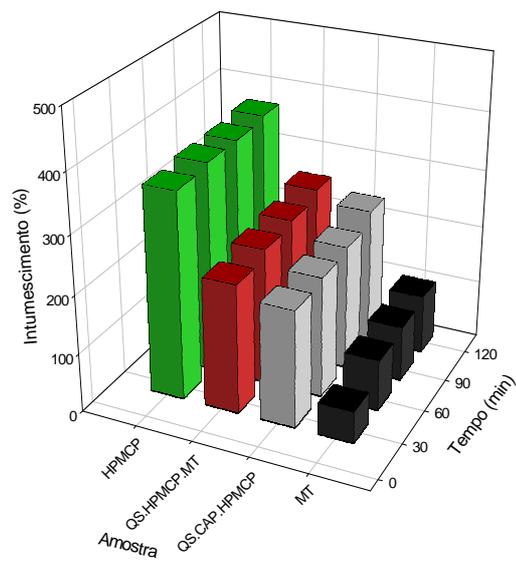
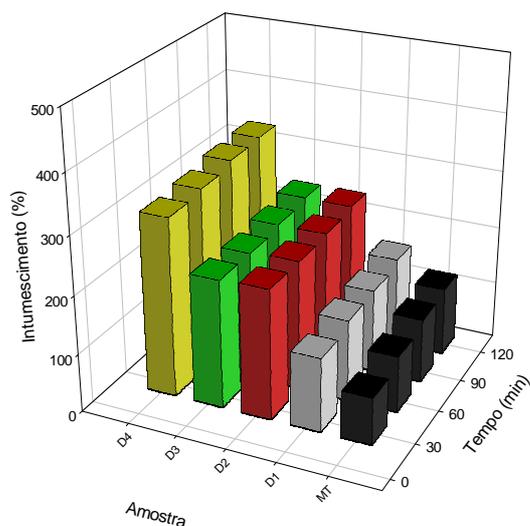


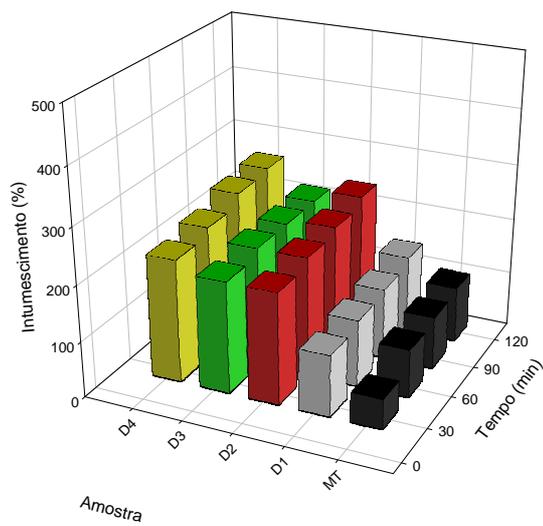
Figura 31: Perfil de intumescimento das formulações contendo HPMCP em meio entérico simulado.

As Figuras 32 e 33 representam, respectivamente, o perfil de intumescimento das dispersões sólidas nos meios gástrico e entérico simulados. Observa-se que a amostra QS.CAP.HPMCP0,5.MT1 apresentou menos intumescimento em ambos meios estudados, enquanto que as demais não apresentaram diferença significativa.



D1	QS.CAP.HPMCP0,5.MT1
D2	QS.CAP.HPMCP0,5.MT0,5
D3	QS.CAP.HPMCP1.MT0,5
D4	QS.CAP.HPMCP1.MT1

Figura 32: Perfil de intumescimento das Dispersões Sólidas em meio gástrico simulado.



D1	QS.CAP.HPMCP0,5.MT1
D2	QS.CAP.HPMCP0,5.MT0,5
D3	QS.CAP.HPMCP1.MT0,5
D4	QS.CAP.HPMCP1.MT1

Figura 33: Perfil de intumescimento das Dispersões Sólidas em meio entérico simulado.

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando  $p$ -valor ( $\alpha = 0.05$ ).

A QS foi a única amostra que apresentou diferença significativa no perfil de intumescimento em ambos os meios.

As dispersões sólidas mostraram perfil de intumescimento controlado pela presença e concentração dos polímeros entéricos e do fármaco, sendo possível encontrar uma proporção ideal de constituintes para preparar sistemas capazes de liberar o fármaco na região colônica.

#### 4.3 Análise da interação dos constituintes por espectroscopia no infravermelho

Foram preparadas pastilhas das diferentes amostras em KBr para a análise na região do infravermelho. Os espectros foram analisados na região de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  em relação à porcentagem de transmitância.

A Figura 34 representa o espectro da QS na região do infravermelho: bandas na região de 1650 a 1665  $\text{cm}^{-1}$ , atribuídas ao estiramento C=O da amina do grupo acetamido, de 1560 a 1610  $\text{cm}^{-1}$ , à deformação axial do grupo

NH<sub>2</sub> no plano, de 1300 a 1000 cm<sup>-1</sup>, atribuídas ao estiramento C-O, e de 3350 a 3180 cm<sup>-1</sup> atribuídas ao estiramento do grupo NH<sub>2</sub> (SILVERSTEIN; BASSLER; MORRIL, 1979).

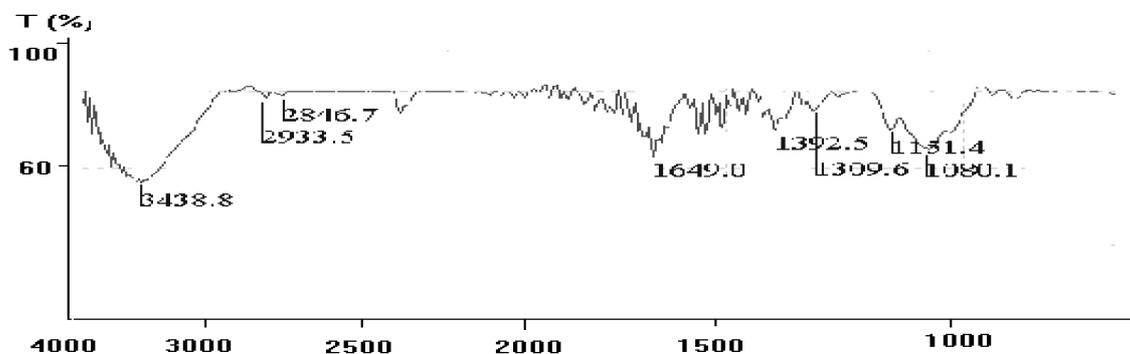


Figura 34: Espectro de QS na região do infravermelho.

O espectro de QS.MT na região do infravermelho está representado na Figura 35. Observa-se a presença das bandas características da QS e há também um alargamento nas bandas na região de 1400 a 1700 cm<sup>-1</sup> referentes ao MT.

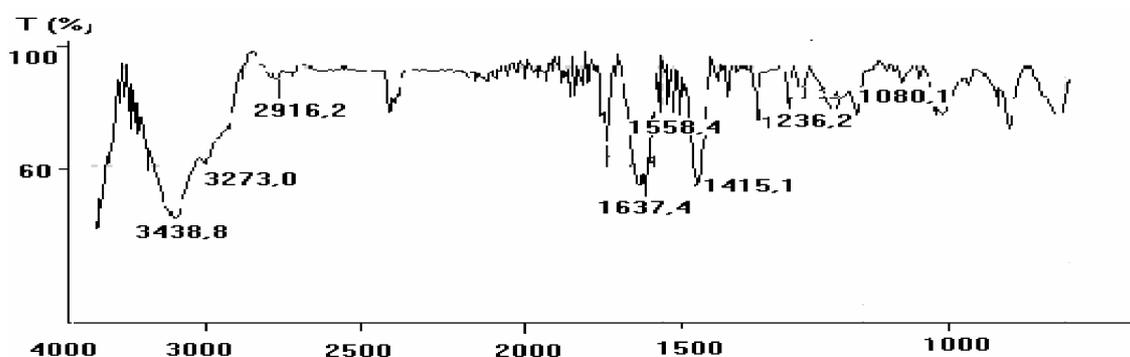


Figura 35: Espectro de QS.MT na região do infravermelho

A Figura 36 representa o espectro do CAP na região do infravermelho: bandas na região de 3570 a 3200 cm<sup>-1</sup>, atribuídas ao estiramento do grupo OH; de 1800 a 1600 cm<sup>-1</sup>, atribuídas ao estiramento C=O dos grupos éster e ácido carboxílico; de 1600 a 1500 cm<sup>-1</sup>, atribuídas ao anel aromático; 1276 cm<sup>-1</sup> atribuída à ligação éster; 1068 cm<sup>-1</sup> atribuída ao éter cíclico; e 744 cm<sup>-1</sup> ao anel aromático monosubstituído (BUGAY; FINDLAY, 1999).

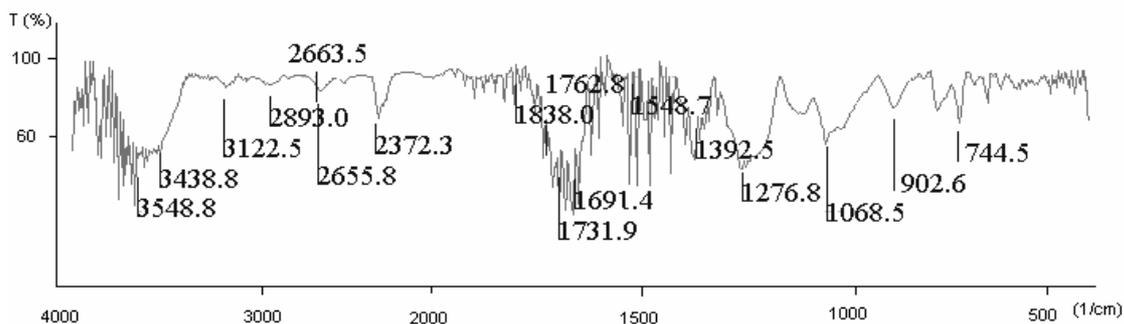


Figura 36: Espectro de CAP na região do infravermelho.

A Figura 37 representa o espectro do CAP.MT (Mistura Física - MF) na região do infravermelho.

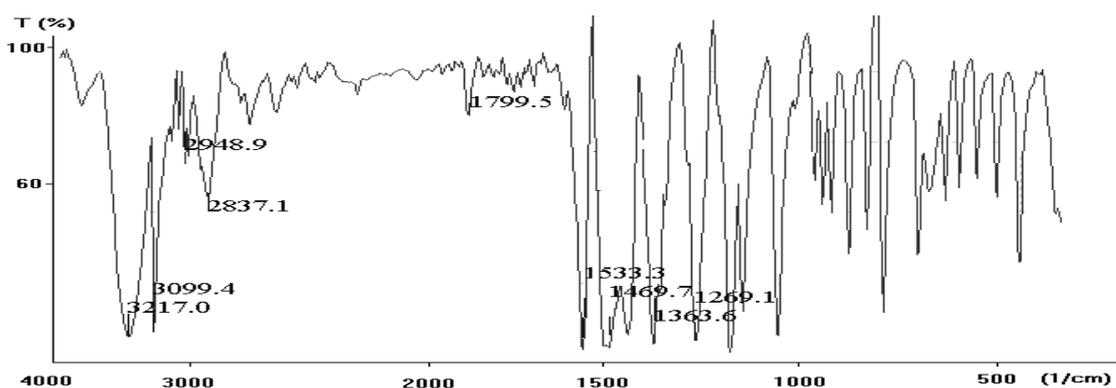


Figura 37: Espectro de MF de CAP.MT na região do infravermelho

A Figura 38 representa o espectro do HPMCP na região do infravermelho: bandas na região de  $3400$  a  $2400\text{ cm}^{-1}$ , atribuídas ao estiramento do grupo O-H;  $2829\text{ cm}^{-1}$ , atribuída ao grupo metoxi (C-CH<sub>3</sub>); de  $1735\text{ cm}^{-1}$ , atribuída ao estiramento do grupo C=O, do grupo éster; de  $1600$  a  $1500\text{ cm}^{-1}$ , atribuídas ao anel aromático;  $1276\text{ cm}^{-1}$ , atribuída ao grupo éster; de  $1200$  a  $1000\text{ cm}^{-1}$ , atribuídas ao grupo éter; e  $744\text{ cm}^{-1}$ , atribuída ao anel aromático monosubstituído (BUGAY; FINDLAY, 1999).

