



UNIVALI

UNIVERSIDADE DO VALE DO ITAJAÍ

NADIR DA VEIGA VIER

**OTIMIZAÇÃO DE SISTEMAS MULTIPARTICULADOS DE
QUITOSANA-ALGINATO PARA LIBERAÇÃO COLÔNICA DE
FÁRMACOS**

Itajaí

2008

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE DO VALE DO ITAJAÍ
PROGRAMA DE MESTRADO ACADÊMICO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E
SUBSTÂNCIAS SINTÉTICAS BIOATIVAS

NADIR DA VEIGA VIER

OTIMIZAÇÃO DE SISTEMAS MULTIPARTICULADOS DE
QUITOSANA-ALGINATO PARA LIBERAÇÃO COLÔNICA DE
FÁRMACOS

Dissertação submetida à Universidade do Vale do Itajaí como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof. Dra. Ruth M. Lucinda da Silva

Itajai
Itajaí, maio de 2008

OTIMIZAÇÃO DE SISTEMAS MULTIPARTICULADOS DE QUITOSANA-ALGINATO PARA LIBERAÇÃO COLÔNICA DE FÁRMACOS

NADIR DA VEIGA VIER

‘Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração Produtos Naturais e Substâncias Bioativas e aprovada em sua forma final pelo Programa de Mestrado em Ciências Farmacêuticas da Universidade do Vale do Itajaí.’

Prof. Dra. Ruth M. Lucinda da Silva
Orientadora

Profa. Tânia Mari Bellé Bresolin, Dra
Coordenadora do Programa Mestrado em Ciências Farmacêuticas

Apresentado perante a Banca Examinadora composta pelos Professores:

Titulação Nome do Presidente da Banca (instituição)
Presidente

Titulação Nome do Co-Orientador (se houver) (instituição)
Co-orientador

Titulação Nome do Membro da Banca (instituição)
Membro

Titulação Nome do Membro da Banca (instituição)
Membro

Titulação Nome do Membro da Banca (instituição)
Membro

Itajaí (SC), 30 de maio de 2008

Este trabalho é dedicado especialmente

a meu marido Egmar e a meu filho Cedrik e.....

...aos meus pais Edmundo e Dulcia que durante todo este tempo estiveram ao meu lado mostrando sempre que determinação, perseverança e paciência são as chaves para o sucesso.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus acima de tudo, por ter permitido concluir este trabalho.

A meu marido, Egmar e a meu filho, Cedrik pelo apoio, paciência, compreensão e amor.

Aos meus pais, Edmundo e Dulcia, pelo apoio incondicional e incentivo em todos os momentos de minha vida.

Aos meus familiares pelo carinho e apoio, em especial minha irmã Sueli que acompanhou toda a trajetória sempre me ajudando e estimulando a não desistir.

A Prof^a Dra. Ruth Meri Lucinda da Silva pela orientação, paciência, empenho e disposição concedidos durante todo o decorrer deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Clóvis Antônio Rodrigues, que contribuiu direta ou indiretamente em muitas fases deste trabalho.

Aos meus colegas, que de alguma forma estiveram ao meu lado compartilhando momentos felizes e tristes. Em especial a Francieli e a Tânia, companheiras de laboratório, que sempre serão lembradas pela amizade e incansável apoio.

As minhas colegas Fernanda, Taline e Maria Claudia pelas horas de descontração, alegria e incentivo.

Aos técnicos e funcionários de todos os departamentos e laboratórios, nos quais eu passei para a execução deste trabalho, quero expressar minha gratidão, em especial a Vânia e Rosélia do PMCF que estavam sempre dispostas a auxiliar nas horas de aflição;

OTIMIZAÇÃO DE SISTEMAS MULTIPARTICULADOS DE QUITOSANA-ALGINATO PARA LIBERAÇÃO COLÔNICA DE FÁRMACOS

Nadir da Veiga Vier

Maio/2008

Orientadora: Prof^a. Ruth Meri Lucinda Silva, Dr^a.

Área de Concentração: Produtos Naturais e Substâncias Bioativas.

Número de páginas: 164

A liberação de fármacos através de novos sistemas de liberação representa um grande avanço na tecnologia farmacêutica, devido à redução dos efeitos colaterais, a efetividade e a terapêutica preditiva para otimizar o tratamento de algumas patologias, como as doenças inflamatórias colônicas (DIC), incluindo a adesão do paciente a terapia. Os sistemas multiparticulados (SM) têm sido investigados como sistemas com potencial para a liberação colônica de fármacos. O emprego de polímeros biodegradáveis como quitosana (QS) e alginato (AL), revestidos com polímeros tem sido foco de atenção na área farmacêutica, devido sua segurança. O presente trabalho tem como objetivo desenvolver SM de QS e AL, revestidos com polímeros entéricos para a obtenção de sistemas terapêuticos para liberação colônica do fármaco. Os sistemas foram preparados por dois diferentes métodos: formação do complexo de alginato-cálcio:quitosana (AL-Ca:QS), simultaneamente e formação da matriz de AL-Ca e posterior coacervação complexa com QS. O fármaco triancinolona (TC) foi incorporado na dispersão de AL. Após a reação, as amostras foram filtradas, lavadas com água purificada e revestidas com os polímeros gastroresistentes, como ftalato de hidroxipropilmetilcelulose (FHPMC), acetoftalato de celulose (ACT), Eudragit[®] L100 e com o polímero insolúvel em água, etilcelulose (EC), congeladas e liofilizadas. Os sistemas foram caracterizados em relação à morfologia, intumescimento, eficiência de encapsulação e perfil de liberação nos meios gástrico, entérico e colônico simulado. Os sistemas apresentaram um diâmetro médio de 1,3 mm. A morfologia foi dependente da concentração, do tipo de polímero e método de revestimento e processo de secagem. Os SMs de AL:QS apresentaram baixo índice de intumescimento em meio gástrico simulado. O comportamento de intumescimento dos sistemas com e sem revestimento foi semelhante. Os diferentes métodos de obtenção dos sistemas não influenciaram o comportamento de intumescimento e de liberação do fármaco. O aumento na concentração de AL diminui a liberação do fármaco em meios ácido e entérico simulados. O modelo de Korsmeyer-Peppas foi o mais adequado para representar os perfis de liberação da TC dos SM com mecanismo de transporte caracterizado por difusão clássica, transporte anômalo e super transporte caso II. Os sistemas revestidos com polímeros gastroresistentes proporcionaram um perfil de liberação do fármaco com promissora aplicação na liberação colônica de fármacos.

Palavras-chave: Alginato. Liberação colônica Sistemas multiparticulados. Quitosana. Triancinolona.

OPTIMIZATION OF ALGINATE-CHITOSAN MULTIPARTICULATE SYSTEMS FOR COLONIC DRUG RELEASE

Nadir da Veiga Vier

May/2008

Supervisor: Dr. Ruth Meri Lucinda Silva, Dr^a.

Area of concentration: Natural products and Bioactive substances.

Number of Pages: 164

The drug delivery through new release systems represents a great progress in the pharmaceutical technology, because the decrease of the adverse collateral effects, the effective and predictive therapeutic answer, to optimize the treatment of some pathologies, as the colonic inflammatory diseases (CID), including the best adhesion of the patient to the therapy. The multiparticulate systems (MS) have been investigated as systems with potential for colonic drug release. The use of biodegradable polymers as chitosan (CS) and alginate (AL) received much attention in the pharmaceutical area due to their safety. The objective of the present work is to development CS and AL MSs, coated with enteric polymer in order to obtain dosage forms that allow the colonic drug release. The systems were prepared by two different methods: complex formation of the alginate-calcium:chitosan (AL-Ca:CS), simultaneously and complex formation of the AL-Ca and posterior complex coacervate with CS. The drug (triamcinolone) was incorporated in AL dispersion. After reaction, the samples were filtered, washed with purified water and coated with gastroresistant polymers, as hydroxypropyl methylcellulose phthalate (HPMCP), cellulose acetate phthalate (CAP) and insoluble polymer ethylcellulose, Eudragit[®] L100 and freeze-dried. The systems were characterized in relation to the morphology, swelling, encapsulation efficiency and release profile in simulate gastric, enteric and colonic medium. The systems showed average diameter of 1.3 mm. The morphology was dependent on the concentration, polymer used and coating method and drying process. The systems AL:CS showed level low of swelling in simulate acid medium. The behavior swelling systems AL-CS with and without coating systems AL-CS was similar. The drug release was dependent on the AL concentration and of the type and concentration of the coating polymer. The different methods of systems preparation didn't influence the swelling and drug release behaviors. The increase of AL concentration decreased the drug release in simulate acid and enteric medium. The Korsmeyer-Peppas model was the most suitable to represent the profile of TC from SM with the mechanism of transport characterized by classic diffusion, irregular transport and super transport in case II. The coated systems with gastroresistant polymer provided a profile of the model drug, triamcinolone, with promising application in colonic drug release.

Keywords: Alginate. Chitosan. Colonic delivery. Multiparticulate systems. Triamcinolone.

LISTA DE FIGURAS

1	Ilustração do TGI humano.....	25
2	Esquema do intestino grosso humano.....	30
3	Estrutura química da QN.....	41
4	Estrutura química da QS.....	42
5	Esquema simplificado do processo de obtenção da QN e QS.....	42
6	Representação da estrutura de um complexo de polieletrólitos contendo a quitosana e polímero negativamente carregado.....	45
7	Estrutura de AL mostrando ambos resíduos: (A) resíduo ácido L-gulurônico; (B) resíduo ácido D-manurônico.....	47
8	Estrutura química da celulose.....	51
9	Estrutura química dos derivados da celulose.....	52
10	Estrutura química da etilcelulose.....	53
11	Estrutura química do acetofalato de celulose.....	54
12	Estrutura química do ftalato de hidroxipropilmetilcelulose.....	56
13	Estrutura química do Eudragit® L100.....	57
14	Estrutura química da Triancinolona.....	63
15	Ilustração do método de coacervação complexa/gelificação ionotrópica.....	74
16	Fluxograma do M1 (formação complexa de AL-Ca:QS, simultaneamente).....	75
17	Fluxograma do M2 (formação complexa de AL-Ca e posterior coacervação complexa com QS).....	76
18	Fluxograma do método de revestimento por imersão.....	80
19	Drageadeira de bancada.....	81
20	Aparelho de dissolução.....	86
21	Aparato para liberação <i>in vitro</i> do fármaco em meio colônico simulado	87
22	Primeira concentrações (mg/mL) em ácido acético 0,01 M na derivada do espectro de soluções de ácido acético e de soluções de NAG em diferentes região do UV.....	90
23	Curva analítica da NAG em ácido acético 0,01 M.....	91
24	Gráfico da viscosidade reduzida das dispersões de quitosana contra a concentração das respectivas dispersões para cálculo da viscosidade intrínseca do polímero.....	94
25	Gráfico da viscosidade reduzida das dispersões de alginato (AL) contra a concentração das respectivas dispersões para cálculo da viscosidade intrínseca do polímero.....	96
26	Perfil de absorção das soluções de TC na região do UV.....	98

27	Curvas analíticas de TC em ácido clorídrico 0,1 N pH 1,5, tampão fosfato 0,05 N pH 7,5 e tampão fosfato 0,01 N pH 7,5 em 242 nm.....	99
28	Determinação da precisão do método de quantificação de TC em tampão fosfato 0,05 N pH 7,5, em espectrofotômetro de UV (242 nm)....	100
29	Determinação da precisão do método de quantificação de TC em tampão fosfato 0,01 N pH 7,5, em espectrofotômetro de UV (242 nm)	101
30	Determinação da precisão do método de quantificação de TC em ácido clorídrico 0,1 N, em espectrofotômetro de UV (242 nm).....	102
31	Fotomicrografias em estereoscópio das partículas de AL:QS em diferentes concentrações de AL 1% (A) (aumento de 10x) AL 2,5% (B) e AL 5% (C) (aumento de 0,67x).....	106
32	Fotomicrografias eletrônicas de varredura de partículas de AL:QS com diferentes concentrações de polímeros preparadas pelos dois métodos: A – AL 1% preparados pelo método 2 (formação da matriz de AL:Ca e posterior coacervação complexa com QS); B e C - AL 2,5% e 5%, respectivamente, preparados pelo método 1 (formação do complexo de AL:Ca:QS, simultaneamente).....	108
33	Fotomicrografias em estereoscópio de partículas de AL:QS revestidas com FHPMC 5% congeladas com nitrogênio líquido (A) e sem nitrogênio líquido (B) (aumento 2 X).....	109
34	Perfil de intumescimento das partículas de AL:QS inertes em meio gástrico simulado (pH 1,5).....	112
35	Perfil de absorção de água das partículas de AL:QS inertes em meio gástrico simulado (pH 1,5).....	112
36	Perfil de intumescimento das partículas de AL:QS inertes em meio entérico simulado (pH 7,4).....	114
37	Perfil de absorção de água das partículas de AL:QS inertes em meio entérico simulado (pH 7,4).....	114
38	Fotomicrografias microcápsulas AL:QS inertes (AL1% QS 0,5%) secas (A), meio gástrico (B), meio entérico (C) após 180 minutos de contato com os meios de intumescimento (aumento 10 X).....	115
39	Fotomicrografias microcápsulas AL:QS inertes (AL2,5% QS1%) secas (A), meio gástrico (B) e meio entérico (C) após 180 minutos de contato com os meios de intumescimento (aumento 10 X).....	116
40	Fotomicrografias microcápsulas AL:QS inertes (AL5% QS1%) secas (A), meio gástrico (B) e meio entérico (C) após 180 minutos de contato com os meios de intumescimento (aumento 10 X).....	117
41	Fotomicrografias em estereoscópio de SM de AL:QS com TC variando a concentração do polímero AL 1% (A), AL 2,5% (B) e AL 5% (C) (aumento de 0,67x).....	121
42	Fotomicrografias em estereoscópio de SM de AL:QS com TC revestidas com ACT 1% (A) e FHPMC 1% (B) pelo método de imersão (aumento de 0,67x)....	122
43	Fotomicrografias em estereoscópio de SM de AL:QS (AL 2,5%) com TC (A) e sem TC (B) preparados pelo método M1 (aumento de 2 X).....	123
44	Fotomicrografias em estereoscópio de SM de AL:QS com TC revestidas com	124