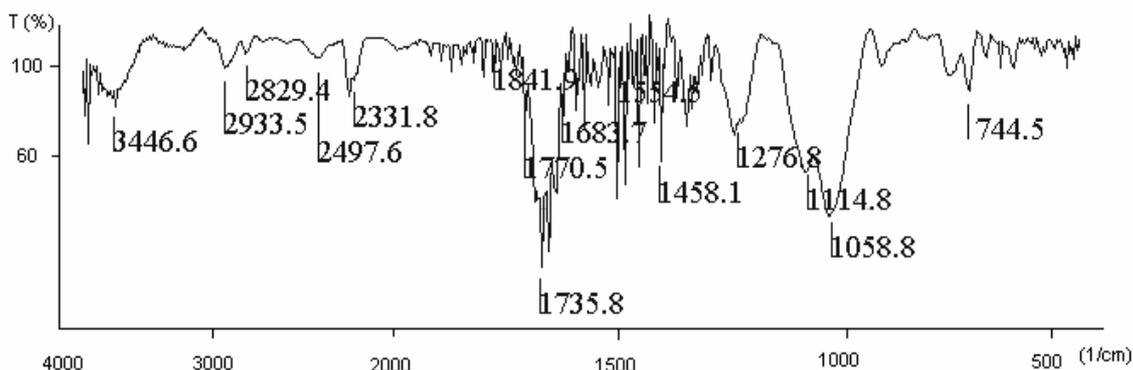


Figura 38: Espectro de HPMCP na região do infravermelho

A Figura 39 representa o espectro do HPMCP.MT (Mistura Física - MF) na região do infravermelho.

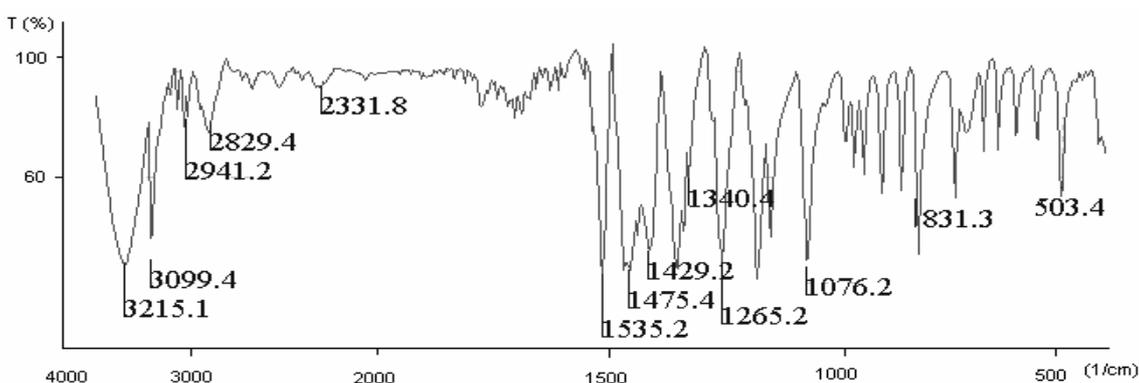


Figura 39: Espectro de MF de HPMCP.MT na região do infravermelho

O espectro do QS.HPMCP0,5.MT0,5 na região do infravermelho está representado na Figura 40. Pode-se observar um alargamento das bandas na região de  $3500$  a  $3000\text{ cm}^{-1}$  e aparecimento de uma banda em  $1400\text{ cm}^{-1}$ , característica do MT.

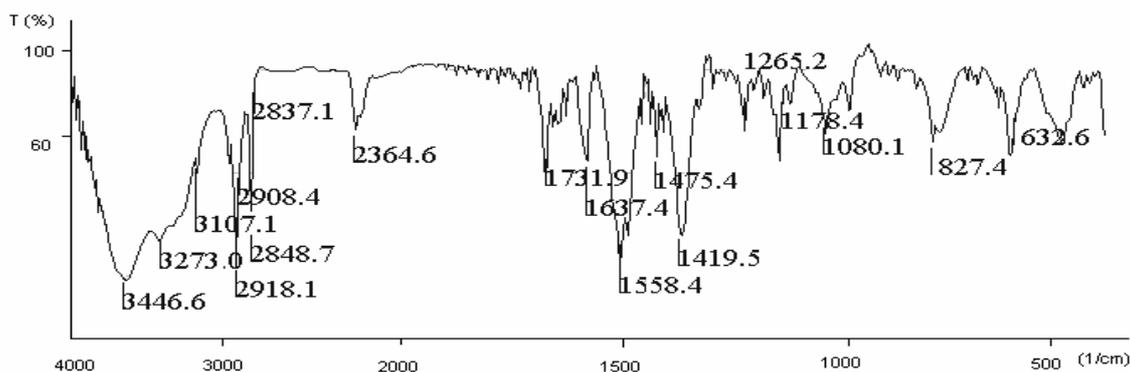


Figura 40: Espectro de QS.HPMCP0,5.MT0,5 na região do infravermelho

A Figura 41 representa o espectro do QS.CAP.MT0,5 na região do infravermelho. Pode-se observar um alargamento das bandas na região de 3500 a 3000  $\text{cm}^{-1}$  e aparecimento de uma banda em 1400  $\text{cm}^{-1}$ , característica do MT.

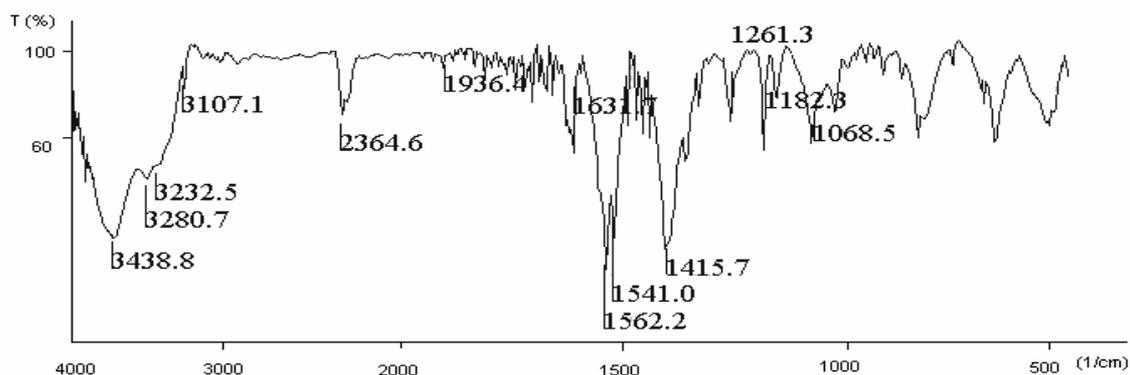


Figura 41: Espectro de QS.CAP.MT0,5 na região do infravermelho

As Figuras 42 a 45 representam o espectro das dispersões sólidas QS.CAP.HPMCP0,5.MT0,5; QS.CAP.HPMCP1.MT0,5; QS.CAP.HPMCP0,5MT1; QS.CAP.HPMCP1MT1 na região do infravermelho.

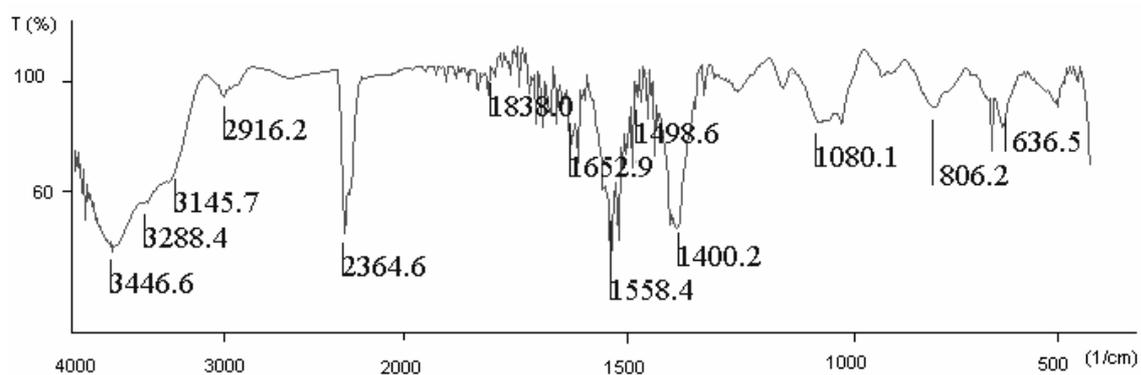


Figura 42: Espectro de QS.CAP.HPMCP0,5.MT0,5 na região do infravermelho

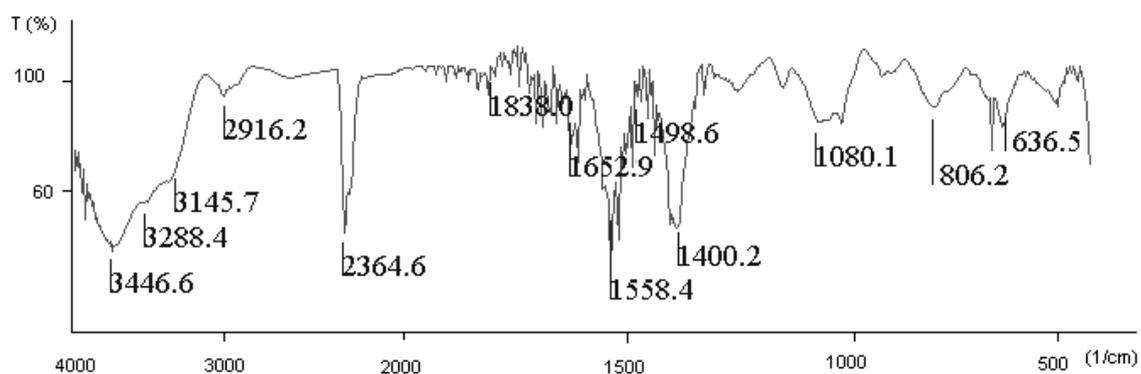


Figura 43: Espectro de QS.CAP.HPMCP1.MT0,5 na região do infravermelho

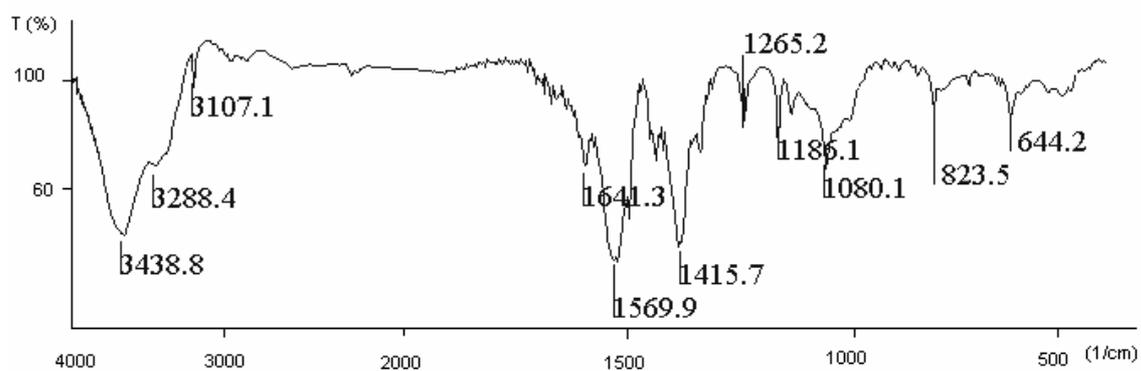


Figura 44: Espectro de QS.CAP.HPMCP0,5.MT1 na região do infravermelho

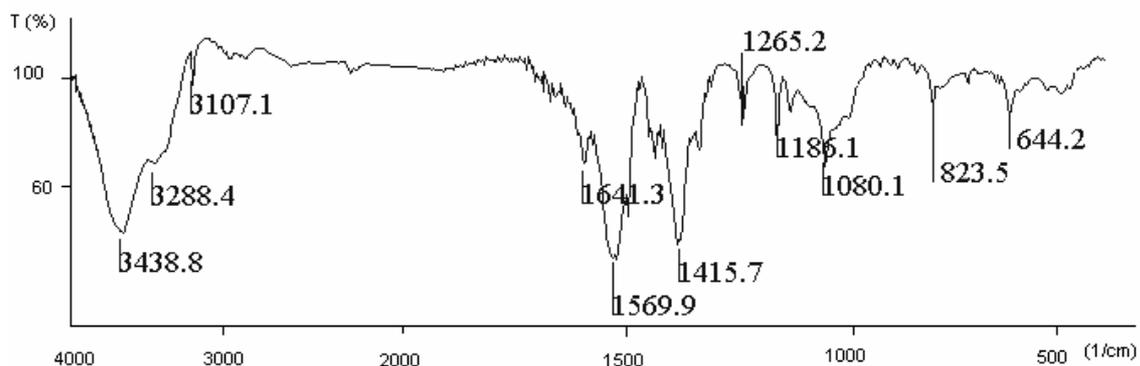


Figura 45: Espectro de QS.CAP.HPMCP1MT1 na região do infravermelho

Os espectros das dispersões sólidas e das misturas físicas apresentaram-se semelhantes aos espectros de cada constituinte isolado e os picos de absorção foram praticamente iguais ao dos constituintes, indicando que os constituintes das dispersões sólidas mantiveram-se inalterados, ou seja, não ocorreu interação química entre eles.