EC 1% (A) e EU 1% (B) pelos métodos de imersão e aspersão, respectivamente	aumento de	2
X).....		
45 Perfil do intumescimento dos SMs em função do tempo dos lotes com TC sem revestimento em meio gástrico (pH 1,5) simulado (n=3).....		
46 Perfil do intumescimento dos SMs em função do tempo dos lotes com TC sem revestimento em meio entérico (pH 7,4) simulado (n=3).....		125
47 Perfil de absorção de água dos SMs contendo TC sem revestimento em meio gástrico (pH 1,5) simulado (n=3).....		126
48 Perfil de absorção de água dos SMs contendo TC sem revestimento em meio entérico (pH 7,4) simulado (n=3).....		126
49 Fotomicrografias de SM AL:QS com TC (AL1% QS 0,5%) secas (A), meio gástrico (B), meio entérico (C) após 180 minutos de contato com os meios de intumescimento.....		127
50 Fotomicrografias de SM AL:QS com TC (AL2,5% QS 1,0%) secas (A), meio gástrico (B), meio entérico (C) após 180 minutos de contato com os meios de intumescimento.....		128
51 Fotomicrografias de SM AL:QS com TC (AL5% QS 1,0%) secas (A), meio gástrico (B), meio entérico (C) após 180 minutos de contato com os meios de intumescimento.....		129
52 Fotomicrografias de SM AL:QS com TC revestidas com FHPMC 5% pelo método de imersão secas (A), meio gástrico (B), meio entérico (C) após 180 minutos de contato com meios de intumescimento.....		131
53 Fotomicrografias de SM AL:QS com TC revestidas com FHPMC 7,5% pelo método de aspersão secas (A), meio gástrico (B), meio entérico (C) após 180 minutos de contato com os meios de intumescimento.....		132
54 Fotomicrografias de SM AL:QS com TC revestidas com EU 1% pelo método de aspersão secas (A), meio gástrico (B), meio entérico (C) após 180 minutos de contato com os meios de intumescimento.....		133
55 Perfil do intumescimento dos SMs, em função do tempo, dos lotes contendo TC e com revestimentos em meio gástrico (pH 1,5) simulado (n=3).....		134
56 Perfil de intumescimento pelo dos SM, em função do tempo, dos lotes contendo TC e com revestimentos em meio entérico (pH 7,4) simulado (n=3)		134
57 Perfil de absorção de água, em função do tempo, dos lotes contendo TC com revestimento em meio ácido simulado (n=3).....		135
58 Perfil de absorção de água, em função do tempo, dos lotes contendo TC com revestimento em meio entérico (pH 7,4) simulado (n=3).....		135
59 Perfil de liberação da TC incorporada em SM de AL:QS, com diferentes concentrações de AL e QS sem revestimento, em meio gástrico e entérico simulados.....		137
60 Perfil de liberação da TC incorporada em partículas de AL:QS, revestidas com FHPMC em diferentes concentrações, preparadas pelos métodos de aspersão (AS) e imersão (IM), comparando com o lote AL 1% sem revestimento em meio gástrico e entérico simulados.....		139
61 Perfil de liberação da TC incorporada em SM de AL:QS, revestidos com ACT em diferentes concentrações pelos métodos imersão e aspersão, comparando com o lote AL 1% sem revestimento em meio gástrico e entérico		140

simulados.....	
62 Perfil de liberação da TC incorporada em SM de AL:QS, revestidos com EU pelos métodos imersão e aspensão, comparando com o lote AL 1% sem revestimento em meio gástrico e entérico simulados.....	142
63 Perfil de liberação da TC incorporada em SM de AL:QS, revestidos com EC pelo método imersão, comparando com o lote AL 1% sem revestimento em meio gástrico e entérico simulados.....	
64 Curva analítica de TC, em meio colônico pH 6,8, por CLAE. Fase móvel: Tampão acetato de sódio pH 4,8; tempo de retenção: 5,1 min; coluna de fase reversa C ₁₈ ; fluxo de 1mL/min e temperatura de 35 °C.....	144
65 Cromatograma do meio colônico simulado sem fármaco em CLAE. Fase móvel: Tampão acetato de sódio pH 4,8; tempo de retenção: 5,1 min; coluna de fase reversa C ₁₈ ; fluxo de 1mL/min e temperatura de 35 °C.....	145
66 Cromatograma do meio colônico simulado contendo TC 100 ug/mL de TC em CLAE. Fase móvel: Tampão acetato de sódio pH 4,8; tempo de retenção: 5,1 min; coluna de fase reversa C ₁₈ ; fluxo de 1mL/min e temperatura de 35 °C.....	145
67 Perfil de liberação da triancinolona dos SM de AL:QS, revestidos com diferentes polímeros, nos fluidos gástrico (FGS), entérico (FES) e colônico simulados (FCS).....	146

LISTA DE TABELAS

1	Comparação da composição da flora intestinal humana e a de ratos.....	40
2	Valores de densidade relativa para dispersões de quitosana em ácido acético 0,1 N contendo NaCl 0,1 M.....	93
3	Valores de viscosidade relativa (η_{rel}), específica (η_{sp}) e reduzida (η_{red}) para dispersões de quitosana, em ácido acético 0,1 N contendo NaCl 0,1 M.	94
4	Valores de densidade relativa para dispersões de alginato de sódio em NaCl 0,1 M.....	95
5	Valores de viscosidade relativa (η_{rel}), específica (η_{sp}) e reduzida (η_{red}) para dispersões de alginato de sódio em NaCl 0,1 M.....	96
6	Análise estatística dos dados da análise de precisão do método de quantificação da TC em tampão fosfato 0,05 N pH 7,5, em espectrofotômetro de UV (242 nm).....	100
7	Análise estatística dos dados da análise de precisão do método de quantificação da TC em tampão fosfato 0,01 N pH 7,5, em espectrofotômetro de UV (242 nm).....	101
8	Análise estatística dos dados da análise de precisão do método de quantificação da TC em ácido clorídrico 0,1 N, em espectrofotômetro de UV (242 nm).....	102
9	Percentual de recuperação da TC contida nas partículas de AL 1% sem revestimento (n=3).....	103
10	Percentual de recuperação da TC contida nas partículas de AL 1% com revestimento ACT 5 % (n=3).....	103
11	Percentual de recuperação da TC contida nas partículas de AL1% com revestimento ACT 5% (n=3).....	104
12	Dados obtidos pelos limites de detecção e quantificação em HCl 0,1 N, soluções tampão 0,01 N e 0,05 N (n=3).....	104
13	Distribuição de tamanho das partículas de AL-Ca:QS com e sem fármaco preparadas pelo M1 e M2, com e sem revestimento preparadas pelos métodos de aspersão e imersão	110
14	Determinação do teor e eficiência de encapsulação da TC nos SM de AL:QS (n=3).....	119

15	Distribuição de tamanho das partículas de AL-Ca:QS com fármaco e com revestimento preparadas pelos métodos de aspersão e imersão....	120
16	Valores de n obtidos com aplicação dos dados do perfil de liberação do fármaco dos SM no modelo matemático de Korsmeyer-Peppas.....	149

LISTA DE QUADROS

1	Constituição da flora gastrintestinal humana.....	32
2	Aplicações farmacêuticas dos Eudragit® L, S e RS.....	58
3	Modelos matemáticos usados para descrever os perfis de dissolução de fármacos incorporados em formas farmacêuticas.....	59
4	Interpretação dos mecanismos de liberação por difusão a partir de filmes poliméricos.....	62
5	Formulações de SM de AL:QS com diferentes concentrações de CaCl_2 preparadas por dois métodos com e sem TC.....	77
6	Formulações de partículas de AL:QS com TC com diferentes concentrações de revestimentos.....	79
7	Dados obtidos pela linearidade do método em soluções tampão 0,05 N, 0,01 N e HCl 0,1 N.....	99
8	Aplicação dos diferentes modelos matemáticos nos SM para a análise da cinética de liberação da TC, aplicando o coeficiente de correlação (R).....	148

LISTA DE ABREVIATURAS

AL – alginato de sódio

ACT – acetofalato de celulose

AL:QS – complexo alginato:quitosana

AL-Ca:QS – complexo alginato com cálcio e quitosana

AL-Ca:TC – alginato de cálcio com triancinoona

5-ASA – ácido 5-aminossalicílico

AS - aspensão

DIC – doenças inflamatórias colônicas

EC - etilcelulose

EU - eudragit® L100

G – α -L guluronato

GD – grau de desacetilação

FHPMC – ftalato-hidroxipropilmetilcelulose

FGS – fluido gástrico simulado

FCS – fluido colônico simulado

FES – fluido entérico simulado

IM - imersão

LD – limite de detecção

LQ – limite de quantificação

M – β -D manuronato

M1 – formação complexa de AL-Ca:QS, simultaneamente

M2 – formação complexa de AL-Ca e posterior coacervação complexa com QS

MM – massa molecular

NAG – N-acetilglicosamina

QN – quitina

QS – quitosana

SM – sistemas multiparticulados

TC – triancinolona

TGI – trato gastrintestinal

TGIS – trato gastrintestinal superior

UFC – unidade formadora de colônia

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
2 OBJETIVOS	22
2.1 Objetivo Geral:	22
2.2 Objetivos Específicos:	22
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
3.1 Liberação Colônica de Fármacos:	23
3.1.1 Introdução	23
3.1.2 Trato Gastrointestinal:	25
3.1.2.1 ESÔFAGO:	25
3.1.2.2 ESTÔMAGO:	26
3.1.2.3 INTESTINO DELGADO:	29
3.1.2.4 CÓLON:	29
3.1.3 Vetorização de Fármacos para o Cólon:	34
3.2 Polissacarídeos Naturais:	41
3.2.1 Quitosana (QS):	41
3.2.2 Alginato de Sódio (AL):	46
3.3 Polímeros para Revestimento de Formas Farmacêuticas Sólidas: ...	51
3.3.1 Etilcelulose (EC):	53
3.3.2 Acetato de celulose (ACT):	54
3.3.3 Ftalato de hidroxipropilmetilcelulose (FHPMC):	55
3.3.4 Eudragit (EU):	56
3.4 Estudos de Cinética de Liberação:	59
3.5 Triancinolona (TC):	63
4 MATERIAL E MÉTODOS	65
4.1 Material:	65
4.1.1 Reagentes:	65
4.1.2 Equipamentos:	66
4.2 Métodos:	66
4.2.1 Caracterização dos Polímeros:	66
4.2.1.1 DETERMINAÇÃO DO GRAU DE DESACETILAÇÃO DA QUITOSANA:	66
4.2.1.2 DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE RELATIVA DA QUITOSANA:	67

4.2.1.3 DETERMINAÇÃO DA VISCOSIDADE INTRÍNSECA DA QUITOSANA:	68
4.2.1.4 DETERMINAÇÃO DA MASSA MOLECULAR DA QUITOSANA:	69
4.2.1.5 DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE RELATIVA DO ALGINATO DE SÓDIO:	70
4.2.1.6 DETERMINAÇÃO DA VISCOSIDADE INTRÍNSECA DO ALGINATO DE SÓDIO:	70
4.2.1.7 DETERMINAÇÃO DA MASSA MOLECULAR DO ALGINATO DE SÓDIO:	70
4.2.2 Validação da metodologia para quantificação da TC por espectrofotometria na região do UV:	71
4.2.2.1 DETERMINAÇÃO DO PICO DE ABSORÇÃO MÁXIMA DO FÁRMACO NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA (UV):	71
4.2.2.2 CURVA ANALÍTICA PARA QUANTIFICAÇÃO DO FÁRMACO POR ESPECTROFOTOMETRIA NA REGIÃO DO UV:	71
4.2.2.3 LINEARIDADE:	72
4.2.2.4 PRECISÃO:	72
4.2.2.5 RECUPERAÇÃO:	72
4.2.2.6 LIMITE DE DETECÇÃO E LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO:	73
4.2.3 Preparação dos sistemas multiparticulados:	74
4.2.3.1 PREPARAÇÃO DE SISTEMAS MULTIPARTICULADOS DE AL:QS:	74
4.2.3.2 VERIFICAÇÃO DA PERDA DE MASSA DO COMPLEXO AL:QS EM MEIO GÁSTRICO SIMULADO:	77
4.2.3.3 PREPARAÇÃO DOS SISTEMAS MULTIPARTICULADOS REVESTIDOS COM POLÍMEROS GASTRO-RESISTENTES:	78
4.2.4 Caracterização dos sistemas multiparticulados:	82
4.2.4.1 ANÁLISE MORFOLÓGICA:	82
4.2.4.2 ANÁLISE GRANULOMÉTRICA:	82
4.2.4.2 ANÁLISE DA ABSORÇÃO DE ÁGUA E ÍNDICE DE INTUMESCIMENTO:	83
4.2.5 Caracterização das partículas contendo fármaco (TC):	84
4.2.5.1 DETERMINAÇÃO DO TEOR E DA EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO:	84
4.2.6 Ensaio de liberação do fármaco in vitro:	85
4.2.6.1 ENSAIO DE LIBERAÇÃO DO FÁRMACO USANDO MEIO ÁCIDO OU MEIO ENTÉRICO:	85
4.2.6.2 ENSAIO DE LIBERAÇÃO DO FÁRMACO EM MEIO COLÔNICO SIMULADO:	86
4.2.7 Quantificação de TC por CLAE:	87
4.2.8 Análise da cinética de liberação in vitro:	88
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	89
5.1 Caracterização da Quitosana:	89

5.1.1 Determinação do grau de desacetilação da Quitosana:	89
5.1.2 Determinação da Densidade Relativa da Quitosana:	92
5.1.3 Determinação da Viscosidade Intrínseca da Quitosana:	93
5.1.4 Determinação da Massa Molecular da Quitosana:	95
5.2 Caracterização do AL de sódio:	95
5.2.1 Determinação da densidade relativa:	95
5.2.2 Determinação da viscosidade intrínseca:	95
5.2.3 Determinação da Massa Molecular do Alginato de Sódio:	97
<i>5.3 Método analítico para quantificação da TC:</i>	<i>97</i>
5.3.1 Determinação da linearidade	98
5.3.2 Determinação da precisão ou coeficiente de variabilidade do método:	99
5.3.3 Determinação da recuperação/exatidão do método:	103
5.3.4 Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ):	104
5.4 Caracterização das partículas inertes de AL: QS:	104
5.4.1 Características morfológicas:	105
5.4.2 Análise granulométrica:	110
5.4.3 Análise de intumescimento:	111
5.5 Caracterização dos sistemas multiparticulados contendo TC:	118
5.5.1 Determinação do teor e eficiência de encapsulação:	118
5.5.2 Características morfológicas:	119
5.5.3 Análise de intumescimento:	124
5.5.4 Ensaio de liberação in vitro:	136
<i>5.5.4.1 ENSAIO DE LIBERAÇÃO DO FÁRMACO EM MEIOS GÁSTRICO E ENTÉRICO SIMULADOS:</i>	<i>136</i>
<i>5.5.4.2 ENSAIO DE LIBERAÇÃO DO FÁRMACO EM MEIO COLÔNICO SIMULADO:</i>	<i>143</i>
<i>5.5.4.3 CINÉTICA PARA ANÁLISE DA LIBERAÇÃO IN VITRO:</i>	<i>147</i>
6 CONCLUSÕES	150
REFERÊNCIAS	152

1 INTRODUÇÃO

Cada vez mais aumenta o interesse por parte das indústrias farmacêuticas em desenvolver formulações capazes de liberar fármacos em sítios específicos no organismo, assim como manter os mesmos no local por longos períodos de tempo, com velocidade de liberação controlada, visando prolongar a ação terapêutica e reduzir os efeitos colaterais (COLLETT; MORETON, 2005).