Isso indica a formação das dispersões sólidas, pois o fármaco está simplesmente distribuído nos demais constituintes da formulação.

## 5. CARACTERIZAÇÃO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS

### 5.1 Validação da metodologia analítica empregada para determinação do teor e eficiência de incorporação de MT por espectroscopia na região do UV

#### 5.1.1 Especificidade

O método empregado utilizou o comprimento de onda de 320nm, por ser o comprimento de máxima absorção de MT no tampão fosfato. A Figura 46 mostra o espectro de absorção na região do UV referente à solução de MT em tampão fosfato 50mM pH7,4, com e sem a presença dos polímeros, para verificação de interferência.

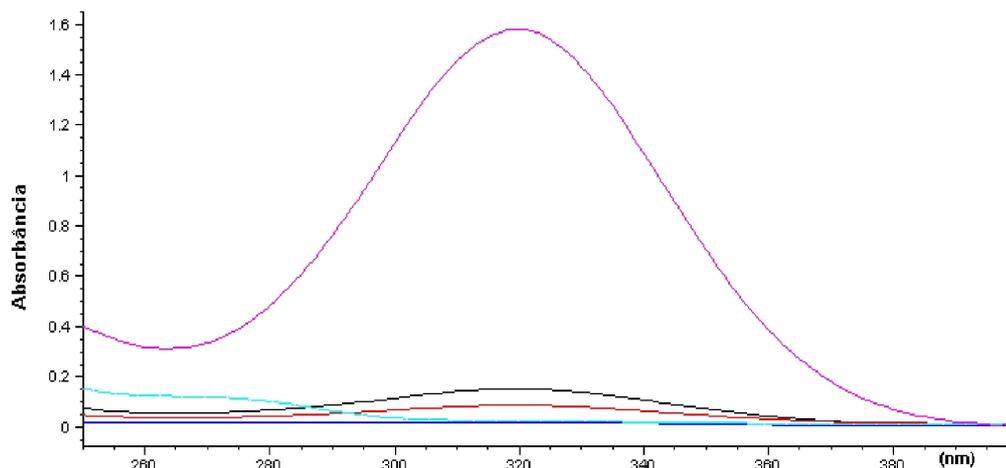


Figura 46: Especificidade do método de análise no espectro de absorção na região do UV: — Solução de 30µg/mL de MT; — solução de 20 µg/mL de MT com interferentes; — solução de 10µg/mL de MT com interferentes; — solução de 2,5µg/mL de MT com interferentes; — solução contendo 5mg de partículas

No estudo de especificidade do método para determinação do teor de fármaco, utilizou-se a solução de MT em tampão fosfato 50mM pH7,4 nas concentrações de 2,5, 10 e 20 µg/mL em presença de quantidades conhecidas de possíveis interferentes da matriz polimérica, ou seja solução de partículas inertes (sem MT). 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.

### 5.1.2 Linearidade

A linearidade do método de quantificação de MT por espectrometria na região do UV foi determinada através da construção da curva analítica em tampão fosfato 50mM pH 7,4, utilizando diferentes concentrações de MT, sendo a curva linear entre 0,625 e 30 µg/mL (Figura 15).

A regressão linear forneceu a equação da reta:

$$y = 0,05163x + 0,05256$$

$$R^2 = 0,99893$$

### 5.1.3 Precisão

A precisão foi avaliada através da análise de três níveis de concentração, baixa (2,5 µg/mL), média (10 µg/mL) e alta (30 µg/mL) (Tabela 9).

Tabela 9: Coeficiente de variação das amostras empregadas no teste de precisão (n=3)

Concentração (µg/mL)	Absorbância em 320nm			Média	Desvio Padrão	Coeficiente de Variação (%)
	N1	N2	N3			
2,5	0,149	0,148	0,149	0,149	0,00056	0,378
10	0,637	0,635	0,634	0,635	0,00162	0,254
30	1,849	1,845	1,844	1,846	0,00228	0,124

Os resultados apresentados na Tabela 9 indicam que o método proposto mostrou-se preciso para a quantificação de MT, obtendo-se um coeficiente de variação menor que 5% (ANVISA, 2003).

### 5.1.4 Recuperação

O percentual de recuperação do fármaco nas partículas é apresentado na Tabela 10. Os resultados mostram índices de recuperação adequados, dentro da faixa recomendada pela ANVISA (2003), cujo intervalo é de 80 a 120%.

Tabela 10: Percentual de recuperação de MT das dispersões sólidas (n = 3)

Quantidade MT adicionada (µg/mL)	Média Absorbância	Quantidade recuperada (µg/mL)	Recuperação (%)
5	0,307	4,944	98,890
10	0,635	11,298	112,981
30	1,846	34,742	115,809

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

Os valores obtidos na determinação dos limites de detecção e de quantificação estão apresentados na Tabela 11. Mostram que o método analítico é adequado para a quantificação de MT, obedecendo a faixa linear da curva analítica que foi de 0,625 a 30 µg/mL.

Tabela 11: Limites de detecção e quantificação de MT em 320nm (n= 3)

Parâmetros	Resultados
<b>Concentração (µg/mL)</b>	
1,25	0,106
2,5	0,149
5	0,307
<b>Desvio Padrão Médio</b>	0,0009
<b>Inclinação da Curva Analítica (<math>\alpha</math>)</b>	0,0525
<b>Limite de Detecção (LD)</b>	<b>0,0527</b>
<b>Limite de Quantificação (LQ)</b>	<b>0,1759</b>

### 5.2 Determinação do teor e eficiência de incorporação

Os resultados de teor e eficiência de incorporação do fármaco nas dispersões sólidas estão demonstrados na Tabela 12.

Tabela 12: Teor e eficiência de incorporação (n = 3)

<b>Amostra</b>	<b>Eficiência de Incorporação (%)</b>	<b>Teor de Incorporação (%)</b>
QS.CAP.HPMCP0,5.MT1	91,38	17,24
QS.CAP.HPMCP1.MT1	80,62	13,89
QS.CAP.HPMCP0,5.MT0,5	45,85	9,17
QS.CAP.HPMCP1.MT0,5	74,65	7,77
QS.HPMCP0,5.MT0,5	59,87	8,24
QS.CAP.MT0,5	72,60	9,97

Com base nos resultados apresentados na Tabela 12 verificou-se que a eficiência de incorporação cresceu com o aumento da quantidade de fármaco inicialmente adicionada.

Observa-se também que o sistema contendo fármaco a 0,5% associado ao HPMCP a 0,5% (menor concentração) apresentou menor eficiência de incorporação.

Amostras contendo apenas um dos polímeros entéricos apresentaram diferenças em relação à incorporação do fármaco. A amostra que continha apenas CAP incorporou mais o fármaco do que aquela com apenas o HPMCP a 0,5%.

## **6. ENSAIO DE LIBERAÇÃO IN VITRO DO FÁRMACO**

### **6.1 Ensaio de liberação do fármaco em meio gástrico simulado**

As Figuras 47 a 53 representam a liberação *in vitro* do MT das diferentes formulações em meio gástrico simulado. Os pontos experimentais e a regressão segundo o modelo de liberação de Peppas (eq. 7) foram plotados para o meio estudado. O ensaio foi realizado em triplicata.

A figura 47 representa o perfil de dissolução do fármaco livre no meio gástrico simulado.

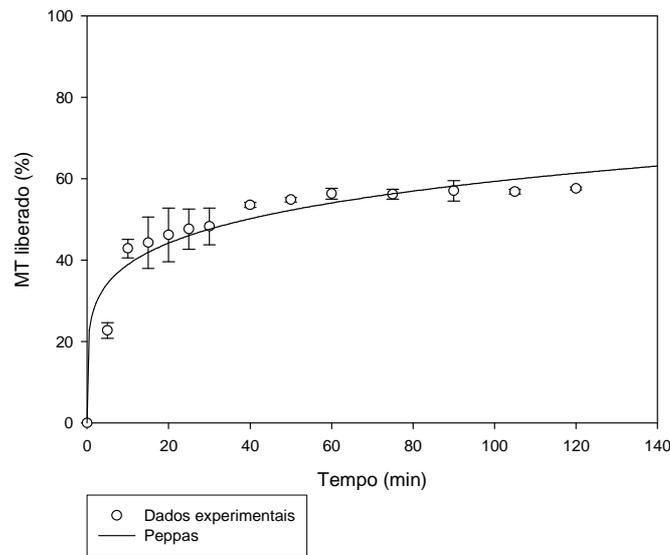


Figura 47: Dissolução de MT em meio gástrico simulado

As Figuras 48 e 49 representam o perfil de liberação do MT das dispersões sólidas QS.CAP.MT0,5 e QS.HPMCP0,5.MT0,5 respectivamente em meio gástrico simulado.

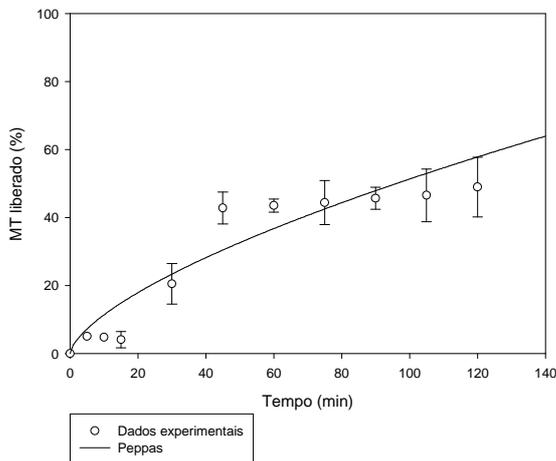


Figura 48: Liberação de QS.CAP.MT0,5 em meio gástrico simulado

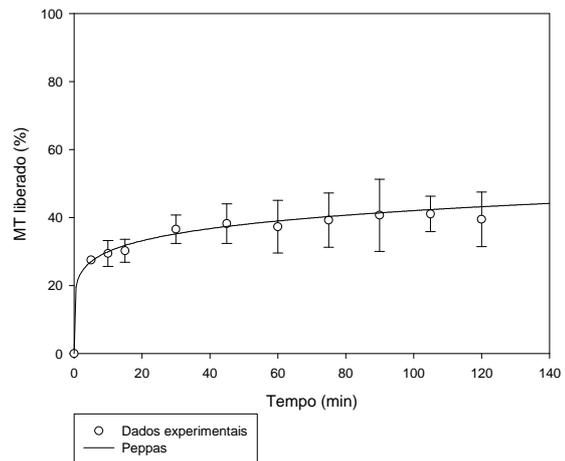


Figura 49: Liberação de QS.HPMCP0,5.MT0,5 em meio gástrico simulado

O perfil de liberação do MT de QS.CAP.HPMCP0,5.MT0,5 e QS.CAP.HPMCP1.MT0,5 em meio gástrico simulado estão, respectivamente, representados nas Figuras 50 e 51.

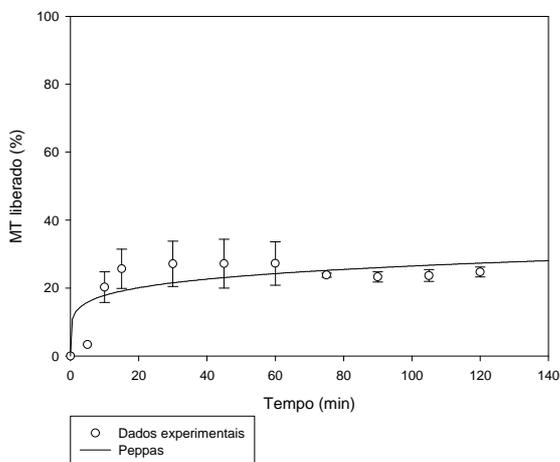


Figura 50: Liberação de QS.CAP.HPMCP0,5.MT0,5 em meio gástrico simulado

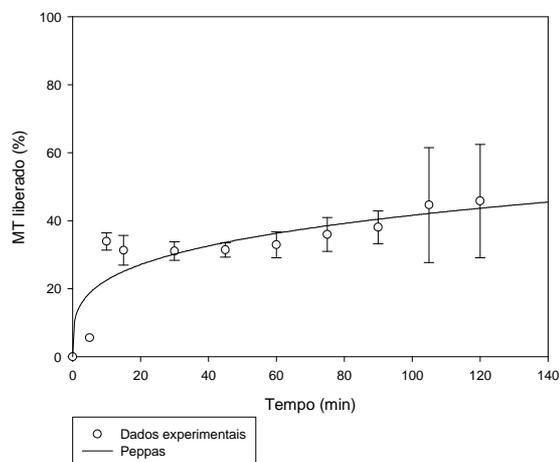


Figura 51: Liberação de QS.CAP.HPMCP1.MT0,5 em meio gástrico simulado

As Figuras 52 e 53 representam, respectivamente, o perfil de liberação do MT das dispersões sólidas QS.CAP.HPMCP0,5.MT1 e QS.CAP.HPMCP1.MT1 em meio gástrico simulado.

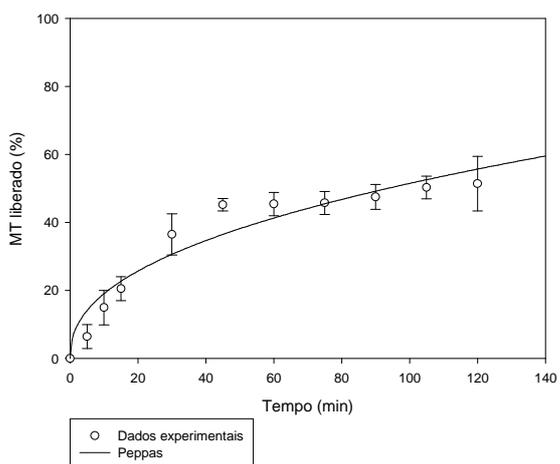


Figura 52: Liberação de QS.CAP.HPMCP0,5.MT1 em meio gástrico simulado

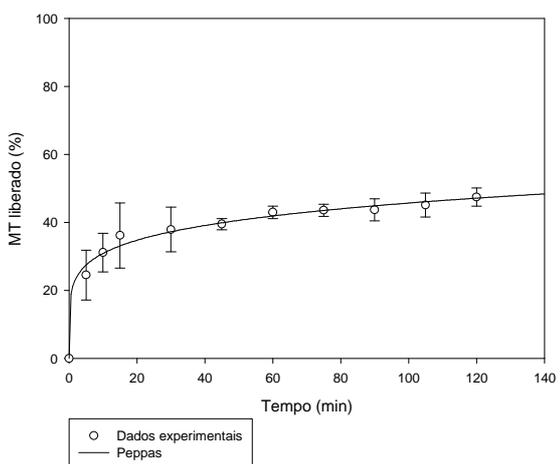


Figura 53: Liberação de QS.CAP.HPMCP1.MT1 em meio gástrico simulado

A Figura 54 representa a liberação das dispersões sólidas em meio gástrico. O fármaco livre apresentou dissolução de cerca de 60% em 2h de experimento. As amostras compostas por ambos os polímeros gastrorresistentes contendo MT a 1% apresentaram alta porcentagem de MT liberado, sendo que a que contém HPMCP a 0,5% liberou cerca de 50% do fármaco. A amostra que contém HPMCP a 1% liberou cerca de 45% do fármaco. As amostras que continham MT a 0,5% apresentaram perfil de liberação de aproximadamente 40% e 25% com HPMCP 1% e 0,5%, respectivamente. Já a amostra que contém apenas HPMCP a 0,5% liberou 35% do MT no mesmo tempo de experimento.

A amostra que continha apenas o CAP como polímero gastrorresistente apresentou 45% de liberação do fármaco durante o experimento.

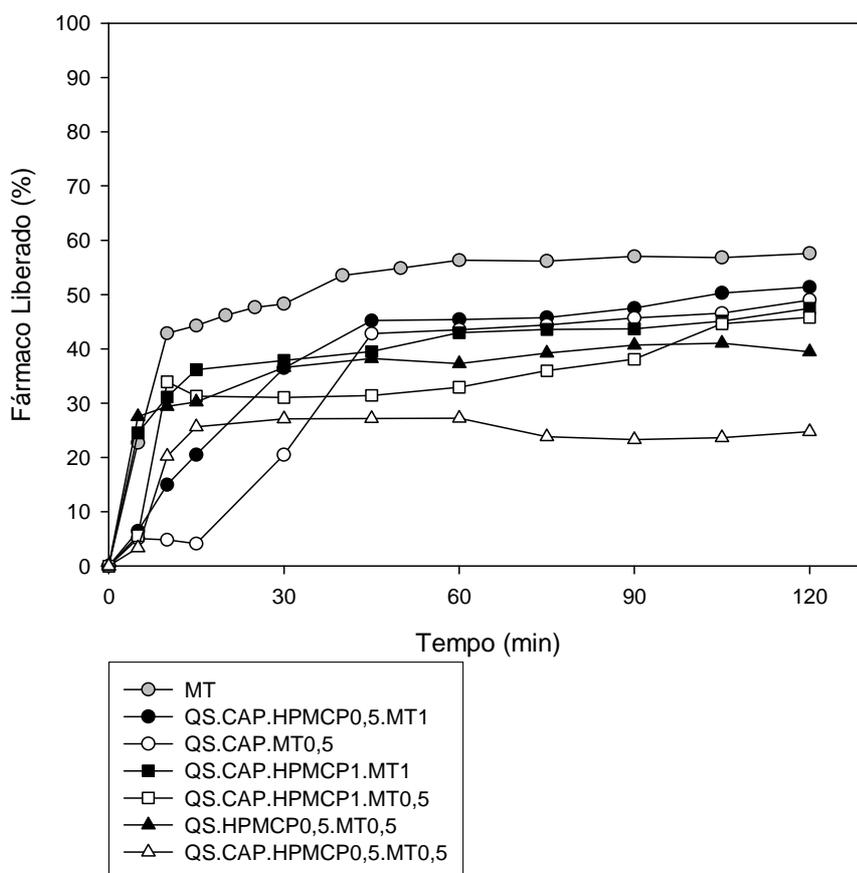


Figura 54: Perfil de liberação das dispersões sólidas em meio gástrico simulado.

## 6.2 Ensaio de liberação do fármaco em meio entérico simulado

As figuras 55 a 61 representam a liberação *in vitro* do MT das diferentes formulações em meio entérico simulado. Os pontos experimentais e a regressão segundo a equação de Peppas (eq. 7), cujo expoente  $n$  indica o mecanismo de liberação do processo, e segundo a equação de Weibull (eq. 8), cujo expoente  $b$  indica o mecanismo de transporte do fármaco através da matriz polimérica, foram plotados. O ensaio foi realizado em triplicata.

A figura 55 representa o perfil de dissolução do fármaco livre em meio entérico simulado.

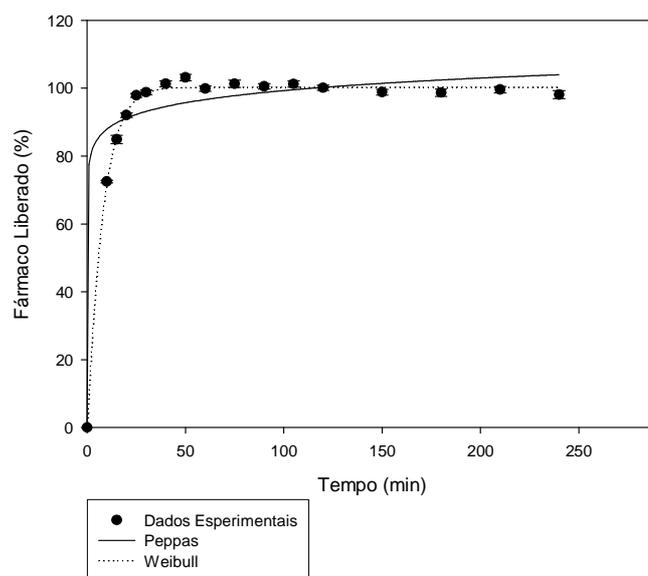


Figura 55: Dissolução de MT em meio entérico simulado

As Figuras 56 e 57 representam o perfil de liberação do MT das dispersões sólidas QS.CAP.MT0,5 e QS.HPMCP0,5.MT0,5, respectivamente, em meio entérico simulado.

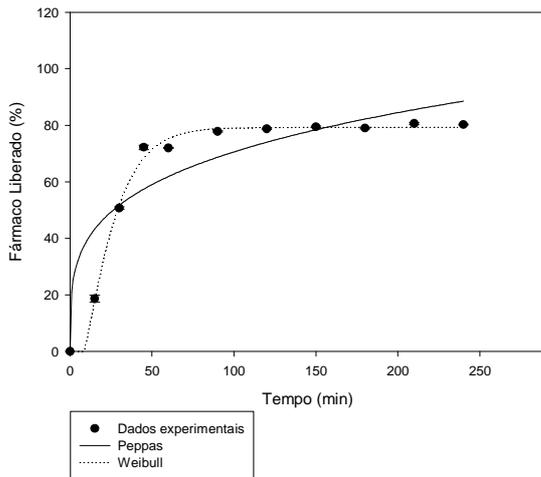


Figura 56: Liberação de QS.CAP.MT0,5 em meio entérico simulado

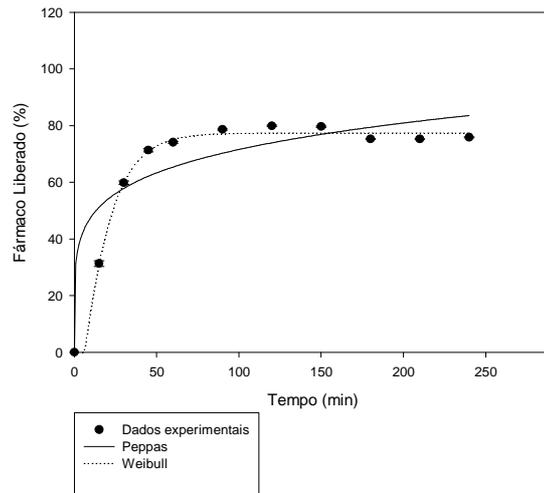


Figura 57: Liberação de QS.HPMCP0,5.MT0,5 em meio entérico simulado

O perfil de liberação do MT de QS.CAP.HPMCP0,5.MT0,5 e QS.CAP.HMPCP1.MT0,5 em meio entérico simulado estão representados nas Figuras 58 e 59.

As Figuras 60 e 61 representam, respectivamente, o perfil de liberação do MT das dispersões sólidas QS.CAP.HPMCP0,5.MT1 e QS.CAP.HPMCP1.MT1 em meio entérico simulado.