O direcionamento de fármacos para um sítio específico através de novos sistemas de liberação representa um grande avanço na área de tecnologia farmacêutica. Tal avanço é garantido graças à redução dos efeitos colaterais, agregado a precisão e a efetividade da resposta terapêutica, resultando desta forma em maior adesão do paciente à terapia (COLLETT; MORETON, 2005).

A administração de fármacos pela via oral é a preferida pelos pacientes para o tratamento de doenças crônicas. Por outro lado, esta via limita a capacidade de determinados fármacos, como proteínas e polipeptídeos, em atravessar a barreira epitelial, devido à elevada susceptibilidade a degradação enzimática no trato gastrintestinal superior (TGIS) (DODANE; VILIVALAM, 1998). Para superar estes desafios, tecnologias alternativas, como a preparação de sistemas multiparticulados com propriedades definidas, vêm sendo introduzidas nestas últimas décadas. (COLLETT; MORETON, 2005).

No delineamento de formas farmacêuticas administradas por via oral com a liberação cólon-específica do fármaco, no tratamento de doenças inflamatórias do intestino, faz-se necessário à liberação do fármaco no alvo específico, devido aos efeitos adversos provocados pela administração de fármacos como antiinflamatórios, quimioterápicos e antibióticos (VANDAMME et al., 2002).

Almejando a liberação cólon específica, as estratégias mais estudadas, baseadas nas características fisiológicas do organismo, incluem o tempo de trânsito no intestino delgado, que depende da liberação programada do fármaco, o pH específico do cólon, a presença de enzimas no cólon, a pressão luminal e o ambiente da microflora colônica (COLLETT; MORETON, 2005; IBEKWE et al., 2007).

Uma das formas de se desenvolver sistemas de liberação de fármacos desencadeados pela microflora colônica, é o emprego de polissacarídeos como

pectina, sulfato de condroitina, ciclodextrina, dextrana, goma guar, inulina, amilose, alginato e quitosana (SINHÁ; KUMRIA, 2001; SHIMONO et al., 2002).

A quitosana (QS) é um polímero que tem sido amplamente utilizado como excipiente para formas de liberação modificada, sendo aplicada também na liberação colônica devido suas propriedades biodegradáveis pelas bactérias colônicas (SHIMONO et al., 2002), boa biocompatibilidade e não-alergenicidade, possuindo também propriedades mucoadesivas que otimizam a penetração de macromoléculas pelas barreiras intestinais (AHN et al., 2002).

O alginato (AL) é um polissacarídeo extraído de algas marrons que possui várias propriedades, tais como imunogênico, biocompatível, bioadesivo, sendo empregado nas indústrias farmacêuticas, de alimentos e de cosméticos (MIYAZAKI; KUBO; ATTWOOD, 2000; TØNNESEN; KARLSEN, 2002; BAJPAI; TANKHIWALE, 2006; GEORGE; ABRAHAM, 2006).

Visando obter um sistema de liberação cólon-específico, Lucinda-Silva, 2003 desenvolveu sistemas multiparticulados de quitosana-alginato, os quais demonstraram um índice de intumescimento precoce da matriz em meio entérico simulado, liberando o fármaco antes de alcançar o cólon.

Baseado nisto, o objetivo deste trabalho foi otimizar a estrutura dos sistemas de quitosana-alginato através de revestimento com polímeros gastro-resistentes e pouco solúveis em água, visando um maior controle na liberação do fármaco e seu direcionamento para o cólon. O fármaco-modelo utilizado foi a triancinolona (TC), que é um corticosteróide sintético com ação imunossupressora e antiinflamatória, empregado para o tratamento de inflamações locais no cólon (HANAUER; BAERT (1994); STEIN; HANAUER (1999)).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral:

Desenvolver e avaliar sistemas multiparticulados a base de QS e AL, revestidos com Polímeros gastroresistentes e polímero insolúvel em água, visando a obtenção de sistemas terapêuticos que permitam a liberação do fármaco modelo, triancinolona, no cólon.

2.2 Objetivos Específicos:

- Caracterizar os polímeros QS e AL, quanto ao grau de desacetilação (QS), densidade relativa, viscosidade intrínseca e massa molecular;
- Validar metodologia analítica para determinação da triancinolona nas partículas por espectrofotometria;
- Preparar partículas a base de AL-Ca:QS, com e sem fármaco, revestidas por polímeros gastro-resistentes e insolúveis em água, pelo método de coacervação complexa/ gelificação ionotrópica;
- Caracterizar os SM quanto à morfologia e a granulometria;
- Verificar a capacidade de intumescimento dos sistemas em meios com diferentes valores de pH;
- Determinar o teor e a eficiência de encapsulação dos sistemas;
- Determinar o perfil de liberação do fármaco modelo *in vitro*, utilizando meios de dissolução que simulam o trato gastrintestinal;
- Determinar a cinética de liberação do fármaco modelo triancinolona dos SM.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Liberação Colônica de Fármacos:

3.1.1 Introdução

O interesse pelo desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos tem aumentado nestas últimas décadas, devido às inúmeras vantagens que esses sistemas oferecem, como controlar a velocidade e a extensão da liberação do fármaco, fornecendo períodos de ação terapêutica prolongada após cada administração de uma “dose única” (COLLETT; MORETON, 2005). Esses sistemas também podem manter o nível plasmático sem oscilações bruscas, evitar níveis subterapêuticos, manter o nível plasmático de produtos com tempo de meia-vida biológico relativamente curto, proteger o fármaco de uma eventual degradação, proporcionar redução dos efeitos colaterais e com isso, aumentar adesão ao tratamento pelo paciente (HATEFI; AMSDEN, 2002; LIU et al., 2003).

A despeito das vantagens acima mencionadas, devem ser considerados e ponderados as seguintes limitações: dificuldade ou impossibilidade de interromper rapidamente a ação farmacológica do medicamento em caso de intoxicação grave ou de intolerância; o risco de acúmulo do fármaco se a velocidade de eliminação for lenta; a reprodutibilidade e a eficácia da ação dependem da velocidade de esvaziamento gástrico e da capacidade de absorção da mucosa intestinal; a cinética de liberação depende da integridade da forma farmacêutica; acrescido do fato de seu custo ser geralmente mais elevado que o das formas farmacêuticas convencionais (FREIRE et al., 2006b).

Segundo Collett e Moreton (2005), formas farmacêuticas de liberação modificada são sistemas nos quais a dose inicial do fármaco é liberada de imediato, buscando alcançar rapidamente a ação terapêutica desejada, sendo em seguida, a dose remanescente do mesmo liberada lentamente, visando uma concentração do fármaco no tecido desejado de forma prolongada.

De acordo com os mecanismos de ação, as formas farmacêuticas de liberação modificada podem ser classificadas em liberação prolongada,

controlada, repetida, retardada, imediata, sustentada e liberação no sítio específico (FREITAS, 2006).

A liberação no cólon específica tem atraído a atenção de muitos investigadores interessados no tratamento de patologias locais, no seu potencial para a liberação de proteínas e peptídeos e para o tratamento de doenças circadianas, como é o caso da artrite reumatóide e da asma brônquica (FREIRE et al., 2006a; LIU et al., 2007).

A liberação cólon-específica é muito utilizada para o tratamento de doenças crônicas inflamatórias do intestino, como a colite ulcerativa, doença de Cronh, carcinomas e infecções (VANDAMME et al., 2002). Os fármacos que fazem parte do plano de tratamento destas patologias, e que são, simultaneamente, candidatos a incorporação em sistemas de liberação cólon específica são, os antiinflamatórios, os corticosteróides, os antibióticos e os imunossupressores (FREIRE et al., 2006a).

Tais preparações têm sido amplamente estudadas com o intuito de aumentar a eficiência do tratamento, agregado à redução dos possíveis efeitos adversos (FRIEND, 2005). No entanto para atingir o cólon, a forma farmacêutica deve atravessar o TGI superior de forma praticamente intacta, sendo apenas liberada na porção terminal do intestino grosso (FREIRE et al., 2006b).

Segundo Freire e colaboradores (2006b), o tempo de contato da forma farmacêutica com a mucosa gástrica, influencia na absorção do fármaco, pois um tempo de residência elevado pode resultar numa elevada absorção do fármaco nesta região, comprometendo a biodisponibilidade e a eficácia dos sistemas de liberação cólon-específico.

Baseado nisso, é importante conhecer como as formas farmacêuticas comportam-se durante a sua passagem pelo TGI, ou seja, ao desenvolver sistemas de liberação modificada para liberação clônica de fármacos é fundamental avaliar os parâmetros e as variáveis fisiológicas que podem influenciar o desempenho destes ao longo do TGI, sendo o fator motilidade altamente significativo para o desenvolvimento de produtos com uma maior eficácia terapêutica e menor incidência de efeitos colaterais (CORÁ et al., 2005).

3.1.2 Trato Gastrintestinal:

É pouco provável, que um sistema de liberação cólon-específico, proporcione uma absorção de fármaco mínima ou nula na mucosa gástrica e no intestino delgado e máxima absorção no cólon, pois o ambiente hostil e as variações fisiológicas ao longo do TGI acabam influenciando o desempenho da forma farmacêutica (FREIRE et al., 2006a). O pH difere ao longo do trato gastrintestinal: na cavidade oral é em torno de 6,2 a 7,4; no estômago em jejum situado entre 1,5 a 2,0 e no alimentado entre 3,0 a 5,0; no jejuno varia de 5,0 a 6,5, no íleo de 6,0 a 7,5.

O TGI também denominado de canal alimentar é um tubo digestivo muscular, com aproximadamente 6 metros de comprimento e de diâmetro variável, estendendo-se da boca até o ânus. Este tubo é diferenciado em quatro regiões anatômicas, cada qual, possuindo características únicas: esôfago, estômago, intestino delgado e intestino grosso ou cólon (LIU et al., 2003; ASHFORD, 2005) (Figura 01).

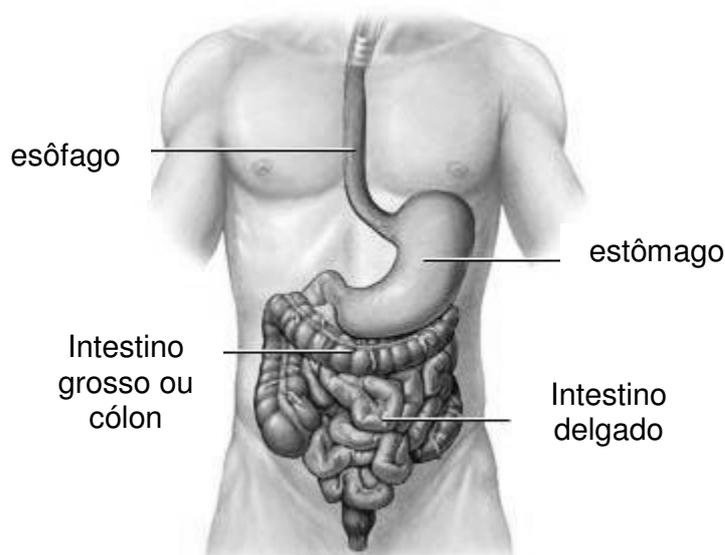


Figura 01: Ilustração do TGI humano.

3.1.2.1 ESÔFAGO:

O esôfago é o órgão onde os alimentos são impulsionados após a deglutição. Ele comunica a cavidade oral ao estômago. Sua única função é

transportar o alimento ao estômago. Ao nível da junção do esôfago com o estômago, há uma estrutura valvular que permanece fechada entre os dois órgãos, denominada esfíncter esofágico. Com a aproximação do alimento esta válvula se abre permitindo a passagem do alimento ao estômago. O alimento desce ao longo do esôfago a uma velocidade de 20 a 60 mm por segundo (ASHFORD, 2005).

O esôfago mede aproximadamente 250 mm de comprimento e 20 mm de diâmetro. O pH do lúmen esofágico varia normalmente entre 5 e 6. O tempo de trânsito das formas farmacêuticas no esôfago é extremamente rápido, sendo cerca de 10 a 14 segundos, este tempo depende tanto da forma farmacêutica como da postura do indivíduo ao ingerir o medicamento (ASHFORD, 2005).

3.1.2.2 ESTÔMAGO:

Entre a parte terminal do esôfago e o início do intestino delgado, encontra-se o estômago. O estômago é a região mais dilatada do TGI. Este é diferenciado em quatro regiões anatômicas: fundo, corpo, antro e piloro (CORÁ et al., 2005).

Este órgão apresenta 4 funções mecânicas básicas: a) atuar como reservatório temporário para os alimentos ingeridos e transferi-los para o duodeno, a uma velocidade controlada; b) reduzir o tamanho dos sólidos ingeridos, promovendo a digestão; c) promover o esvaziamento gástrico, liberando os alimentos já parcialmente digeridos para o intestino delgado e d) reduzir o risco de substâncias nocivas alcançarem o intestino (ASHFORD, 2005; CORÁ et al., 2005; TACK, 2007).