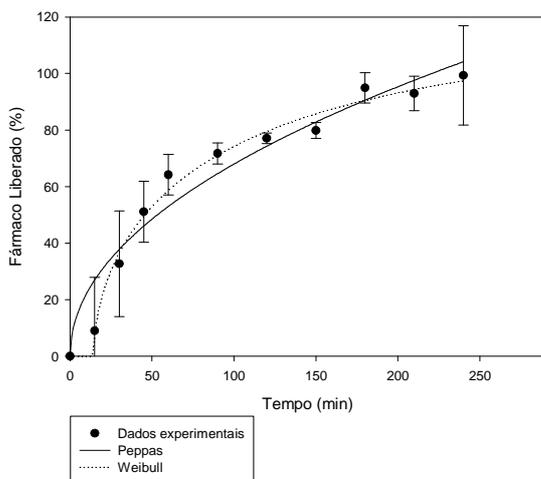


Figura 58: Liberação de QS.CAP.HPMCP0,5.MT0,5 em meio entérico simulado

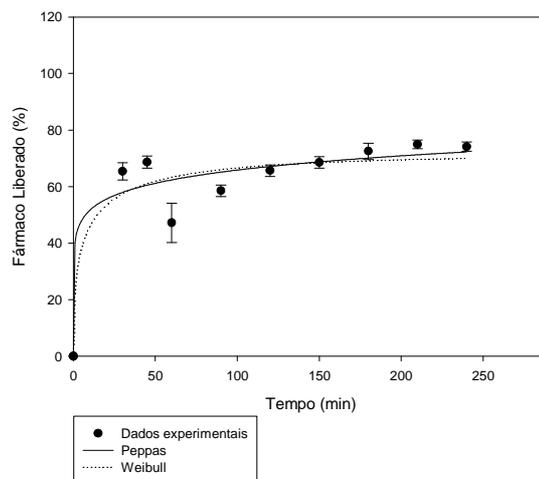


Figura 59: Liberação de QS.CAP.HPMCP1.MT0,5 em meio entérico simulado

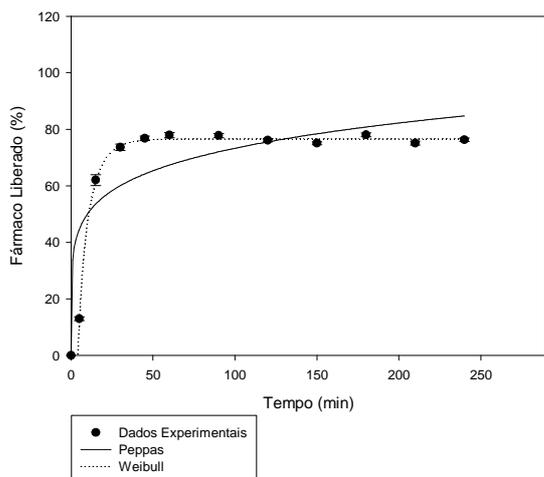


Figura 60: Liberação de QS.CAP.HPMCP0,5.MT1 em meio entérico simulado

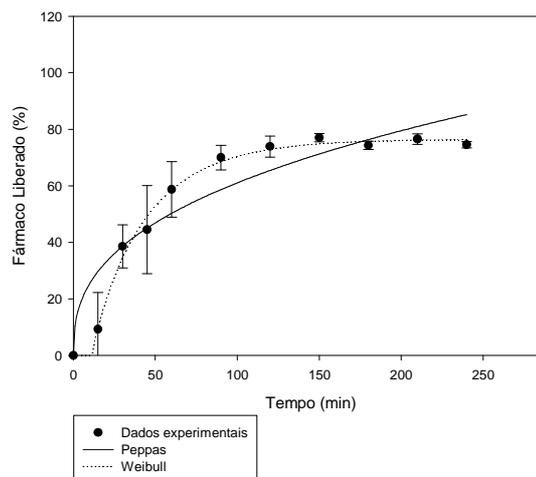


Figura 61: Liberação de QS.CAP.HPMCP1.MT1 em meio entérico simulado

O ensaio de liberação em meio entérico simulado mostrou que mais de 50% do fármaco foram liberados durante 4h de ensaio, sendo que em praticamente 1h de experimento essa porcentagem foi atingida.

O fármaco livre apresentou 100% de dissolução em 1h de experimento. As amostras que continham apenas um dos polímeros gastrorresistentes, ou CAP, ou HPMCP, apresentaram ambas 80% de liberação do fármaco durante as 4h de experimento.

As amostras que continham todos os polímeros apresentaram perfis de liberação diversos, sendo que aquelas que continham HPMCP a 0,5% apresentaram maior porcentagem de liberação do fármaco. Neste caso, a amostra contendo MT a 0,5% liberou 100% do fármaco durante o experimento, enquanto que a amostra que contém fármaco a 1%, teve liberação de 80% em 4h.

Já as amostras que continham HPMCP a 1% apresentaram menor porcentagem de liberação do MT. A amostra que contém MT a 0,5% apresentou 70% de fármaco liberado, enquanto que a que contém MT a 1% liberou 75% do fármaco durante as 4h em que o experimento foi realizado.

### 6.3 Ensaio de liberação do fármaco em meio colônico simulado

As Figuras 62 a 68 representam a liberação *in vitro* do MT das diferentes formulações em meio colônico simulado. Os pontos experimentais e as regressões segundo as equações de Peppas (eq. 7) e de Weibull (eq. 8) foram plotados. O ensaio foi realizado em triplicata.

A Figura 62 representa o perfil de dissolução do fármaco livre no meio colônico simulado contendo pectinase.

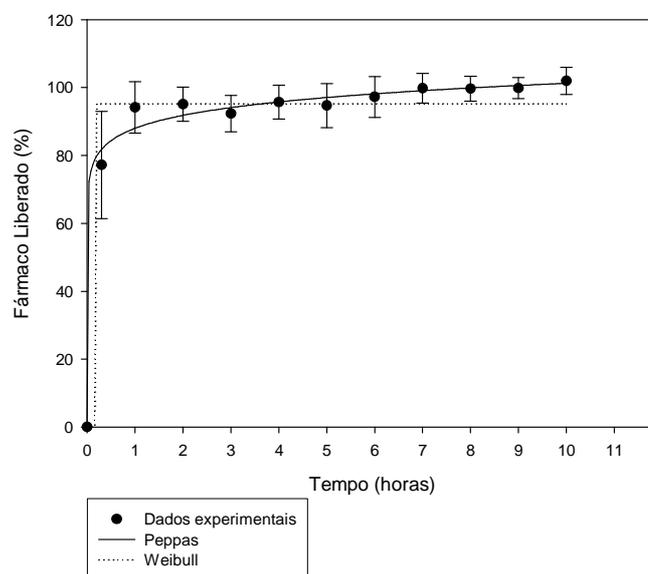


Figura 62: Dissolução de MT em meio colônico simulado

As Figuras 63 e 64 representam o perfil de liberação do MT de QS.CAP.MT0,5 e QS.HPMCP0,5.MT0,5, respectivamente, em meio colônico simulado.

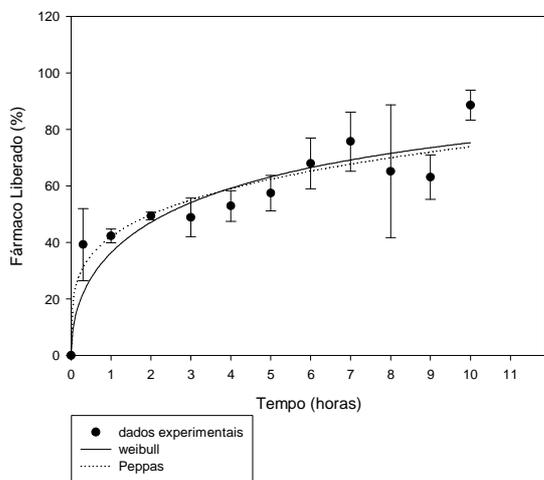


Figura 63: Liberação de QS.CAP.MT0,5 em meio colônico simulado

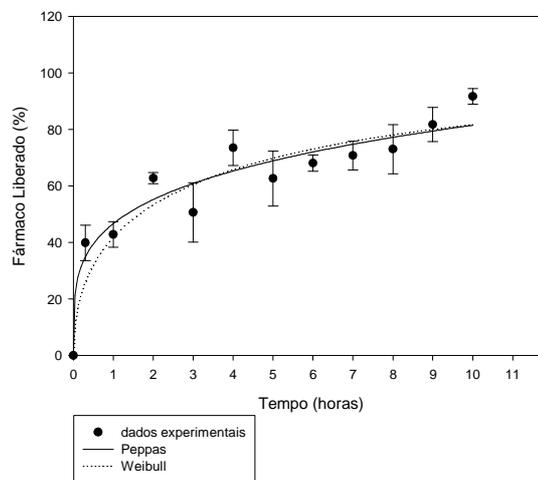


Figura 64: Liberação de QS.HPMCP0,5.MT0,5 em meio colônico simulado

O perfil de liberação de MT a partir de QS.CAP.HPMCP0,5.MT0,5 e QS.CAP.HPMCP1.MT0,5 em meio colônico simulado está, respectivamente, representado nas Figuras 65 e 66.

As Figuras 67 e 68 representam, respectivamente, o perfil de liberação do MT de QS.CAP.HPMCP0,5.MT1 e QS.CAP.HPMCP1.MT1 em meio colônico simulado.

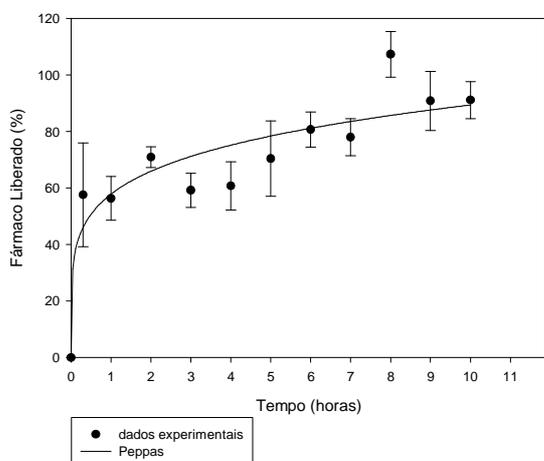


Figura 65: Liberação de QS.CAP.HPMCP0,5.MT0,5 em meio colônico simulado

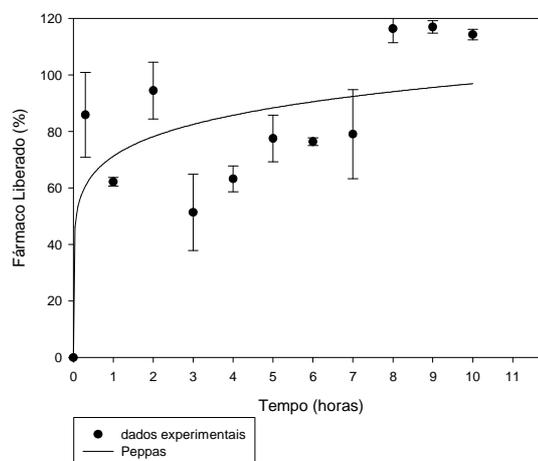


Figura 66: Liberação de QS.CAP.HPMCP1.MT0,5 em meio colônico simulado

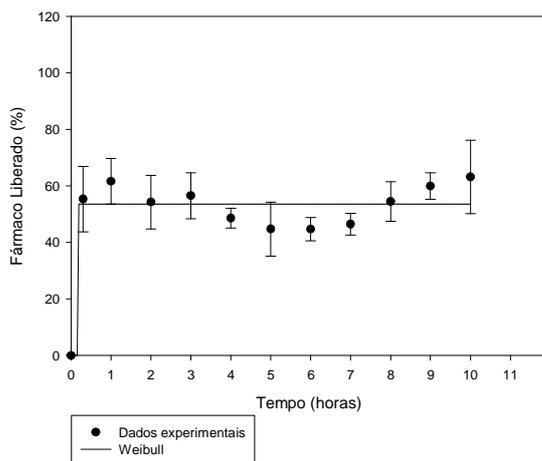


Figura 67: Liberação de QS.CAP.HPMCP0,5.MT1 em meio colônico simulado

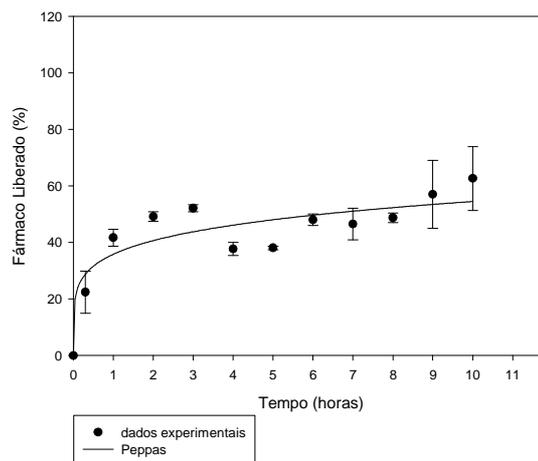


Figura 68: Liberação de QS.CAP.HPMCP1.MT1 em meio colônico simulado

As amostras foram analisadas quanto ao seu perfil de liberação em meio colônico simulado utilizando a enzima pectinase. Essa enzima está presente no colón e é capaz de degradar a QS presente nas dispersões sólidas. O ensaio foi realizado durante 10h e os resultados obtidos indicam que esse tempo não foi suficiente para liberar 100% de MT em todas as amostras.

O fármaco livre foi totalmente dissolvido em 1h de experimento. As amostras que continham apenas um dos polímeros gastrorresistentes (CAP ou HPMCP) apresentaram porcentagem de liberação de 90% do MT durante as 10h de análise.

As amostras que continham menor quantidade de fármaco (0,5%) apresentaram maior porcentagem de liberação neste meio, sendo que aquela que continha HPMCP a 0,5% liberou 90% do fármaco e a amostra que continha HPMCP a 1% liberou 100% do MT durante as 10h do experimento.

Já as amostras que continham MT a 1% liberaram apenas 65% do fármaco ao longo do experimento, independente da concentração de HPMCP da amostra.

#### 6.4 Análise dos mecanismos de liberação in vitro do fármaco

Em 1897, Noyes e Whitney estabeleceram, com base na segunda lei de difusão de Fick, a relação entre a velocidade de dissolução, a solubilidade máxima do soluto (ou constante de saturação), e a concentração ao tempo  $t$  (DIGHE, 1993; FARINHA; PAIS; BICA, 1997):

$$\frac{dC}{dt} = K(C_s - C_t) \quad (\text{eq. 4})$$

Em 1904, Nernst e Brunner modificaram a equação de Noyes e Whitney, tendo incluído como parâmetros influentes no processo o coeficiente de difusão (D), a área de superfície (S), a espessura da camada de difusão ( $h$ ) e o volume do meio de dissolução (V) (FARINHA *et al.*, 2000; FARINHA; PAIS; BICA 1997):

$$\frac{dC}{dt} = K \frac{DS}{Vh} (C_s - C_t) \quad (\text{eq. 5})$$

Esta é a teoria da velocidade de dissolução com maior aceitação e dela se constata que quando o volume do meio de dissolução é suficientemente grande de modo que  $t \ll C_s$  (normalmente  $< 10\%$ ), considera-se que a concentração do soluto no solvente não afeta a velocidade de dissolução. As determinações da velocidade de dissolução têm que ser feitas respeitando sempre esta condição (FARINHA; PAIS; BICA, 1997).

A interpretação quantitativa dos valores obtidos nos ensaios de dissolução é facilitada pela utilização de uma equação genérica, que traduz matematicamente a curva de dissolução em função de alguns parâmetros relacionados com a forma farmacêutica. Em alguns casos, essa equação pode ser deduzida através de uma análise teórica do processo, como numa cinética de ordem zero. Na maioria dos casos, porém, não existe um fundamento teórico, sendo usada uma equação empírica mais adequada. O tipo de fármaco, a sua forma polimórfica, cristalinidade, tamanho de partícula,

solubilidade e quantidade incorporada na forma farmacêutica podem influenciar a cinética de liberação (COSTA; LOBO, 2001b; EL ARINI; LEUENBERGER, 1995; SALOMON; DOELKER, 1980).

Os perfis de liberação foram plotados na forma de gráficos relacionando a porcentagem de fármaco liberado em relação ao tempo de ensaio.

Os perfis de liberação foram analisados através da utilização de modelos matemáticos com o objetivo de descrever a liberação do fármaco a partir da forma farmacêutica que o continha (OFOEFULE; OKOLI;CHUKWU, 2000).

Um método bastante utilizado para escolher o melhor modelo de liberação de fármacos é o coeficiente de correlação  $R^2$ . Contudo, este valor tende a tornar-se maior com a adição de mais parâmetros. Por isso, quando se compara modelos com vários parâmetros, é mais correto utilizar o coeficiente de correlação ajustado, descrito na eq. 6. (COSTA, 2001).

$$R_{\text{ajustado}}^2 = 1 - \frac{(n-1)}{(n-p)}(1-R^2) \quad (\text{eq. 6})$$

Onde  $n$  é o número de pontos dos dados da dissolução e  $p$  é o número de parâmetros do modelo. Então, o modelo matemático que melhor descreve o perfil de liberação será aquele que apresentar o maior coeficiente de correlação ajustado.

Os modelos que mais se adequaram à liberação do MT das dispersões sólidas foram o de Korsmeyer-Peppas e o de Weibull.

Korsmeyer e colaboradores (1983) desenvolveram um modelo simples e semi-empírico, baseado na Lei das Potências, que relaciona exponencialmente a liberação do fármaco com o tempo (eq.7).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad (\text{eq. 7})$$

Onde  $k$  é uma constante que incorpora características estruturais e geométricas da forma farmacêutica,  $n$  é o expoente de liberação, indicativo do mecanismo de liberação do fármaco, e a função de  $t$  é  $M_t/M_\infty$  (liberação fracional do fármaco).

As Tabelas 13, 14 e 15 relacionam os parâmetros da equação de Peppas obtidos para o ensaio de liberação do fármaco em meio gástrico, entérico e colônico simulados, respectivamente.

Tabela 13: Parâmetros da equação de Peppas para os dados de liberação *in vitro* do MT em meio gástrico simulado.

<b>Lote</b>	<b><math>R^2</math> ajustado</b>	<b><math>k</math></b>	<b>n</b>
MT	0,9926	25,5045	0,1833
QS.CAP.MT0,5	0,9489	2,5364	0,6530
QS.HPMCP0,5.MT0,5	0,9931	21,3640	0,1470
QS.CAP.HPMCP0,5.MT0,5	0,9372	12,0111	0,1717
QS.CAP.HPMCP1.MT0,5	0,9613	12,2095	0,2662
QS.CAP.HPMCP0,5.MT1	0,9816	7,0650	0,4312
QS.CAP.HPMCP1.MT1	0,9983	20,9023	0,1699

Tabela 14: Parâmetros da equação de Peppas para os dados de liberação *in vitro* do MT em meio entérico simulado.

<b>Lote</b>	<b><math>R^2</math> ajustado</b>	<b><math>k</math></b>	<b>n</b>
MT	0,9961	77,8545	0,0528
QS.CAP.MT0,5	0,9812	31,6847	0,177
QS.HPMCP0,5.MT0,5	0,9728	21,4576	0,2586
QS.CAP.HPMCP0,5.MT0,5	0,9854	7,1945	0,4876
QS.CAP.HPMCP1.MT0,5	0,9872	40,4107	0,106
QS.CAP.HPMCP0,5.MT1	0,9636	34,1632	0,1657
QS.CAP.HPMCP1.MT1	0,9739	10,5831	0,3805

Tabela 15: Parâmetros da equação de Peppas para os dados de liberação *in vitro* do MT em meio colônico simulado.

Lote	$R^2$ ajustado	$k$	$n$
MT	0,999	88,0156	0,0609
QS.CAP.MT0,5	0,9837	42,1486	0,2439
QS.HPMCP0,5.MT0,5	0,9886	46,6471	0,242
QS.CAP.HPMCP0,5.MT0,5	0,9797	57,789	0,1891
QS.CAP.HPMCP1.MT0,5	0,9406	71,2093	0,1337
QS.CAP.HPMCP0,5.MT1	—	—	—
QS.CAP.HPMCP1.MT1	0,9751	35,8181	0,182

Peppas utilizou este valor de  $n$  para caracterizar diferentes mecanismos de liberação. Este modelo é genericamente utilizado para analisar a liberação de formas farmacêuticas poliméricas e tem sido usado com muita frequência para descrever a liberação do fármaco a partir de diversos tipos de sistemas de liberação modificada (PEPPAS, 1985).

Este modelo é visto como uma generalização de dois mecanismos de transporte de fármacos, difusão Fickiana e transporte caso-II (em função do intumescimento). Quando o expoente  $n$  é 1,0, a taxa de liberação do fármaco é independente do tempo, correspondendo à cinética de ordem zero. Para estruturas de formas cilíndrica ou esférica esse mecanismo de liberação é conhecido como transporte caso-II. Neste caso, o processo de relaxamento das macromoléculas que ocorre através da embebição de água no sistema é o passo controlador. A água age como um plastificante, diminuindo a temperatura de transição vítrea do polímero, aumentando a mobilidade das macromoléculas e expandindo o volume (SIEPMANN; PEPPAS, 2001). Já o transporte anômalo ocorre quando a difusão e o relaxamento da cadeia polimérica são simultâneos.

A equação da lei das potências relaciona dois casos: quando  $n = 0,5$  indica liberação do fármaco controlada por difusão e quando  $n = 1,0$  indica liberação controlada pelo intumescimento. Valores entre 0,5 e 1,0 indicam sobreposição dos dois fenômenos, chamado de transporte anômalo. Para

estruturas com outras formas geométricas utilizam-se outros valores de  $n$  como padrão (Tabela 16) (PEPPAS, 1985).

Tabela 16. Interpretação dos mecanismos de liberação de fármacos segundo a equação de Peppas (PEPPAS, 1985).

Expoente $n$			Mecanismo de liberação
Filmes	Cilindros	Esferas	
0,5	0,45	0,43	Difusão Fickiana
$0,5 < n < 1,0$	$0,45 < n < 0,89$	$0,43 < n < 0,85$	Transporte anômalo
1,0	0,89	0,85	Transporte caso-II (intumescimento)

Analisando os parâmetros obtidos com a aplicação do modelo de Peppas nos gráficos de liberação do MT em meio gástrico, observa-se que as dispersões sólidas QS.CAP.MT0,5 e QS.CAP.HPMCP0,5.MT1 apresentaram  $n$  entre 0,43 e 0,85, indicando que o mecanismo de liberação do MT se deve à difusão e ao intumescimento simultaneamente. Já as demais amostras apresentaram  $n$  menor que 0,43, indicando que a liberação do MT é devida à difusão Fickiana.

A primeira lei de Fick mostra que o fluxo de difusão é proporcional ao gradiente de concentração. Alguns fatores que determinam a liberação controlada pela difusão são a difusibilidade, coeficiente de partição e solubilidade; além do fator geométrico da forma farmacêutica (FAN; SINGH, 1989).

A difusibilidade ou coeficiente de difusão é uma constante de proporcionalidade, que pode ser estabelecida em função da concentração ou de variáveis físicas. Essas variáveis estão relacionados à estrutura do polímero, como a existência de volume livre entre as cadeias poliméricas, que permite a difusão do fármaco. (FAN; SINGH, 1989).

A solubilidade do polímero e do fármaco está relacionada com sua natureza química e com o tamanho das partículas. No caso das dispersões sólidas, nas quais as partículas do fármaco pouco solúvel são de tamanho

reduzido e altamente dispersas numa matriz polimérica solúvel, a taxa de dissolução do fármaco é aumentada. Partículas de pequeno tamanho (da ordem de  $\mu\text{m}$ ) apresentam maior superfície de contato com o meio, sendo dissolvidas mais rapidamente (FAN; SINGH, 1989; LEUNER; DRESSMAN, 2000).

Uma equação empírica genérica descrita por Weibull, em 1951, foi adaptada para os processos de dissolução/liberação de fármacos por Langenbucher (1972). Esta equação pode ser aplicada com sucesso a quase todos os tipos de curvas de dissolução e é normalmente usada nestes estudos (COSTA; LOBO, 2001b). Quando aplicada à liberação do fármaco a partir de formas farmacêuticas a equação de Weibull exprime a fração cumulativa do fármaco na solução ao tempo  $t$ .

$$m = 1 - \exp\left[\frac{-(t - T_i)^b}{a}\right] \quad (\text{Eq. 8})$$

Onde  $a$  define a escala temporal do processo,  $T_i$  representa o intervalo de tempo antes do início do processo de dissolução ou de liberação (na maioria das vezes é zero),  $b$  é o parâmetro de forma que caracteriza a curva como sendo exponencial ( $b=1$ ; cinética de primeira ordem), sigmóide ( $b>1$ ; cinética rápida) ou parabólica ( $b<1$ ; cinética lenta).

Contudo, por ser um modelo empírico, existem algumas deficiências, como o fato de não haver um fundamento cinético, ou seja, as propriedades cinéticas da dissolução do fármaco podem ser apenas descritas, mas não adequadamente caracterizadas. Ainda, não há parâmetros relacionados com a taxa de dissolução intrínseca do fármaco; e há limitações para se estabelecer relações *in vitro/in vivo*.