A microflora gástrica é predominantemente gram positiva e aeróbia e sua concentração bacteriana é de cerca de 10^3 UFC/mL. Os microorganismos mais frequentemente encontrados são Lactobacilos, *Staphylococcus* e fungos. Enterobactérias como *Clostridium* e *Bacteróides* estão ausentes ou presentes em baixas contagens, contudo, podem estar presentes bactérias anaeróbias de origem oral como *Peptostreptococcus*, *Fusobacterium* e espécies de *Bacteróides* (TACK, 2007).

Um fator determinante para o início da absorção de um fármaco no intestino delgado é a velocidade de esvaziamento gástrico. Este é altamente variável inter e intra individualmente e dependente de vários fatores, que podem

ser de natureza fisiológica, patológica ou farmacológica (CORÁ et al., 2005). Os tempos de residência gástrica, geralmente variam de 5 minutos a 2 horas, sendo que já foram registrados tempos maiores, acima de 12 horas, como é o caso de formas farmacêuticas unitárias grandes (QUIGLEY, 2003) e de formas farmacêuticas gastrorretentivas. Os sistemas gastrorretentivos, que tem como objetivo aumentar o tempo de permanência do fármaco a nível gástrico apresentam vários dispositivos, como os mucoadesivos, intumescíveis, alta-densidade e os flutuantes, todos com diferentes formas de atuação (BARROCAS et al., 2007).

Entre os primeiros fatores, encontramos o volume da refeição, a sua natureza, o conteúdo energético, a acidez, a viscosidade e a temperatura, sendo que a passagem através do estômago é mais rápida no caso de líquidos frios (FREIRE et al., 2006a). O estado prandial é um dos fatores que podem influenciar a motilidade e o esvaziamento gástrico das formas farmacêuticas (MOURA; REYES, 2002). No estado prandial, o que governa a motilidade gástrica e consequentemente, o tempo de trânsito da forma farmacêutica, é a atividade elétrica no estômago, também denominada de complexo mioelétrico migrante (CMM) (ASHFORD, 2005). Esse processo é caracterizado por um ciclo repetitivo, dividido em 3 fases diferentes que se repetem a cada 2 horas: a) fase I: ausência de atividade contrátil b) fase II: atividade contrátil irregular; c) fase III: fase de intensas contrações em frequência máxima, promovendo a remoção de qualquer material residual do estômago. O período de duração do (CMM) é entre 90 a 120 minutos, mas com uma variedade inter e intraindividual (ASHFORD, 2005; CORÁ et al., 2005; TACK, 2007). A presença de alimentos no estômago contribui para o retardo do esvaziamento gástrico, devido aos sinais de retroalimentação duodenal, incluindo principalmente o reflexo enterogástrico e a retroalimentação hormonal, ou seja, a velocidade do esvaziamento do estômago é limitada pela quantidade de quimo que o intestino delgado pode processar (MOURA; REYES, 2002).

Além disso, fatores diretamente relacionados com o indivíduo tais como o exercício físico, posição em que se encontra, idade e fatores de ordem emocional podem ter um efeito direto no tempo de esvaziamento gástrico (FREIRE et al., 2006a).

Determinadas patologias como a diabetes, as úlceras gástricas e o refluxo gastroesofágico aceleram o tempo de esvaziamento gástrico, ao passo que outras como o hipertireoidismo ou a úlcera duodenal tendem a diminuí-lo (FREIRE et al., 2006a).

Em relação à natureza tecnológica, os fatores mais determinantes no que se refere ao esvaziamento gástrico de formas farmacêuticas são o seu tamanho e a densidade. A previsibilidade do esvaziamento gástrico diminui à medida que se aumenta o tamanho das formas farmacêuticas, sendo que partículas com dimensões superiores a 10 mm ficam retidas no estômago.

Quanto à densidade há controvérsias, estudos relatam que quanto maior a densidade de uma partícula maior o seu tempo de retenção gástrica, devido à capacidade dessas partículas em se posicionar na parte inferior do antro do estômago, como é o caso dos sistemas gastrorretentivos de alta-densidade que tem como objetivo alojar-se no ambiente do estômago resistindo aos movimentos peristálticos. Estes sistemas possuem uma densidade superior ou igual a 1,3 g/mL, que é superior à densidade do fluido gástrico (BARROCAS et al., 2007).

No entanto, outros estudos relatam que o tempo de esvaziamento gástrico de formas farmacêuticas não é significativamente afetado pela densidade. (CORÁ et al., 2005; FREIRE et al., 2006a). Clarke, Newton e Short (1995) realizaram um estudo comparativo do tempo de trânsito gastrintestinal de *pellets* com densidades de 2,0 e 2,4 g/cm⁻³ comparando com o controle (*pellets* com densidade de 1,5 g/cm⁻³), observando nenhuma diferença significativa no tempo de trânsito gastrintestinal desses sistemas.

Um significativo aspecto que também deve ser considerado em relação ao esvaziamento gástrico, é a força que a parede gástrica, através de movimentos peristálticos, aplica nas formas farmacêuticas sólidas podendo desta forma interferir nos processos de desintegração e dissolução do medicamento (CORÁ et al., 2005).

Segundo Corá e colaboradores (2005), o estômago humano no estado alimentado tem a capacidade de promover uma força destrutiva de 1,89 N, podendo dessa forma, interferir na eficácia terapêutica das formas farmacêuticas de liberação modificada.

Segundo Freire e colaboradores (2006), estudos realizados com sistemas multiparticulados comparando o esvaziamento gástrico antes e após uma refeição,

os resultados demonstraram esvaziamento gástrico exponencial na ausência de alimentos e linear na presença destes.

3.1.2.3 INTESTINO DELGADO:

O intestino delgado estende-se desde o esfíncter pilórico do estômago até a junção ileocecal, onde se une ao intestino grosso. Esta é a região mais comprida do trato gastrintestinal, medindo cerca de 4 a 5 m (ASHFORD, 2005). Suas principais funções são: o processo de digestão enzimática, que se inicia no estômago e completa-se no intestino delgado e a absorção de nutrientes (CORÁ et al., 2005).

O intestino delgado exhibe diferentes padrões de motilidade em função da presença ou ausência de alimentos. Durante a fase pós-prandial, o intestino delgado é dominado por movimentos peristálticos que asseguram a mistura e a propulsão do seu conteúdo e, que uma vez terminada, dá lugar ao complexo motor migratório (FREIRE et al., 2006a).

O tempo de trânsito no intestino delgado é relativamente constante, sendo de aproximadamente 3 horas e não é afetado pelo estado de nutrição ou pela natureza da refeição. Além disso, este parece não distinguir líquidos de sólidos e nem distinguir diferentes tamanhos e densidades dos sólidos, ou seja, o tempo de trânsito nesta região independe da forma farmacêutica (FREIRE et al., 2006a).

3.1.2.4 CÓLON:

O cólon é a porção terminal do trato gastrintestinal, estendendo-se desde a junção íleocecal até o ânus. Este é diferenciado em cecum, cólon ascendente, cólon transversal, cólon descendente, sigmóide e o reto (ASHFORD, 2005) (Figura 02).

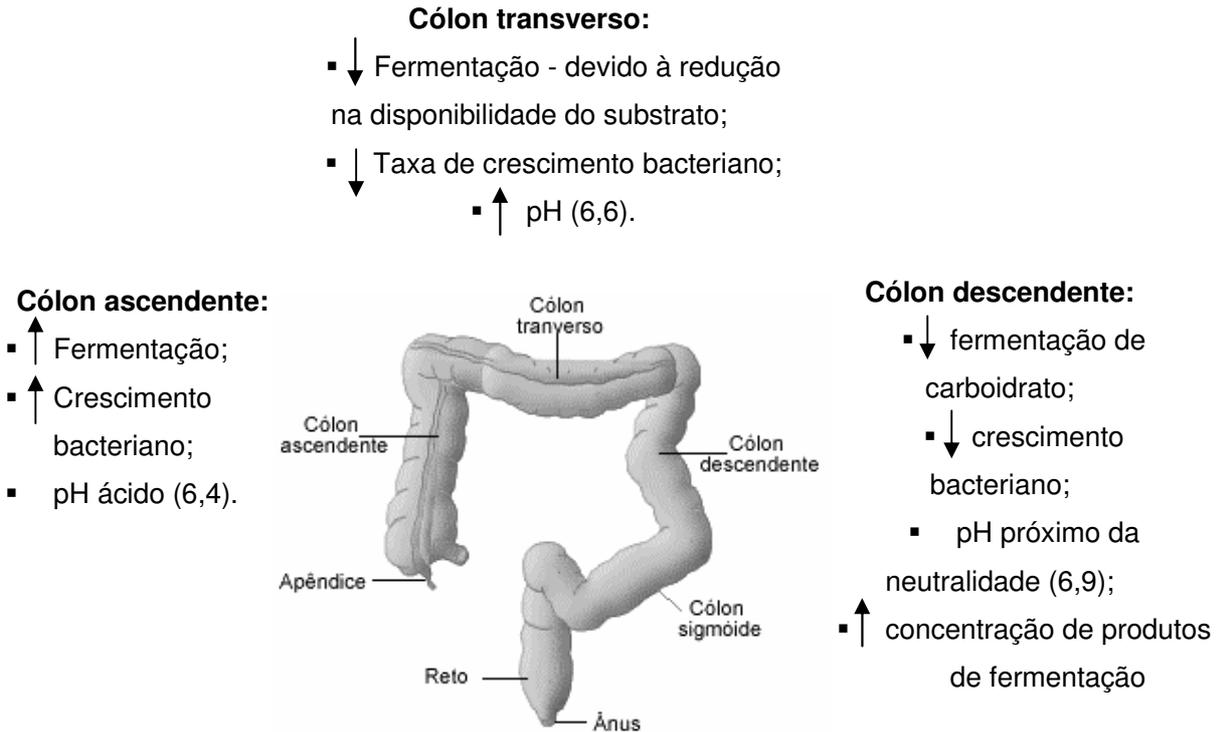


Figura 02: Esquema do intestino grosso humano (VANDAMME et al., 2002).

A principal função do cólon é absorver água e eletrólitos (FREITAS, 2006a). Mais de 1,500 g de matérias indigestas (proteínas, mucinas, polissacarídeos degradados parcialmente entre outros) e de líquido entram no cólon por dia atuando como substrato para a fermentação da microflora. A porção do cólon ascendente é provavelmente a região com maior quantidade de líquido. Segundo Yang (2008) estudos realizados em voluntários saudáveis demonstraram que o volume neste local foi de 170 ± 40 mL. Os produtos da fermentação, junto da água e de outros nutrientes são absorvidos no cólon, condensando o conteúdo em fezes durante o trânsito colônico para posterior defecação. Embora a capacidade de absorção no mesmo seja menor do que no intestino delgado, o tempo de residência no cólon é de 2 a 3 dias, favorecendo a absorção de fármacos (FREITAS, 2006a).

O cólon é considerado um ambiente ideal para a absorção de fármacos, devido à baixa diversidade e atividade das enzimas digestivas e o pH próximo do neutro (SINHÁ; KUMRIA, 2002; ORLU; CEVHER; ARAMAN, 2006; IBEKWE et al., 2007).

Segundo Shimono e colaboradores (2002), o cólon é um importante local para a administração sistêmica de fármacos do tipo peptídeos e proteínas, como a insulina e a calcitonina, pois a degradação ácida e enzimática que estes sofrem no estômago e no intestino, que constitui um dos maiores obstáculos para a administração por essa via, não ocorre.

O cólon humano é de natureza anaeróbia com uma concentração bacteriana de 10^{12} UFC/mL (RUBINSTEIN, 2005), consistindo de mais de 500 espécies de bactérias (OLIVEIRA; CAVALCANTI, 2007) predominantemente anaeróbias, e de pequeno número de fungos. A flora colônica é habitada principalmente por *Bacteróides fecalis* e bifidobactérias, ao passo que *Clostridium*, enterobactéria e *Lactobacilus anaerobics*, são comparativamente menos significativos. Em condições fisiológicas normais, estas bactérias não se encontram no estômago, dadas as suas condições de acidez. O número de microorganismos aumenta gradualmente ao longo do intestino delgado e encontra a sua expressão máxima em torno da válvula ileocecal. No cólon a velocidade de crescimento dos microorganismos é máxima nas suas regiões proximais (FREIRE et al., 2006a).

Essas bactérias produzem um amplo espectro de enzimas de natureza hidrolítica e redutiva que estão ativamente envolvidas em inúmeros processos no cólon, tais como, fermentação de carboidratos e proteínas, metabolismo de substâncias xenobióticas, transformação de esteróides, bem como, ativação e destruição de metabólitos mutagênicos potentes (YANG, 2008).

Esta fonte nutricional permanece qualitativamente semelhante de um indivíduo para outro, podendo diferir quantitativamente (Quadro 01). Essas variedades de bactérias desempenham inúmeras reações metabólicas, como hidrólise de ésteres de ácidos graxos e a redução de fármacos da sua forma conjugada inativa para a forma ativa (ASHFORD, 2005). As enzimas hidrolíticas mais extensivamente estudadas são a glucosidase e a glucuronidase, enquanto que as enzimas redutivas mais estudadas são a nitroreductase, a azoreductase, o N-óxido e a sulfóxido reductase (YANG, 2008).

Quadro 01 – Constituição da flora gastrointestinal humana

	Número de bactérias (UFC.mL⁻¹)			
	Estômago	Jejuno	Íleo	Fezes
Bactérias total contadas	0 -10 ³	0 -10 ⁵	10 ³ - 10 ⁷	10 ¹⁰ – 10 ¹²
Bactérias aeróbias facultativas				
Enterobactéria	0 -10 ²	0 -10 ³	10 ² – 10 ⁶	10 ⁴ – 10 ¹⁰
<i>Streptococcus</i>	0 -10 ³	0 – 10 ⁴	10 ² -10 ⁶	10 ⁵ -10 ¹⁰
<i>Staphylococcus</i>	0 – 10 ²	0 – 10 ³	10 ² – 10 ⁵	10 ⁴ – 10 ⁷
<i>Lactobacillus</i>	0 – 10 ²	0 – 10 ²	10 ² -10 ³	10 ² -10 ⁶
Bactérias anaeróbias				
Bacteóides	Raras	0 -10 ²	10 ³ - 10 ⁷	10 ¹⁰ – 10 ¹²
Bifidobactéria	Raras	0 -10 ³	10 ³ - 10 ⁵	10 ⁸ – 10 ¹²
Cocos gram positivos	Raras	0 -10 ³	10 ² – 10 ⁵	10 ⁸ – 10 ¹¹
Clostrídeos	Raras	Raras	10 ² – 10 ⁴	10 ⁶ – 10 ¹²
Eubactérias	Raras	Raras	Raras	10 ⁹ – 10 ^{1H}

FONTE: FREIRE et al., 2006a).

Dentre os fatores que influenciam o crescimento da microflora colônica incluem-se a motilidade intestinal, a presença de anticorpos, idade, a desordem gastrointestinal, a dieta e a administração de fármacos, entre outros. Todos estes parâmetros devem ser analisados, uma vez que estes podem inativar o fármaco ou desencadear efeitos colaterais ao indivíduo (VANDAMME et al., 2002).

O pH no cólon varia em torno de 6,4 a 7,6 (FREITAS, 2006a), podendo ainda variar em pacientes com doenças inflamatórias intestinais, não tratadas é cerca de 4,7 e pacientes em tratamento é em torno de 5,5 (SHIMONO et al., 2002). Segundo Friend (2005), estudos realizados em voluntários com colite ulcerativa verificaram que o pH luminal foi altamente variável, pois alguns pacientes apresentaram pH colônico em torno de 5,0 a 7,0, entretanto em alguns pacientes o pH reduziu para 2,3; 2,9 e 3,4. Em pacientes com doença de Cronh o pH intraluminal apresentou valores diferenciados, no cólon ascendente 5,0 ± 0,3, porém valores menores de pH foram obtidos nas regiões mais distais do cólon.

Ao contrário do estômago e do intestino delgado, que pode ser caracterizada pela aparência cíclica do complexo motor migratório, a

caracterização da motilidade colônica é bem mais limitada, devido a sua inacessibilidade e diferenças regionais presentes na estrutura e na função (YANG, 2008).

A primeira porção do cólon, que compreende o cecum, cólon ascendente e parte do cólon transverso, caracteriza-se por um anti-peristaltismo, onde o conteúdo fecal fica retido por longos períodos de tempo, permitindo a absorção prolongada de água, eletrólitos e princípios ativos, se estes forem passíveis de ser absorvidos nesta região. Além disso, nesta porção o conteúdo intestinal não é tão viscoso, o que faz do cólon proximal o local preferencial de liberação de fármacos. A restante parte do cólon transverso e cólon descendente são caracterizados por movimentos peristálticos coordenados que forçam o conteúdo intestinal a fragmentar-se e progredir em direção à porção final do cólon. A região do cólon sigmóide e do reto, local onde as fezes ficam armazenadas, são caracterizadas por contrações musculares vigorosas (FREIRE et al., 2006a).

Baseado em estudos manométricos realizados em voluntários sadios durante 24 horas, observou-se que a motilidade contrátil do cólon pode ser descrita por alterações irregulares de quiescência, prevalência de não propagação, contrações segmentais e ocorrência não freqüente de contrações propagadas de baixa e alta amplitude (< 50 mmHg e > 100 mmHg, respectivamente). Essas contrações não freqüentes originam-se no cecum e no cólon ascendente, sendo as de baixa amplitude propagadas mais frequentemente (mais de 100 vezes por dia) e as de alta amplitude cerca de 4 a 12 vezes por dia (YANG, 2008).

Segundo Freire e colaboradores (2006a), estudos realizados em indivíduos normais demonstraram que o tempo de trânsito de alimentos na região proximal é, aproximadamente, entre 7 e 11 horas. No cólon esquerdo é de cerca de 9 a 11 horas e por último no cólon sigmóide, varia entre 12,5 a 18,5 horas. Deste modo, o tempo de trânsito total é de cerca de 22 a 36 horas, podendo variar entre 18 a 144 horas.

Apesar de o cólon apresentar um tempo de residência favorável para a absorção de fármacos, esse processo pode ser limitado por um número elevado de barreiras físicas, químicas e metabólicas como o lúmen, a presença de muco, o espaço existente entre o muco e as células epiteliais e o epitélio (FREIRE et al., 2006a).

3.1.3 Vetorização de Fármacos para o Cólon:

A vetorização pode ser considerada como um carreador visando modular e, se possível, direcionar totalmente a distribuição de um princípio ativo no organismo, associando-o a um sistema apropriado chamado vetor da substância em questão. Os vetores tornam a distribuição do princípio ativo no organismo o mais independente das suas propriedades, porém submetida às propriedades do vetor, em função do alvo a ser atingido (LE HIR, 1997).

A vetorização de fármacos para o cólon é uma alternativa para o tratamento de doenças crônicas inflamatórias do intestino. As doenças colônicas são de origem idiopática caracterizadas por inflamações no TGI inferior. Os sintomas mais comuns são dores abdominais, câimbras, perda de peso, diarréia e sangramento retal. As doenças inflamatórias do intestino podem ser subdivididas em 2 grandes representantes, doença de Crohn e colite ulcerativa (RIJNIESE; NIJKAMP; KRANEVELD, 2007).

A inflamação do cólon é usualmente tratada pela administração tópica de enema (KRISHNAIAH; SATYANARAYANA; RAMA PRASAD, 1999). No entanto, com o uso da via de administração retal, os fármacos nem sempre alcançam o local específico onde estão às doenças colônicas e onde ocorre a absorção destes (VANDAMME et al., 2002).

Para que o fármaco seja especificamente liberado no cólon e lá absorvido, a via de escolha deve ser a administração oral e as formas farmacêuticas devem ser formuladas levando em consideração os obstáculos do TGI superior (VANDAMME et al., 2002). As várias estratégias desenvolvidas para liberar o fármaco no cólon utilizam características específicas do organismo para o delineamento desses sistemas de liberação, como o tempo de trânsito no intestino delgado, que depende da liberação programada do fármaco, o pH específico do cólon, a presença de enzimas no cólon, a pressão luminal e o ambiente da microflora colônica (COLLETT; MORETON, 2005; IBEKWE et al., 2007), podendo estes parâmetros diferirem de indivíduo para indivíduo, conforme as condições patológicas e dieta adotada pelo paciente, influenciando na liberação prematura e não específica do fármaco no cólon (VANDAMME et al., 2002).

Na literatura, há o relato do desenvolvimento de diferentes sistemas que visam liberar o fármaco no cólon, dentre estes, estão os sistemas monolíticos, como comprimidos e os sistemas multiparticulados (CHAMBIN et al., 2006).

O sistema monolítico pode ser definido como um suporte constituído de um excipiente fisiologicamente bem tolerado formando uma rede destinada a incorporar o fármaco. Esses sistemas podem ser elaborados para uma liberação sustentada ou controlada do fármaco no TGI (OLIVEIRA; LIMA, 2006). Apresentam a vantagem de serem utilizados, em larga escala, pela indústria farmacêutica sem necessidade de recorrer a equipamentos muito sofisticados (LIU et al., 2003).

Os sistemas multiparticulados são formas farmacêuticas sólidas de uso oral que consistem de uma multiplicidade de pequenas e discretas unidades, cada uma exibindo características farmacotécnicas planejadas para propiciar a liberação controlada do fármaco (GANDHI ; KAUL; PANCHAGNULA, 1999).

As formas farmacêuticas multiparticuladas, como *pellets*, grânulos ou partículas, possuem várias vantagens, tais como maior uniformidade de dispersão no trato gastrointestinal, maior uniformidade de liberação do fármaco e maior flexibilidade no processo de formulação (ZHANG; ALSARRA; NEAU, 2002).

Como o tamanho dos sistemas multiparticulados é reduzido (usualmente 0,7 a 2,00 mm), estes passam muito facilmente pelo TGI superior, alcançando rapidamente o cólon e retardando o trânsito das partículas ao longo do cólon ascendente (ZHANG; ALSARRA; NEAU, 2002), pois o movimento de partículas pequenas é mais lento, aumentando seu tempo de residência nesta região (HOGAN, 2005).

A estratégia para liberar o fármaco no cólon baseada em sistemas tempo-dependente, tem a capacidade de eliminar a variabilidade associada ao tempo de esvaziamento gástrico, explorando o tempo de trânsito relativamente constante ao longo do trânsito do intestino delgado (cerca de 3 horas). Estes são estáveis ao ambiente gástrico do estômago, devendo o fármaco ser liberado após uma fase de latência de 3 a 4 horas (FRIEND, 1998; FREIRE et al.; 2006b).

Entretanto, embora o tempo de trânsito no intestino delgado seja mais constante, a alta variação do tempo de retenção gástrica torna difícil a previsão do local exato da liberação do fármaco por esse sistema. Deve-se considerar ainda que seu desempenho pode ser significativamente afetado por condições

fisiopatológicas associadas ao TGI, as quais alteram o tempo de trânsito (YANG; CHU; FIX, 2002).

Já os sistemas pH-dependentes exploram as variações de pH ao longo do TGI para liberar seletivamente fármacos no cólon. Baseiam-se, geralmente, no revestimento de comprimidos, *pellets* e cápsulas com polímeros insolúveis em pH ácido e solúveis a pH neutro ou ligeiramente alcalino (YANG; CHU; FIX, 2002). Nos sistemas revestidos, a liberação pode ser controlada pela composição e tipo de material de revestimento, bem como, pela espessura e estrutura da camada dos filmes de revestimento (PIAO; LEE; LEE, 2008). Para a liberação do fármaco em pH específico o uso de polímeros de revestimentos sensíveis ao pH, como acetofalato de celulose, ftalato de hidroxipropilmetilcelulose, Eudragit® L 100-55 (pH 5,5), Eudragit S (pH 7,0) ou combinações destes são amplamente utilizados para a liberação do fármaco no cólon (COLLETT; MORETON, 2005).

Estes revestimentos têm a capacidade de prevenir o intumescimento e a dispersão dos polissacarídeos como QS e AL, ao longo do TGI até a entrada do cecum (SEMDÉ; DEVLEESCHOWER; MÖES, 2000). Piao, Lee e Lee (2008) desenvolveram um sistema de liberação colônico, a partir de comprimidos revestidos com polímeros pH-dependente Eudragit® S100 e pH-independente Eudragit® RS100 contendo naproxeno complexado com ciclodextrina. Os resultados mostraram que a liberação do fármaco pelos comprimidos revestidos com Eudragit® S100 variou entre 4 a 6 horas, dependendo dos tipos de desintegrante e plastificante utilizados e da espessura da camada de revestimento. Além disso, a incorporação do complexo naproxeno-ciclodextrina na forma farmacêutica revestida demonstrou ser eficiente para reduzir danos causados na mucosa gástrica pelo naproxeno.

Cabe ressaltar, que na estratégia pH-dependente a liberação do fármaco em local específico é imprevisível, devido à variação inter e intra individual e a semelhança do pH entre o intestino delgado e o cólon (YANG; CHU; FIX, 2002; SINHA; KUMRIA, 2003).

Outra estratégia empregada para liberar especificamente os fármacos no cólon baseia-se na presença de ondas peristálticas vigorosas que aí ocorrem e que conduzem a um aumento da pressão intraluminal. Estas formulações denominadas PCDC® "*Pressure control colon delivery capsule*", consistem em cápsulas com forma de supositórios de polietilenoglicóis (PEG), revestidas por

etilcelulose cuja liberação específica no cólon é controlada pela pressão (FRIEND, 2005).

Com base na limitada avaliação *in vivo* destes sistemas, demonstrou-se que a sua capacidade para liberar fármacos especificamente no cólon, depende da espessura do filme de etilcelulose e do tamanho da cápsula: à medida que a espessura aumenta, aumenta a fase de latência. No entanto, deve ser referido que o conhecimento sobre esta fase de pressão aumentada é muito limitado, principalmente no que diz respeito à sua reprodutibilidade e duração. Na realidade, as maiores ondas peristálticas surgem, apenas, uma a duas vezes por dia de acordo com o ritmo circadiano. Portanto, a reprodutibilidade destes sistemas pode constituir uma séria limitação ao seu uso (FREIRE et al.; 2006b).

As enzimas envolvidas na degradação de fármacos ou de outros compostos na região do cólon, têm sido empregadas especificamente para romper certos fármacos e ligar-se em polímeros ou outras moléculas. Os fármacos geralmente são ligados por, ligações do tipo azo (N=N). Baseado nestes dados surgiu o desenvolvimento de pró-fármacos (VANDAMME et al., 2002). Um exemplo clássico é a sulfasalazina, que é um pró-fármaco do ácido 5-aminosalicílico (5ASA) (WIWATTANAPATAPEE; LOMLIM; SARAMUNEE, 2003; ZOU et al., 2005; FREITAS, 2006).

O mecanismo desencadeante da liberação cólon-específica através de pró-fármacos consiste na quebra da ligação entre o fármaco e o carreador via redução e hidrólise efetuadas por enzimas oriundas das bactérias do cólon, como azoredutase, glicosidase e glucuronidase (YANG; CHU; FIX, 2002).

Como mencionado anteriormente, o cólon é colonizado por um elevado número de bactérias que tem a capacidade de metabolizar diversos compostos endógenos e exógenos. Portanto, os sistemas de liberação baseados na microflora colônica, têm como estratégia a utilização desse metabolismo bacteriano para promover a liberação específica de fármacos no cólon, através de recursos como pró-fármacos, formulações revestidas por polímeros biodegradáveis ou matrizes e hidrogéis (FREIRE et al., 2006b).

Além disso, a elevada atividade enzimática presente no cólon ascendente e as vantagens desse sistema de não depender de parâmetros fisiológicos do TGI, como o tempo de trânsito e o pH, tornam este sistema altamente promissor (YANG; CHU; FIX, 2002; YANG, 2008).

Uma das formas de se desenvolver um sistema cólon específico, cujo mecanismo desencadeante da liberação seja a microflora colônica, está baseada no uso de polissacarídeos. A aplicação de polissacarídeos no desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos está baseada na abundância dos mesmos, são encontrados facilmente, terem custo baixo e serem disponíveis em uma ampla variedade de estruturas e, conseqüentemente, de propriedades físico-químicas (VANDAMME et al., 2002).