A Tabela 17 relaciona os parâmetros da equação de Weibull obtidos para os ensaios de liberação do fármaco nos meios estudados. A liberação do MT no meio gástrico simulado foi analisada apenas através do modelo de Peppas, já que a equação de Weibull apresentou baixo coeficiente de correlação ajustado neste meio.

Tabela 17. Parâmetros da equação de Weibull para os dados de liberação *in vitro* do MT nos meios entérico e colônico simulados.

Lotes	Meio Entérico		Meio Colônico	
	$R^2$ ajustado	$b$	$R^2$ ajustado	$b$
MT	0,9998	8,0411	0,9933	4,8827
QS.CAP.MT0,5	0,9992	16,639	0,9701	4,575
QS.HPMCP0,5.MT0,5	0,9991	20,4869	0,9798	3,7479
QS.CAP.HPMCP0,5.MT0,5	0,9966	87,98	—	—
QS.CAP.HPMCP1.MT0,5	0,9805	9,2105	—	—
QS.CAP.HPMCP0,5.MT1	0,9997	5,9409	0,9793	5,0583
QS.CAP.HPMCP1.MT1	0,9979	32,6096	—	—

Os lotes QS.CAP.HMPCP0,5.MT0,5; QS.CAP.HPMCP1.MT0,5 e QS.CAP.HPMCP1.MT1 apresentaram baixos valores de coeficiente de correlação ajustado, e portanto não foram analisados segundo o modelo de Weibull.

Neste modelo, o valor do expoente  $b$  é o indicador do mecanismo de transporte do fármaco através da matriz polimérica. Estimativas para valores de  $b$  menores que 0,75 indicam difusão segundo Fick. Para valores de  $b$  entre 0,75 e 1 estão associados dois mecanismos, a difusão Fickiana e o transporte caso II (através do intumescimento), e finalmente, para valores maiores que 1, o transporte do fármaco se deve a um complexo mecanismo de liberação, onde vários processos, como difusão, intumescimento e erosão (degradação), podem ocorrer simultaneamente (PAPADOPOULOU et al., 2006).

O ensaio de liberação nos meios entérico e colônico simulados caracterizou-se por apresentar valores do expoente  $b$  maiores que 1, indicando que o transporte do fármaco se deve a um mecanismo complexo de liberação. Também é verificada a obtenção de uma curva sigmoideal, representando rápida liberação do fármaco.

## CONCLUSÕES

No presente trabalho foram desenvolvidas dispersões sólidas através do método de evaporação de solvente, contendo QS e polímeros gastrorresistentes (CAP e HPMCP). Houve dificuldade na seleção de um solvente capaz de dispersar todos os constituintes, sendo necessária a utilização de mais de um solvente. Porém, a utilização dos solventes escolhidos gerou a formação de resíduos nas amostras. A quantidade de resíduos formados foi devidamente quantificada, a fim de evitar possíveis erros na quantificação do fármaco.

A caracterização morfológica e granulométrica das partículas das dispersões sólidas foi realizada com a utilização de estereoscópio. As partículas apresentaram forma irregular. O tamanho das partículas foi medido e todas as amostras estavam em faixas granulométricas semelhantes, estando mais de 50% das partículas na faixa de distribuição de tamanho entre 0,003 e 0,06 mm. Estes resultados indicam que a dissolução poderá ser facilitada devido ao aumento considerável da área superficial disponível.

As dispersões sólidas foram analisadas por espectrofotometria no UV e IV. Os espectros no UV demonstraram a especificidade do método de quantificação do fármaco. Os espectros no IV demonstraram que as bandas características de cada componente se mantiveram, indicando que não houve reações químicas entre os constituintes.

Foram observadas diferenças significativas no comportamento de intumescimento entre os meios gástrico e entérico simulados para algumas amostras. O CAP apresentou aumento significativo de intumescimento na presença de QS nos dois meios estudados. Esse mesmo resultado não foi obtido com o HPMCP, que manteve igual o perfil de intumescimento no meio gástrico e menor taxa de intumescimento na presença de QS no meio entérico.

O estudo de dissolução do fármaco foi realizado em meio gástrico simulado. Foi observado que, durante 2h de experimento, 60% de fármaco livre foi liberado. Isso se deve à baixa solubilidade do metronidazol e à necessidade de um tempo maior de ensaio. Nas dispersões sólidas, durante o mesmo período de tempo, 25 a 45% de fármaco foi liberado das amostras no meio gástrico simulado. No ensaio

de liberação no meio entérico simulado, acima de 70% do fármaco foi liberado das dispersões sólidas durante 4h de experimento. Esses resultados dão um indício da gastroresistência obtida pela utilização dos polímeros entéricos no desenvolvimento das dispersões sólidas. No ensaio de liberação no meio colônico simulado, a maioria das amostras apresentou taxa de liberação do fármaco acima de 90%, exceto aquelas que continham MT a 1%, na qual houve 65% de fármaco liberado em 10h de experimento. Esses resultados indicam que a concentração do fármaco presente na dispersão sólida influencia a sua liberação, tornando-a, assim, mais prolongada.

Os mecanismos de liberação *in vitro* do fármaco foram analisados através de modelos matemáticos de liberação. Os modelos utilizados para a análise foram os de Korsmeyer-Peppas e o de Weibull. Com a utilização dos parâmetros desses modelos, foi possível concluir que a liberação do fármaco das dispersões sólidas se deve a um mecanismo complexo de liberação, no qual vários processos estão envolvidos, como difusão, intumescimento e erosão, que podem ocorrer simultaneamente.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

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

AGNIHOTRI, S. A.; MALLIKARJUNA, N. N.; AMINABHAVI, T. M. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. *J. Control. Release*, v. 100, p. 5-28, 2004.

ALDEN, M.; TEGENFELDT, J.; SJOKVIST, E. Structure of solid dispersions in the system polyethylenoglycol-griseofulvin with additions of sodium dodecyl sulfate. *Int J Pharm.* v. 83, p.47-52, 1992.

ALDEN, M.; TEGENFELDT, J.; SJOKVIST, E. Structures formed by interaction in solid dispersions of the system polyethylenoglycol-griseofulvin with charged and non charged surfactants added. *Int J Pharm.* v. 94, p.31-38, 1993.

ASHFORD, M., & FELL, J.T. Targeting drugs to the colon: delivery systems for oral administration. *J. Drug Target.*, v.2, p. 241-257, 1994.

BANERJEE, T.; MITRA, S.; SING, A.K.; SHARMA, R.K.; MAITRA, A. Preparation, characterization and biodistribution of ultrafine chitosan nanoparticles. *Int. J. Pharm.*, v.243, p.93-105, 2002.

BARBER, T.A. *Pharmaceutical Particulate Matter. Analysis and Control*. 1993.

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

BERTHOLD, A.; CREMER, K.; KREUTER, J. Preparation and characterization of chitosan microspheres as drug carrier for prednisolone sodium phosphate as model for antiinflammatory drugs. *J. Control. Release*, v.39, p.17-25, 1996.

BLOCH, D.W.; ELEGAKEY, M.A.; SPEISER, P. Spray dried solid dispersion of hydrochlorothiazide and chlortalidone in pentaerythritol. *Pharm Acta Helv.* V. 58, p.14-22, 1983.

BORCHARD, G.; JUNGINGER, H.E. Modern drug delivery applications of chitosan. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, v.52, p.103, 2001.

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

BUGAY, D. E.; FINDLAY, W. P. *Pharmaceutical Excipients: characterization by IR, Raman and NMR spectroscopy*. Marcel Dekker, 1999.

CARCAMANO, E.C.; GANA, I.M. Eutetic mixtures and solid solution of acetylsalicylic acid and urea. Stability of acetylsalicylic acid. *Ann. Rev. Academic Farm.* V. 40, p.487-493, 1974 .

CHANDY, T.; SHARMA, C.P. Chitosan matrix for oral sustained delivery of ampicillin. *Biomaterials*, v.14, p.939-944, 1993.

CHIOU, W. L.; RIEGELMAN, S. Preparation and dissolution characteristics of several fast-release solid dispersion of griseofulvin. *J. Pharm. Sci.* v. 58, n.12, p.1505-1510, 1969.

CHIOU, W. L.; RIEGELMAN, S. Oral absorption of griseofulvin in dogs: increased absorption via solid dispersion in polyethylene glycol 6000. *J. Pharm. Sci.* v. 59, n.7, p.937-941, 1970.

CHIOU, W. L.; RIEGELMAN, S. Pharmaceutical applications of solid dispersion systems. *J. Pharm. Sci.* v.60, n.9, p.1281-1301, 1971.

CHIOU, W. L. Pharmaceutical applications of solid dispersion systems: X-Ray diffraction and aqueous solubility studies on griseofulvin-polyethyleneglycol 6000 systems. *J. Pharm. Sci.* v.66, n.7, p.989-991, 1977.

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.

COSTA, P. An alternative method to the evaluation of similarity factor in dissolution testing. *Int. J. Pharm.*, n. 220, p.77-83, 2001.

COSTA, P.; LOBO, J.M.S. Modeling and comparison of dissolution profiles. *Eur. J. Pharm. Sci.* v.13, p. 123-133, 2001b.

CUI, Z.; MUMPER, R. J. Chitosan-based nanoparticles for topical genetic immunization. *J.Control.Release*, v. 75, p. 409-419, 2001.

DANCKWERTS, M.; FASSIHI, A. Implantable controlled release drug delivery systems. A review. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, v. 17, n.11, p. 1465-1502, 1991.

DANIEL-MWAMBETE, K.; TORRADO, S.; CUESTA-BANDERA, PONCE-GORDO, F.; TORRADO, J. J. The effect of solubilization on the oral bioavailability of three benzimidazole carbamate drugs. *Int J Pharm.* v. 272, p. 29-36, 2004.

DIGHE, S. V. *Development of dissolution tests for immediate release and modified release oral dosage forms*. Stuttgart: Medpharm Scientific, p.15-28, 1993.

DOELKER, E. Cellulose derivatives. *Adv Polymer 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.

EFENTAKIS, M.; VIACHOU, M.; CHOULIS, N. H. Effects of excipients on swelling and drug release from compressed matrices. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, v.23, n.1, p. 107-112, 1997.

EL ARINI, S. K., LEUENBERGER, H. Modeling of drug release from polymer matrices: effect of drug loading. *Int. J. Pharm.* v. 121, n.25, p. 141-148, 1995.

EL-BANNA, H.M.; ABD-ELFATTAH, S.; DAABIS, N.A. Physicochemical study of drug binary systems. Phenobarbital-urea system. *Pharmazie*. V.29, p. 396-400, 1975.

EMARA, L. H., BADR, R. M.; ELBARY, A. A. Improving the dissolution and bioavailability of nifedipina using solid dispersions and solubilizers. *Drug Dev. Ind. Pharm.* v. 28, n. 7, p. 795-807, 2002.

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.

FAN, L. T.; SINGH, S. K. *Controlled Release. A Quantitative Treatment*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1989

FARINHA, A., PAIS, J. P., BICA, A. O ensaio de dissolução *in vitro* na avaliação da qualidade biofarmacêutica. *LEF - Boletim*, Lisboa, v. 4, n. 15, p. 1-7, 1997.

FARINHA, A., BICA, A., TOSCANO, C., CAMPOS, R. C. Os ensaios de liberação *in vitro* na avaliação da qualidade biofarmacêutica de formas sólidas e semi-sólidas. *LEF - Boletim*, Lisboa, v. 7, n. 26, p. 1-8, 2000.

FELT, O.; BURI, P.; GURNY, R. Chitosan: A unique polysaccharide for drug delivery. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, v.24, p.979-993, 1998.

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.

FORD, J. L.; STEWART, A. F.; RUBINSTEIN, M. H. The assay and stability of chlorpropamide in solid dispersion with urea. *J. Pharm. Pharmacol.*, v. 31, n.11, p.726-729, 1979.

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

GEHRKE, S. H.; LEE, P. I. *Hydrogels for drug delivery systems*. In: TYLE, P. *Specialized Drug Delivery Systems. Manufacturing and production technology*, New York: Marcel Dekker, 1990, p. 333-392. (Drugs and the Pharmaceutical Science, v. 41).