A microflora colônica é capaz de fermentar, uma ampla variedade de polissacarídeos, dissacarídeos não absorvíveis e oligossacarídeos de origem natural. Os polissacarídeos permanecem indigestos no estômago e no intestino delgado e só são degradados pela vasta microflora anaeróbica do cólon (SINHA et al., 2004). As enzimas responsáveis pela degradação de polissacarídeos incluem β -D- fucosidase, α -L-arabinofuranosidase, β -D-glucosidase, β -D-galactosidase e β -D-xilosidase, sendo as três últimas consideradas mais ativas (YANG, 2008).

Um elevado número de polissacarídeos de várias origens foi testado quanto ao seu potencial como carreadores em sistemas de liberação cólon específicos, tais como quitosana (animal), alginato (marinha), pectina (vegetal), sulfato de condroitina (animal), dextrana (microbiana) e goma guar (vegetal) (SINHÁ; KUMRIA, 2001; BAJPAI; SAXENA; SHARMA, 2006).

Estes são polímeros, que podem ser facilmente modificados tanto quimicamente quanto bioquimicamente, lembrando que a biodegradabilidade desses polímeros deve ser mantida. São altamente estáveis, atóxicos, seguros, podem ser hidrofílicos ou hidrofóbicos, são resistentes às bactérias presentes no ambiente gástrico e intestinal, sendo hidrolisados por bactérias colônicas (SINHÁ; KUMRIA, 2001; SINHA et al., 2004).

Segundo Yang (2008) a eficiência dos sistemas cólon-específico, baseado na microflora colônica, depende de vários fatores que incluem a fermentabilidade dos polissacarídeos, a proporção de polissacarídeo disponível para a degradação, a motilidade do cólon, a quantidade de líquido aquoso disponível no mesmo e a composição e especificidade do substrato da microflora colônica. Para verificar a liberação do fármaco desses sistemas ativados pela microflora colônica o método de dissolução USP, utilizando como meio colônico conteúdo fecal de ratos e de humanos tem sido amplamente utilizado. Porém, segundo Macfarlane e Macfarlane (2007), apesar da disponibilidade dos modelos animais, como os

ratos, para a investigação dos processos metabólicos mediados pelos microorganismos intestinais, esses modelos são relativamente caros, quando comparados com modelos in vitro. Além disso, a fisiologia digestiva do animal difere da humana (Tabela 01)

Tabela 01: Comparação da composição da flora intestinal humana e a de ratos**LOG MÉDIO, CONTAGEM VIÁVEL^a DE MICROORGANISMOS**

Espécie	Sítio	<i>Enterobactéria</i>	<i>Enterococci</i>	<i>LactoBacilli</i>	<i>Veiloneilae</i>	<i>yeasts</i>	<i>clostridia</i>	<i>Bacteróides</i>	<i>Bífido-batéria</i>
Humanos	Estômago	N	N	N	N	N	N	N	N
	Intestino delgado superior	N	N	1,0	N	1,0	N	2,5	2,0
	Intestino delgado inferior	3,3	2,3	N	N	2,3	N	3,5	4,0
	Intestino grosso	7,0	7,0	6,5	3,0	N	N	8,0	7,0
	Reto/fezes	6,0	3,5	4,0	3,0	1,0	3,0	10,5	10,5
Ratos	Estômago	4,1	3,9	6,6	7,8	4,1	3,3	7,0	7,6
	Intestino delgado superior	4,5	4,7	6,7	4,5	4,0	3,0	6,3	6,7
	Intestino delgado inferior	4,1	5,0	6,8	5,1	3,9	3,3	6,9	7,6
	Intestino grosso	5,5	6,0	7,6	5,7	5,9	3,1	80	8,2
	Reto/fezes	5,9	6,6	7,8	5,8	5,8	3,0	8,2	86

.a: contagem viável por grama de peso úmido do material teste; N: menor do que 10 organismos por grama de peso úmido do material teste (Fonte: JAIN; GUPTA; JAIN, 2007).

3.2 Polissacarídeos Naturais:

Os polissacarídeos naturais são formados por unidades básicas de glicose, ligadas como anéis de grupos acetais (aldeído e álcool) e, portanto, com grande quantidade de grupos hidroxilas (alta hidrofília). Estes se formam durante o ciclo de crescimento de organismos vivos. A síntese envolve geralmente, reações catalisadas por enzimas e reações de crescimento de cadeia a partir de monômeros ativados, que são formados dentro das células por processos metabólicos complexos (FRANCHETTI; MARCONATO, 2006).

Os principais polissacarídeos de interesse comercial são o amido e a celulose, havendo uma atenção especial aos carboidratos mais complexos, como quitosanas, quitinas e xantanas (FRANCHETTI; MARCONATO, 2006).

3.2.1 Quitosana (QS):

A QS é um polímero com caráter catiônico encontrado na parede celular de alguns fungos e também obtido a partir da quitina (QN) (DODANE; VILIVALAM, 1998; GEORGE; ABRAHAM, 2006). A QN (Figura 03) é um polímero natural isolado de exoesqueleto de crustáceos aquáticos. A diferença estrutural entre estas duas fibras se deve aos grupos hidroxila, localizados na posição 2, que são substituídos na quitina por grupos acetamino, resultando em uma cadeia de β -(1,4)-2-acetamido-2-desoxi-D-glicopirranose (GLcNAc) (ABDOU; NAGY; ELSABEE, 2007).

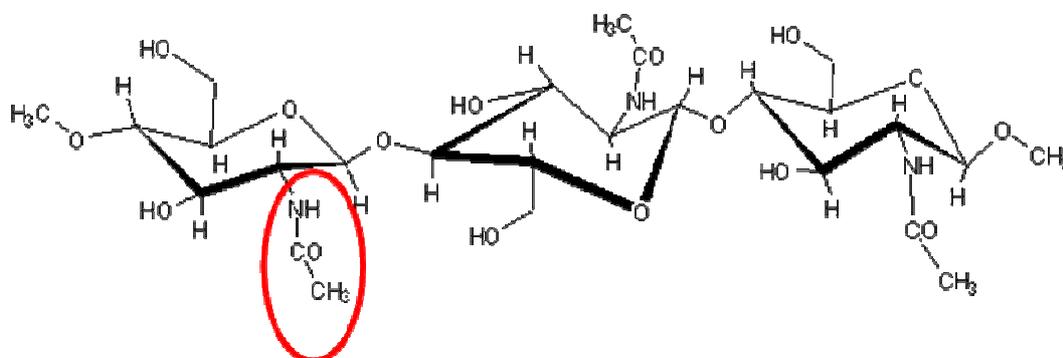


Figura 03 – Estrutura química da QN.

Quanto à estrutura química da QS (Figura 04), trata-se de um copolímero linear de 2-acetamino 2-deoxi β -D-glicose (*N*-acetil-D-glucosamina) e 2-amino-2-deoxi- β -D-glicose (D-glucosamina) com ligações β (1-4).

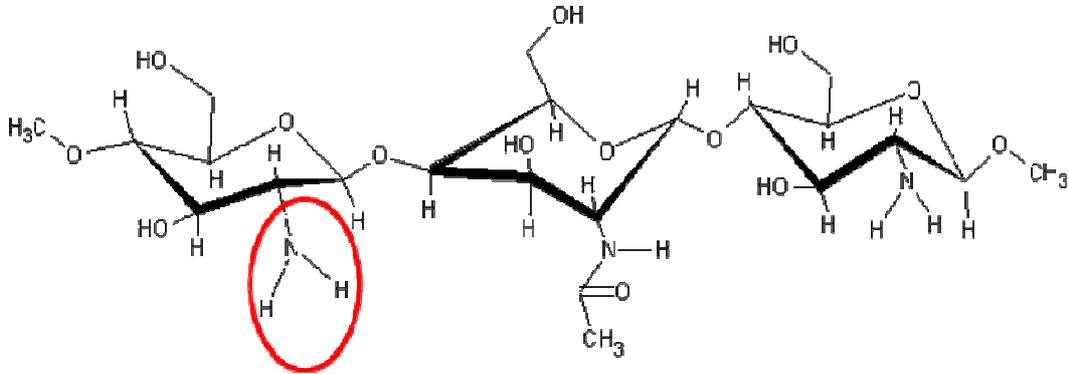


Figura 04 – Estrutura química da quitosana.

A QS é facilmente obtida pela desacetilação de quitina (QN). O processo de desacetilação envolve a remoção dos grupos acetil da cadeia molecular de QN, resultando em grupos amino livres (-NH₂) (ABDEL- FATTAH et al., 2007), através da reação de hidrólise alcalina em temperaturas altas (BRESOLIN et al., 2003; GEORGE; ABRAHAM, 2006). O processo de obtenção de quitosana está esquematizado na Figura 05:

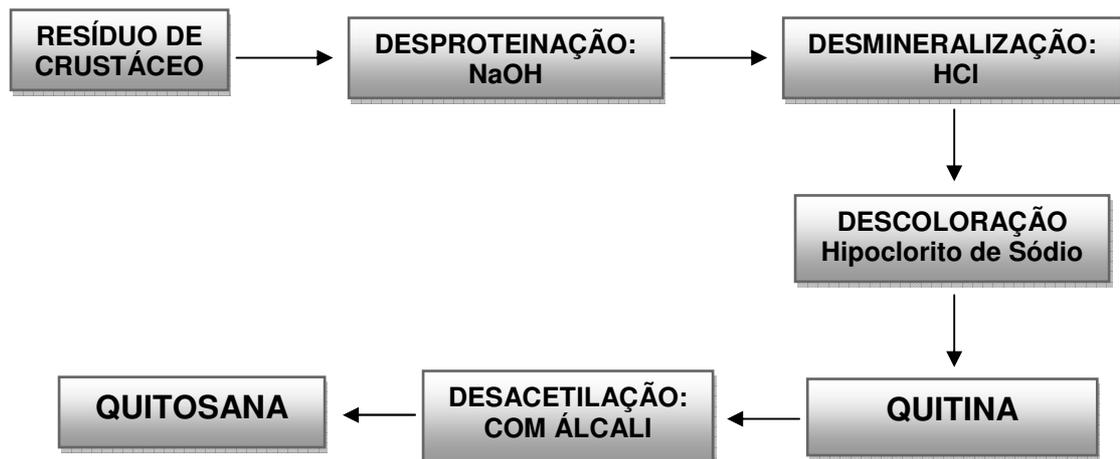


Figura 05 - Esquema simplificado do processo de obtenção da QN e QS (AZEVEDO et al., 2007).

A QN e a QS, embora consideradas biopolímeros distintos, é o parâmetro grau de desacetilação (GD), ou seja, a quantidade de monômeros desacetilados

em suas cadeias, que define a forma do biopolímero predominante. O biopolímero é considerado QS quando o grau de desacetilação for superior a 50% (BARROS et al., 2006).

Segundo Abdou, Nagy e Elsabee (2007) e Prashanth e Tahranathan (2007), as aplicações de QS e seus derivados estão estimadas em mais de 200, destas incluem: área de cosméticos, biotecnologia, microbiologia, proteção do ambiente, agricultura, alimentos, área têxtil, na biomedicina e recentemente na terapia gênica.

A QS possui aplicações na área farmacêutica, visando à liberação de fármacos, onde a atenção se focaliza na otimização da absorção de fármacos, liberação controlada e propriedades bioadesivas (DODANE; VILIVALAM, 1998, PRASHANTH; TAHRANATHAN, 2007).

Este polímero tem sido considerado um carreador versátil para espécies de ativos biológicos, tais como fármacos, devido à presença de grupos amino livres, bem como sua baixa toxicidade. Apresentando ainda ser biocompatível, biodegradável, biofuncional, não alergênica esta possui também propriedades mucoadesivas, que melhoram a penetração de macromoléculas pelas barreiras intestinais e nasais (AHN et al., 2002; PRASHANTH; TAHRANATHAN, 2007).

Quanto às propriedades mucoadesivas de QS, estudos demonstram que a mucoadesividade da mesma, aumenta com o aumento da MM e com o aumento do GD, e que, do contrário, aumentando a reticulação da QS diminui a adesão das mesmas na presença de muco (GEORGE; ABRAHAM, 2006).

A QS pode apresentar diferentes GDs, que diz respeito à proporção de grupos amino primários presentes na estrutura principal do polímero, e também pode possuir diferentes MM (GEORGE; ABRAHAM, 2006).

Durante a desacetilação, parte do polímero *N*-acetil se rompe formando unidades de D-glucosamina, que contém grupos amino livres aumentando a solubilidade do polímero em meio aquoso. As variações nos métodos de preparação de QS resultam nas diferenças nos GDs, como é o caso, da distribuição do grupo acetil, da viscosidade e da sua MM. Essas variações influenciam na solubilidade e na atividade antimicrobiana da QS (WESKA et al., 2007).

O GD mais comumente encontrado na QS comercial é em torno de 70 % a 95 % e a MM pode variar de 50 a 2000 kDa (GEORGE; ABRAHAM, 2006;

WESKA et al., 2007). Segundo Dodane e Vilivalam (1998) e Zhang, Alsarra e Neau (2002) os diferentes GDs, assim como as diferentes MMs da QS são fatores que devem ser analisados, pois estes afetam significativamente a taxa de liberação do fármaco. De acordo com Prashanth e colaboradores (2007), um aumento no GD e na quantidade de QS na formulação, pode prolongar o período de liberação do fármaco.

Durante o processo de desacetilação, existem fatores relacionados à reação, tais como: temperatura, tempo, concentração de reagentes e condições atmosféricas que influenciam a MM de QS (WESKA et al., 2007).

A solubilidade de QS depende da quantidade de grupos amino protonados ($-\text{NH}_3^+$) presentes na cadeia polimérica, ou seja, quanto maior a quantidade destes grupos, maior a solvatação em água e também maior a repulsão eletrostática (GEORGE; ABRAHAM, 2006). A QS dispersa-se facilmente em pH ácido, sendo insolúvel em pH alcalino (BRESOLIN et al., 2003).