GOHEL, M. C.; PATEL, L. D. Processing of nimesulide- PEG 400-PG\_PVP solid dispersions: preparation, characterization and in vitro dissolution. *Drug Dev Ind. Pharm.* v. 29, n.3, p. 299-310, 2003.

GOLDBERG, A. H.; GIBALDI, M.; KANIG, J. L. Increasing dissolution rates and gastrointestinal absorption of drugs via solid solution and eutetic mixture I. Theoretical consideration and discussion of the literature. *J. Pharm. Sci.*, v. 54, p. 1145-1148, 1965.

GOLDBERG, A. H.; GIBALDI, M.; KANIG, J. L. Increasing dissolution rates and gastrointestinal absorption of drugs via solid solution and eutetic mixture III. Experimental evaluation of griseofulvin-succinic acid solid solution. *J. Pharm. Sci.*, v. 55, n.5, p. 487-492, 1966.

ICH Harmonised Tripartite Guideline. *Validation of analytical procedures: methodology.* 1996, p.1-8.

JAFARI, M.R.; DANTI, A.G.; AHMED, I. Comparasion of polyethyleneglycol, polyvinylpyrrolidone and urea as excipients for solid dispersion systems of miconazole nitrate. *Int. J. Pharm.* v. 48, p.207-215, 1988.

JANES, K. A.; CALVO, P.; ALONSO, M. J. Polyssaccharide colloidal particles as delivery systems for macromolecules. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, v.47, p.83-97, 2001.

KAKOULIDES, E. P.; SMART, J.D.; TSIBOUKLIS, J. Azocross-linked poly(acrylic acid) for colonic delivery and adhesion specificity: synthesis and characterisation. *J. Control. Release*, v.52, n.3, p.291-300, 1998.

KARLSEN, J. Excipients properties of chitosan. *Manuf. Chem.*, June, p.18-19, 1991.

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

KNORR, D. Use of chitinous pomymers in food. *Food Technol.* Jan., p.85-97, 1984.

KO, J.A.; PARK, H.J.; HWANG, S.J.; PARK, J.B.; LEE, J.S. Preparation and characterization of chitosan microparticles intended for controlled drug delivery. *Int. J. Pharm.*, v.249, p.165-174, 2002.

KORSEMEYER, R.W.; GURNEY, R.; DOELKER, E. BURI, P.; PEPPAS, N.A. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *Int. J. Pharm.* v. 15, p. 25-35, 1983.

KREUSCHNER, K.; FROMMING, K.H.; HOSEMANN, R. Plug compounds – A new physical configuration of solid dispersion using the example of solidified phenylbutazone-urea melt embeddings. *Acta Pharm. Technol.* v. 26, p.159-164, 1980.

KREUTER, J. *Feste Dispersionen*. In: Herzfeldt, C. D.; Kreuter, J. (Ed.), *Grundlagen der Arzneiformenlehre Galenik*, 2, Frankfurt, Springer, 1999. p. 262-274.

LANGENBUGHER, F. Linearization of dissolution rate curves by the weibull distribution. *J. Pharm. Pharmacol.*, n.24, p. 979-981, 1972.

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<sup>®</sup> E as coating material for the pH-controlled drug release in the topical treatment of inflammatory bowel disease (IBD). *J. Drug. Targ.*, v.6, n.2, p.85-94, 1998.

LEUNER, C.; DRESSMAN, J. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, v. 50, p. 47-60, 2000.

LIMA, A.C. *Obtenção e caracterização de dispersões sólidas de praziquantel*. Araraquara, 2006. 83p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, 2006.

LORENZO-LAMOSA, M.L.; REMUNAN-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, R.M. *Preparação e Caracterização de micropartículas de quitosana-alginato*. Araraquara, 1999. 154p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, 1999.

LUCINDA-SILVA, R. M.; EVANGELISTA, R. C. Sistemas para liberação colônica: uma alternativa para a veiculação de fármacos para efeito local ou sistêmico. *Rev. Ciênc. Farm.*, v. 22, p. 11-28, 2001.

LUCINDA-SILVA, R. M.; EVANGELISTA, R. C. Microparticulate systems of chitosan-alginate for colonic delivery of drug: preparation and characterization. In: *First Brazilian Winter School on Nanobiotechnology*. Campinas, São Carlos, Ribeirão Preto, 2002. *Proceedings of the First Brazilian Winter School on Nanobiotechnology*, p. 142. 2002a.

LUCINDA-SILVA, R. M.; EVANGELISTA, R. C. Polissacarídeos biodegradáveis úteis para a preparação de sistemas de liberação controlada de fármacos. Parte 1: Quitosana. *Rev. Ciênc. Farm.*, v. 23, p. 199-213, 2002b.

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.

MARIN, M. T.; MARGARIT, M. V.; SALCEDO, G. E. Characterization and solubility study of solid dispersions of flunarizine and polyvinylpyrrolidone. *Farmaco*. v. 57, n. 9, p. 723-727, 2002.

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. 12. ed. Whitehouse Station: Merck, 1996. p. 1051.

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. *Chitin*. Toronto: Pergamon of Canada, 1977.

NICHOLS, W. K. *Antiinfeciosos*. In: GENNARO, A. R., Ed. Remington: a ciência e a prática da farmácia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. C. 87. p. 1612-1613.

NARANG, A.S.; SRIVASTA, A.K. Evaluation of solid dispersions of clofazimine. *Drug Dev Ind. Pharm.* v. 28, n.8, p.1001-1013, 2002.

O'CONNOR, R.E., BERRYMAN, W.H. Evaluation of enteric film permeability: tablet swelling method and capillary rise method. *Drug Dev Ind. Pharm.* v.18, p. 2123-2133, 1992.

OFOEFULE, S. I., OKOLI, S. E., CHUKWU, A. Mechanisms behind sustained release matrix tablets prepared with poly(acrylic) acid polymers. *Acta Pharm.*, v. 50, n. 3, p. 229-238, 2000.

OLIVEIRA, G.F. *Incorporação de polímeros gastrorresistentes a sistemas multiparticulados a base de quitosana*. Araraquara, 2005, 97p Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, 2005.

OZKAN, Y.; DOGANAY, N.; DIKMEN, N.; ISIMER, A. Enhanced release of solid dispersions of etodolac in polyethyleneglycol. *Farmaco*. V. 55, p.433-438, 2000.

PALMIERI, G. F., CANTALAMESSA, F.; MARTINO, P. D.; NASUTI, C.; MARTELLI, S. Lonidamine solid dispersions: in vitro and in vivo evaluation. *Drug Dev. Ind. Pharm.* v. 28, n.10, p.1241-1250, 2002.

PAN, Y.; LI, Y.J.; ZHAO, H.Y.; ZHENG, J.M.; XU, H.; WEI, G.; HAO, J.S.; CUI, F. Bioadhesive polysaccharide in protein delivery system: chitosan nanoparticles improve the intestinal absorption of insulin in vivo. *Int. J. Pharm.* v.249, p.139-147, 2002.

PAPADOPOULOU, V.; KOSMIDIS, K.; VLACHOU, M.; MACHERAS, P. On the use of the Weibull function for the discernment of drug release mechanisms. *Int. J. Pharm.*, n. 309, p. 44-50, 2006.

PEPPAS, N.A. Analysis of Fickian and non-Fickian drug release from polymers. *Pharm. Acta Helv.* v. 60, p. 110-111, 1985.

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

RATHKE, T.D.; HUDSON, S.M. Review of chitin and chitosan as fiber and films formers. *J. Macromol. Sci. – Rev. Macromol. Chem. Phys.*, v. 34, p. 375-437, 1994.

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.

ROUCHOTAS, C.; CASSIDY, O. E.; ROWLEY, G. Comparison of surface modification and solid dispersion techniques for drug dissolution. *Int. J. Pharm.* v. 195, p. 1-6, 2000.

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

SAERS, E.S.; NYSTROM, C.; ALDEN, M. Physicochemical aspects of drug release. XVI. The effect of storage on drug dissolution from solid dispersions and the influence of cooling rate and incorporation on surfactant. *Int. J. Pharm.* v. 90, p.105-118, 1993.

SALOMON, J. L., DOELKER, E. Formulation of prolonged release tablets. Part 1. Inert matrices. *Pharm. Acta Helv.* v. 55, n. 6, p. 174-182, 1980.

SEKIKAWA, H.; FUKUDA, W.; TAKADA, M.; OHTANI, K.; ARITA, T.; NAKANO, N. Dissolution behavior and gastrointestinal absorption of dicumarol from solid dispersion systems of dicumarol-polyvinylpyrrolidone and dicumarol- $\beta$ -cyclodextrin. *Chem. Pharm. Bull.* v. 31, n.4, p.1350-1356, 1983.

SERAJUDDIN, A. T. M.; SHEEN, P. C.; AUGUSTINE, M. A. Improved dissolution of a poorly water – soluble drug from solid dispersions in polyethyleneglycol: polysorbate 80 mixtures. *J. Pharm. Sci.* v. 79, n.5, p.463-64, 1990.

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.

SETHIA, S.; SQUILLANTE, E. Solid dispersions: revival with greater possibilities and applications in oral drug delivery. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* v. 20, n. 2&3, p. 215-247, 2003.

SIEPMANN, J.; PEPPAS, N.A. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). *Adv. Drug Deliv. Rev.* v. 48, p.139-157, 2001.

SILVERSTEIN, R., BASSLER, G.C., MORRIL, T.C. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1979.

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

SIX, K.; DAEMS, T.; HOON, J.; HECKEN, A. V.; DEPRE, M.; BOUCHE, M. P.; PRINSEN, P.; VERRECK, G.; PEETERS, J.; BRESTWER, M. E.; MOOTER, G. V. Clinical study of solid dispersions of itraconazole prepared by hot-stage extrusion. *Eur. J. Pharm. Sci.* v. 24, p. 179-186, 2005.

SUNSHINE, I. , Ed. *CRC Handbook of spectrophotometric data of drugs*. Boca Raton, CRC, 1981. p. 58.

TACHIBANA, T.; NAKAMURA, N. A method of preparing an aqueous colloidal dispersions of organic materials by using water-soluble apolymers: dispersions of  $\beta$ -carotene by poly(vinyl pyrrolidone). *Kolloid-Z. Polymer.* v. 203, n.1, p.130-133, 1965.

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

TOZAKI, H.; KOMOIKE, J.; TADA, C.; MARUYAMA, T.; TERABE, A.; SUZUKI, T.; YAMAMOTO, A.; MURANISH, 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.

TRAPANI, G.; CUTRINGNELLI, A.; LATROFA, A.; FRANCO, M.; SERRA, M.;PSIU, M.G.; BIGGIO, G.; LISO, G. Valprois acid-hydrophilic cyclodextrin complexes and valproic acid-solid dispersions: evaluation of their potential pharmaceutical use. *Drug Dev. Ind. Pharm.* v. 30, n.1, p.53-64, 2004.

UNITED STATES PHARMACOPEA, 25<sup>th</sup> ed. Rockville: United State Pharmacopeial Convention, 2002.

VAN DER LUBBEN, I. M.; VERHOEF, J.C., VAN AELST, A. C.; BORCHARD, G.; JUNGINGER, H. E. Chitosan microparticle for oral vaccination: preparation, characterization and preliminary *in vivo* uptake studies in murine Peyer's patches. *Biomaterials*, v.22, p. 687-694, 2001.

VERMA, M. M.; KUMAR, M. T.; BALASUBRAMANIAM, J.; PANDIT, J. K. Dissolution, bioavailability and ulcerogenic studies on piroxicam – nicotinamide solid dispersion formulations. *Boll. Chim. Farm.* v. 142, n.3, p. 119-24, 2003.

VOIGT, R. Pharmazeutische Technologie: für studium und beruf. 9<sup>o</sup> Ed. Stuttgart: Deutscher Apotheker, 2000. p.161

WEUTS, I.; KEMPEN, D.; VERRECK, G.; PEETERS, J.; BREWSTER, M.; BLATON, N.; MOOTER, G. V. Salt formation in solid dispersions consisting of polyacrylic acid as a carrier and three basic model compounds resulting in very high glass transition temperatures and constant dissolution properties upon storage. *Eur. J. Pharm.* v. 25, p. 387-393, 2005.

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

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.

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.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)