Muitas modificações na estrutura química de QS podem ser realizadas, visando melhorar a estabilidade da mesma frente a condições ácidas, como no estômago, e também para otimizar a liberação controlada de fármacos no intestino. Como citado anteriormente, à presença de grupos amino livres na cadeia, influência na liberação do fármaco, melhorando as propriedades mecânicas e químicas de QS para a proposta de liberação de fármacos *per oral* (GEORGE; ABRAHAM, 2006).

A complexação de QS com vários poliânions (Figura 06) como pectina, colágeno, copolímero ácido maléico-polialquilenoóxido e alginato mostra ser eficiente para o desenvolvimento de formulações de liberação modificada de fármaco. O complexo alginato-quitosana (AL:QS) reduz a porosidade das partículas de alginato diminuindo a difusão do fármaco encapsulado (GEORGE; ABRAHAM, 2006, PRASHANTH; TAHRANATHAN, 2007).

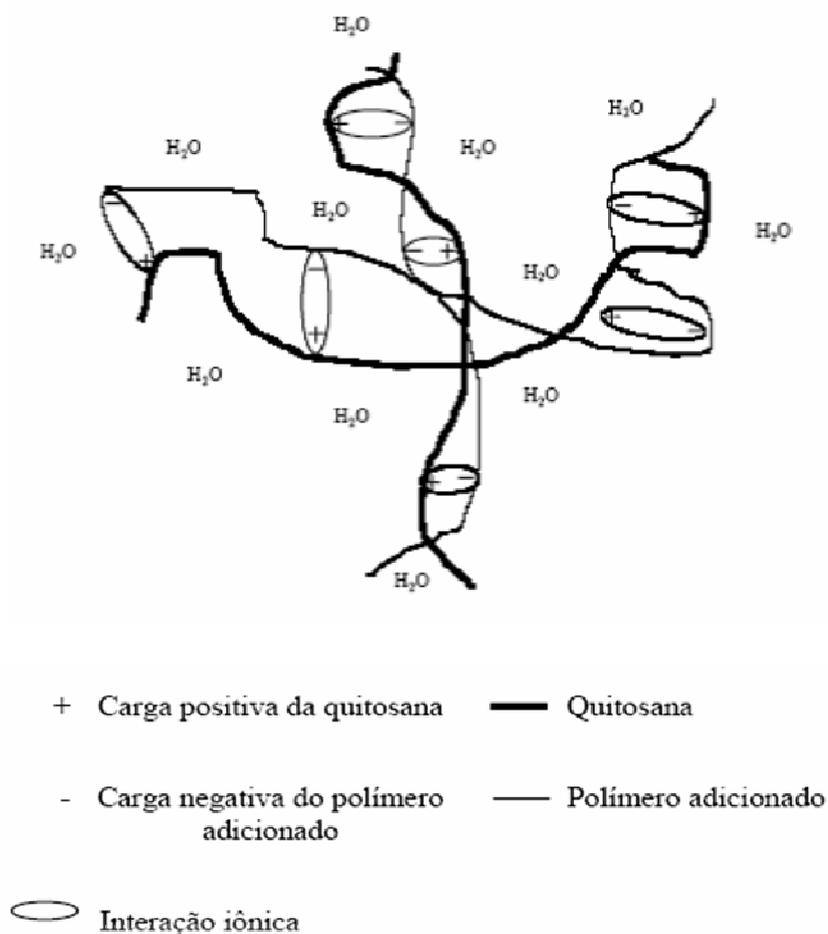


Figura 06 - Representação da estrutura de um complexo polieletrólítico contendo a QS e polímero negativamente carregado (Adaptado de Berger et al., 2004).

O complexo interpolimérico entre AL e QS ocorre em pH ácido, sendo que em pH neutro o complexo viscoso intumesce e o gel formado se desintegra lentamente liberando o fármaco. O grau de liberação é baseado no grau de reticulação entre os polímeros (TØNNESEN; KARLSEN, 2002). A fácil dispersibilidade de QS em pH ácido é prevenida pelo complexo com AL, pois este é insolúvel em condições ácidas (GEORGE; ABRAHAM, 2006).

Estudos farmacocinéticos realizados em ratos com derivados da QS (glicolquitosana e *N*-succinilquitosana) em forma farmacêutica parenteral demonstraram que a QS possui uma boa retenção na corrente circulatória e um lento acúmulo nos tecidos, sugerindo que a mesma é efetiva como carreador de fármacos que são excretados rapidamente (DODANE; VILIVALAM, 1998) e também para otimizar a biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em água (ANAL; STEVENS, 2005).

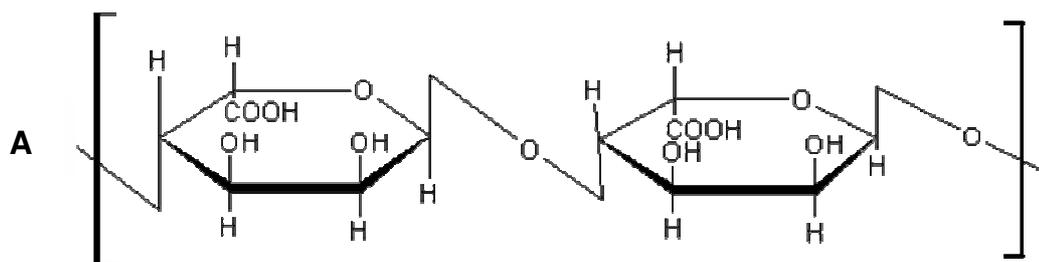
Além disso, a QS sofre a degradação por enzimas glicosidases presentes no cólon favorecendo o seu uso como excipiente em formas farmacêuticas de liberação colônica (ZHANG; ALSARRA; NEAU, 2002).

Estudos também relatam que QS em dispersão é degradada pela presença de fezes de ratos, onde um sistema multiparticulado de quitosana foi investigado para a liberação cólon-específica de macromoléculas. A albumina bovina marcada com fluoresceína isotiocianato foi utilizada como proteína modelo. Os resultados dos estudos de liberação *in vitro* mostraram que os grânulos do hidrogel foram degradados por enzimas cecal e colônica do rato, resultando em uma aceleração pronunciada na liberação da proteína. A degradação de grânulos de hidrogel de quitosana na presença de enzimas cecal e colônica do rato indica o potencial desse sistema multiparticulado de servir como um carreador para liberação de macromoléculas especificamente no cólon (ZHANG; ALSARRA; NEAU, 2002).

3.2.2 Alginato de Sódio (AL):

Alginatos de sódio são polissacarídeos lineares solúveis em água, extraído de algas marrons (GEORGE; ABRAHAM, 2006) e presentes também em algumas espécies de bactérias como isolados da forma *Azotobacter vinelandii* e de várias espécies de *Pseudomonas* (GOMBOTZ; WEE, 1998; CHAN; JIN; HENG, 2002). Os alginatos comerciais são extraídos inicialmente de três espécies de algas marrons, que incluem: *Laminaria hyperborea*, *Ascophyllum nodosum* e *Macrocystis pyrifera*.

É um copolímero constituído de dois tipos de resíduos de uronatos, β -D manuronato (M) e α -L guluronato (G) (Figura 07), unidos por ligações glicosídicas (1,4) (BRESOL et al., 2003; DRAGET; SKJAK-BRAEK; SMIDSRØD, 1997).



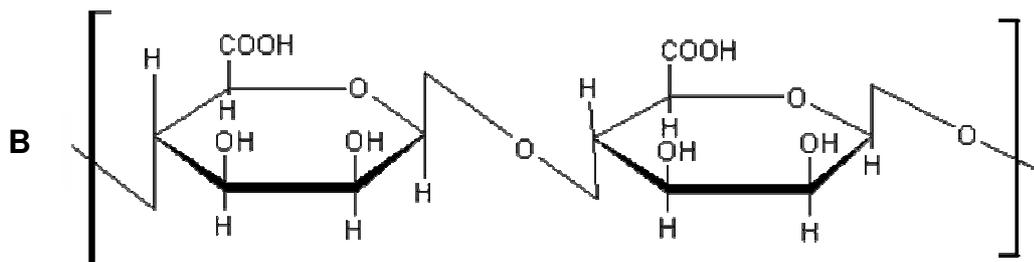


Figura 07 – Estrutura química do AL. (A) resíduo ácido L-gulurônico; (B) resíduo. ácido D-manurônico.

As formas dos monômeros e seu modo de ligação no polímero são diferentes, assim como, a geometria das regiões (G) e (M) e sua alternância, sendo que a composição e a extensão destas seqüências e a massa molecular são fatores que determinam as propriedades físico-químicas dos AL (GEORGE; ABRAHAM, 2006; DENTINI et al., 2007). De acordo com Amici e colaboradores (2008), as propriedades físicas de AL dependem da composição do ácido urônico e da quantidade relativa das três seqüências, M, G e MG. A biocompatibilidade e/ou imunogeneticidade dos ALs variam com a proporção dos resíduos M/G, sendo que geralmente AL rico em G possui uma mais alta biocompatibilidade do que polímeros ricos em M (TØNNESEN; KARLSEN, 2002).

Devido suas várias propriedades, tais como imunogenicidade, bioadesão, biodegradabilidade e biocompatibilidade, as indústrias farmacêuticas, de alimentos e de cosméticos têm investido no AL como excipiente (MIYAZAKI; KUBO; ATTWOOD, 2000; TØNNESEN; KARLSEN, 2002; BAJPAI; TANKHIWALE, 2006).

Existem comercialmente disponíveis mais de 200 diferentes graus de AL. Suas aplicações geralmente dependem da espessura do gel formado e das propriedades estabilizantes do mesmo, como por exemplo, o AL de sódio pode ser utilizado como aglutinante e agente desintegrante em comprimidos, como agente suspensor e espessante em géis miscíveis em água, loções e cremes e como um agente estabilizante para emulsões. Entretanto o maior potencial do AL refere-se ao desenvolvimento de sistemas de liberação modificada de fármacos (TØNNESEN; KARLSEN, 2002), sendo amplamente empregado para liberar materiais bioativos como insulina, imunoglobulina G, enzimas (lactases), fator necrose tumoral, entre outros (BRESOLIN et al., 2003; BAJPAI; TANKHWALE, 2006). Uma das propriedades mais importante dos AL é a sua capacidade de

formar gel ou precipitado (TØNNESEN; KARLSEN, 2002; AMICI et al., 2008) pela reação com cátions divalentes, tais como Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} (BAJPAI; SHARMA, 2004) ou Zn (CHAN; JIN; HENG, 2002), exceto Mg^{2+} , e cátions trivalentes como Al^{3+} que induzem a gelificação (TØNNESEN; KARLSEN, 2002; GEORGE; ABRAHAM, 2006).

Segundo Bajpai e Sharma (2004) estudos realizados com AL de sódio reticulado com íons divalentes de cálcio e bário e com íon trivalente de alumínio a ordem de captação de água foi $\text{Ca}^{2+} > \text{Al}^{3+} > \text{Ba}^{2+}$ e a estabilidade das partículas foi $\text{Ba}^{2+} > \text{Al}^{3+} > \text{Ca}^{2+}$, porém o alumínio demonstrou ser muito tóxico, sendo então inviável seu uso como reticulado para sistemas de liberação modificada.

Partículas de AL de cálcio são produzidas pelo método de gelificação ionotrópica e, segundo Peniche e colaboradores (2004), a reticulação do AL com íons cálcio é estabelecida pelas unidades gulurônicas, sendo que a força e a porosidade das partículas formadas dependem da origem do AL, da MM do mesmo, da concentração do cloreto de cálcio e da dispersão de AL. Dependendo da quantidade de cálcio presente no sistema, a associação inter-cadeias pode ser temporária ou permanente, por exemplo, níveis reduzidos de cálcio induzem ao aumento da viscosidade e, por conseguinte, associação temporária e níveis altos de cálcio resultam em precipitação, favorecendo a associação permanente (GEORGE; ABRAHAM, 2006).

Quando íons polivalentes, como o cálcio, entram em contato com a dispersão de AL uma membrana inicial é formada na superfície da mesma, separando a solução do eletrólito. Os íons sódio produzidos pela dissociação das macromoléculas da solução de AL migram para a solução de eletrólito através da membrana, por outro lado, os íons cálcio ocupam o espaço dos íons sódio dentro das macromoléculas de AL (KHAIROU; AL-GETHAMI; HASSAN, 2002), formando então, uma estrutura tridimensional descrita como modelo *egg box* (BAJPAI; TANKHIWALE, 2006).

A transformação de solução de AL em gel é acompanhada pela formação de capilares na direção da difusão entre a troca dos íons. Esses capilares apresentam finos poros, cujos diâmetros dependem de vários fatores, tais como, raio iônico da interdifusão do íon metálico, da concentração da dispersão do AL, do pH do eletrólito, da orientação das moléculas de água e das cadeias das

macromoléculas de AL, em relação aos íons metais quelados (KHAIROU; AL-GETHAMI; HASSAN, 2002).

Segundo Lucinda-Silva e Evangelista (2005) e Chan, Jin e Heng (2001) a afinidade dos íons cálcio pelo AL é devido sua capacidade de se ligar a dois monômeros adjacentes de ácido glucorônico na parte interna da cadeia polimérica. Essa ligação se faz necessária para o AL de cálcio funcionar como uma estrutura para as cápsulas.

Segundo Hatefi e Amsden, (2002) e Bajpai e Tankhiwale (2006), quando o AL é reticulado, através do método de gelificação ionotrópica, com íons bivalentes como cálcio ou bário, este forma partículas mais resistentes e estáveis em condições ácidas, que podem transportar diretamente estes fármacos até o local desejado ou transportar outros sistemas de liberação de fármacos, tal como, os sistemas denominados lipossomas.

Para o desenvolvimento de partículas de AL para liberação colônica devem-se levar em consideração alguns aspectos que envolvem a estrutura e o mecanismo de ação dos mesmos, como a investigação do comportamento do grau de intumescimento e a subsequente degradação da matriz em condições gástricas e nos fluídos intestinais (BAJPAI; SHARMA, 2004).

Segundo George e Abraham (2006) estudos demonstram que o tamanho molecular, a estrutura química, a cinética de formação de gel e a presença do íon cátion, como citado anteriormente, promovem um impacto nas várias propriedades funcionais do gel, que incluem comportamento de intumescimento, porosidade, biodegradabilidade, estabilidade, força do gel, características imunológicas do mesmo e biocompatibilidade.

A permeabilidade das partículas de AL de sódio pode ser modificada quando estas são adicionadas dentro de uma dispersão de um polycation como a QS. Essa reação é fortemente pH dependente, no qual a espessura da camada depende da MM de QS, assim como do pH e da concentração de QS na dispersão (PENICHE et al., 2004).

Partículas de AL:QS, têm sido muito utilizadas como transportador para a liberação controlada de proteínas e fármacos, por serem biocompatíveis, por possuírem propriedades mucoadesivas e por serem biodegradáveis (WITTAYA-AREEKUL; KRUEENATE; PRAHSARN, 2006). Além disso, a QS pode atuar como meio de revestimento de partículas de AL, para alterar o grau de difusão de

substâncias encapsuladas ou como um aditivo para modificar a estrutura das partículas (PASPARAKIS; BOUROPOULOS, 2006). Essa complexação ocorre devido às interações eletrostáticas criada pelas cargas opostas dos polieletrólitos (SARMENTO et al., 2006), pois a QS é um polication e o AL é um poliânion (TAO et al., 2006). Estudos demonstram que a mistura de AL de cálcio com outros polímeros podem afetar o tamanho dos poros formados no gel e também podem influenciar na complexidade da estrutura *egg box* (GEORGE; ABRAHAM, 2006). Vários fatores afetam as propriedades desse complexo, tais como, a composição de AL utilizado, a MM e o GD de QS (GEORGE; ABRAHAM, 2006).

Quanto ao comportamento de intumescimento das partículas de AL:QS, estudos demonstram que fatores como a presença deste complexo, o pH do meio aquoso e o estado físico inicial das partículas são parâmetros que influenciam o grau de intumescimento das mesmas (PASPARAKIS; BOUROPOULOS, 2006).

Os diferentes graus de viscosidades dos AL também parecem influenciar o processo de intumescimento, erosão e o perfil de dissolução do fármaco, demonstrando que AL de baixa viscosidade provoca uma maior erosão e liberação do fármaco da matriz, ao contrário de formulações contendo AL de alta viscosidade que exibem uma menor erosão e subsequente menor liberação do fármaco da matriz (BRESOLIN et al., 2003).

Estudos demonstram que a taxa de liberação de formas farmacêuticas de matrizes de AL também é influenciada pela proporção dos resíduos de uronatos M/G (BRESOLIN et al., 2003), ou seja, segundo Tønnesen e Karlsen (2002) a conformação do ácido gulurônico tem uma alta afinidade com o cálcio formando géis mais firmes, diminuindo então, o grau de intumescimento e erosão do mesmo. Do contrário aumentando o conteúdo do ácido manurônico, o gel se torna mais elástico, mas menos poroso dissolvendo-se muito facilmente (TØNNESEN; KARLSEN, 2002).

Portanto, assim como a proporção de fármaco/alginato, a concentração do cloreto de cálcio, o pH, a solubilidade do fármaco, seu caráter iônico, a composição do meio e a MM do AL são fatores que afetam a taxa de liberação das partículas de AL (BRESOLIN et al., 2003).

3.3 Polímeros para Revestimento de Formas Farmacêuticas Sólidas:

A elevada hidrofília comumente apresentada pelos polissacarídeos, em geral, constitui fator limitante da sua aplicação individual em sistemas voltados à liberação modificada de fármacos (ROSINA; BARONI; CAVALCANTI, 2004). Entretanto, com a combinação de polissacarídeos com polímeros gastro-resistentes e insolúveis em água no revestimento das partículas poder-se-á estrategicamente desenvolver uma ferramenta capaz de controlar a liberação do fármaco, sustentar a ação terapêutica ao longo do TGI e liberar o fármaco no alvo desejado (LOPES; LOBO JOSÉ; COSTA, 2005; GEORGE; ABRAHAM, 2006), prevenindo o intumescimento precoce e conseqüente liberação prematura do fármaco no TGI superior (BRESOLIN et al., 2003).

Os polímeros derivados da celulose, como a etilcelulose, ftalato de hidroxipropilmetilcelulose e acetoftalato de celulose são os mais empregados para tal proposta. Estes são todos derivados da celulose (Figura 08) pela substituição das hidroxilas. O número de hidroxilas substituídas na estrutura da celulose é determinado pelo grau de substituição, que no máximo é de três (Figura 09) (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2006).

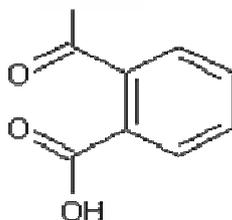


Figura 08 - Estrutura química da celulose.

POLÍMERO	GRUPO SUBSTITUINTE
Etilcelulose	$\text{--- H} \quad \text{--- CH}_2\text{CH}_3$
Ftalato de hidroxipropilmetilcelulose	$\text{--- H} \quad \text{--- CH}_3 \quad \begin{array}{c} \text{--- CH}_2\text{--- CH --- CH}_3 \\ \\ \text{OH} \end{array}$
Acetofalato de celulose	$\text{--- H} \quad \begin{array}{c} \\ \text{--- C --- CH}_3 \end{array}$

Figura 09 - Estrutura química dos derivados da celulose.

Os principais polímeros gastro-resistentes possuem grupos carboxil, os quais são insolúveis em água na sua forma protonada (meio ácido) e se dissolvem na faixa de pH fracamente ácida a neutra, entre 5,0 a 7,0, através da formação de sais (BAUER et al., 1998).

Os formadores de filme gastro-resistentes também podem ser representados pelos polimetacrilatos tais como os derivados poliácidos metacrílico etacrilato e poli ácido metacrílico metil metacrilato como os Eudragit[®], pelos derivados de polivinila tais como o acetato ftalato de polivinila (ACTP) e outros copolímeros como monoésteres do copolímero de estireno e ácido maleico, monoésteres do copolímero de éter vinílico e ácido maléico e copolímero de acetato de vinila e ácido crotônico (BAUER et al., 1998; LOPES; LOBO; COSTA, 2005).

Crcarevska, Dodov e Goracinova (2007) desenvolveram sistemas carreadores microparticulados para o tratamento de doenças inflamatórias do intestino. Foram preparadas partículas de AL de cálcio com QS (matrizes hidrofílicas), contendo o fármaco budesonida, revestidas ou não com Eudragit[®] S100 (polímero com solubilidade pH-dependente). Os resultados demonstraram claramente que as formulações revestidas apresentaram um perfil de liberação sustentada no TGI superior (pH 2,0 e 6,8) muito maior do que as não revestidas, sendo o fármaco eficientemente liberado no meio colônico (pH 7,4).

3.3.1 Etilcelulose (EC):

A etilcelulose (Figura 10), polímero derivado da celulose tem sido um dos agentes mais utilizados com o propósito de modificar a liberação de fármacos, devido sua estabilidade química e sua capacidade de modificar o perfil de dissolução das substâncias ativas (SOUZA; RÉ, 2000; DUARTE et al., 2006), assim como sua capacidade de formar revestimentos resistentes e flexíveis (RAJABI-SIAHBOOMI, 2003; SIEPMANN et al., 2008).

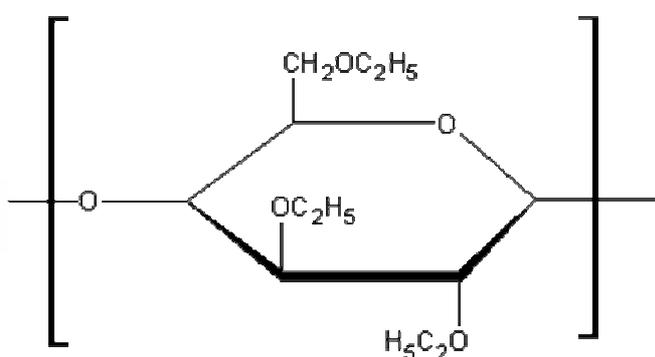


Figura 10 - Estrutura química da etilcelulose.

Este polímero é constituído de uma matriz insolúvel e inerte, sem sabor, inodora (RAJABI-SIAHBOOMI, 2003), atóxica, antialérgica e não irritante (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2006), que origina estruturas porosas, na qual o fármaco está disperso, mantendo a mesma superfície aparente ao longo de toda etapa de dissolução (LOPES, LOBO, COSTA 2005). Nessas matrizes a dissolução do fármaco é verificada após a penetração do líquido de dissolução pelos poros, seguido da difusão lenta do fármaco pelos mesmos (LOPES; LOBO; COSTA, 2005).

A etilcelulose é amplamente utilizada como excipiente em várias formulações farmacêuticas orais e tópicas como partículas, comprimidos revestidos, granulados e comprimidos revestidos de liberação sustentada. Como a etilcelulose não é metabolizada, não é recomendada para produtos de uso parenteral, pois pode ser prejudicial ao organismo (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2006).

São vários os graus de etilcelulose encontrados no mercado, os quais podem ser utilizados para obter soluções com uma viscosidade desejada. Estes

influenciam as características do filme, ou seja, soluções com maior viscosidade produzem filmes mais resistentes. A etilcelulose com alto grau de viscosidade é empregada em microencapsulação de fármacos, onde a liberação do fármaco das partículas de etilcelulose depende da espessura da parede e da área da superfície das mesmas. Filmes de etilcelulose podem ser modificados, visando alterar sua solubilidade pela adição de HPMC ou um plastificante (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2006).

3.3.2 Acetofalato de celulose (ACT):

O acetofalato de celulose (ACT) é um polímero usado como material para formação de um filme de revestimento entérico, ou como aglutinante para comprimidos e cápsulas. Este foi o primeiro polímero a ser produzido com características de solubilidade que permitiu o seu uso em soluções de revestimento entérico de cápsulas (PODCZECK; JONES, 2004), foi desenvolvido em 1940 por Eastman Kodak (MALM; EMERSON, HIATT, 1951).

O ACT (Figura 11) é uma celulose no qual cerca da metade dos grupos hidroxilas é acetilada, e cerca de um quarto é esterificada com um dos dois grupos ácidos sendo que o ácido ftálico e o grupo ácido remanescente estão livres (ROWE; SHESKEY; OWEN.; 2006). A Farmacopéia Americana (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2005) descreve o ACT como um produto da reação parcial do anidrido ftálico e um acetato éster de celulose contendo entre 21,5 a 26% de grupos acetila (C_2H_3O) e de 30 a 36% de grupos ftalila ($C_8H_5O_3$).

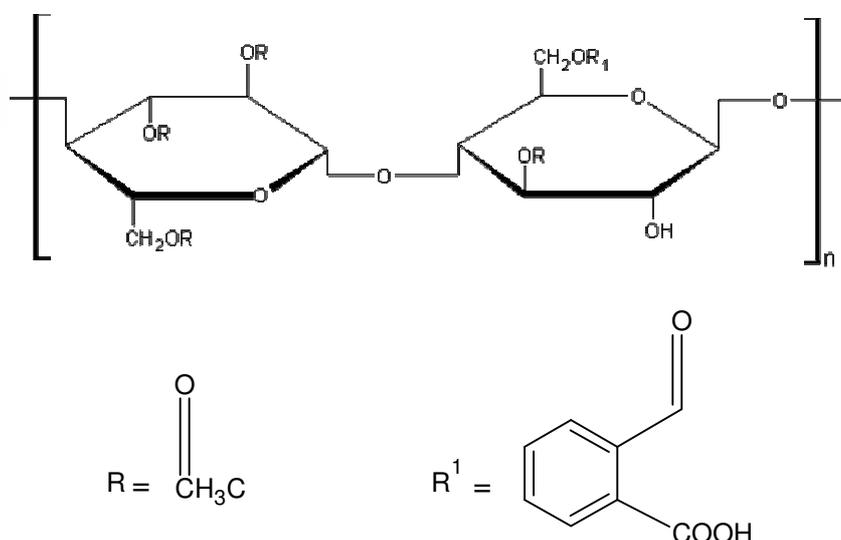


Figura 11 – Estrutura química do acetofalato de celulose (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2006).

O ACT é descrito como um pó branco ou quase branco, higroscópico, insípido, inodoro ou com leve odor de ácido acético. Apresenta ponto de fusão ± 192 °C e temperatura de transição vítrea entre 160 e 170 °C. É praticamente insolúvel na água, álcool, hidrocarbonetos clorados e não clorado, e em tolueno, solúvel em 4 partes de acetona, em dietilenoglicol e no dioxano. Dissolve-se em soluções diluídas de álcalis e em soluções aquosas tamponadas a um pH superior a 6,0 (ROWE; SHESKEY; QWEN, 2006).

O ACT tem a solubilidade menor ou igual a 10% (p/p) nas seguintes misturas de solventes: acetona:álcool (1:1); acetona:água (97:3); benzeno:metanol (1:1); acetato de etila:etanol (1:1); cloreto de metileno:etanol (3:1). Segundo Lai e colaboradores (2007), o ACT, devido sua composição química, é instável na armazenagem.

Este revestimento entérico é muito utilizado para revestir cápsulas e comprimidos, resistindo durante um período prolongado o fluido gástrico fortemente ácido, dissolvendo-se em meio fracamente ácido ou neutro do intestino. O ACT é um polímero que apresenta grupos funcionais de natureza aniônica (carboxilas) que em pH ácido o torna insolúvel. Com a mudança do pH para valores superiores a 6,0 estes grupos carboxila ficam ionizados por neutralização e tornam-se solúveis no meio, permitindo então a liberação imediata do fármaco das formas farmacêuticas revestidas (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2006).

3.3.3 Ftalato de hidroxipropilmetilcelulose (FHPMC):

Ftalato de hidroxipropilmetilcelulose (FHPMC) é um polímero natural biodegradável insolúvel em água derivado da celulose, cuja estrutura química é constituída por grupos hidroxila, preparado através da esterificação da hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) com anidrido ftálico (Figura 12). Este polímero é solúvel em acetona:etanol (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2006) e pode ser dissolvido em água para formar agregados, como micelas (LEE et al., 2007).

O FHPMC é amplamente empregado na indústria farmacêutica, devido sua resistência à hidrólise (XU et al., 2007), sendo menos suscetível a hidrólise quando comparado com o polímero acetofalato de celulose (ACT) (WEIß et al., 1995). Este polímero demonstra ter uma excelente estabilidade frente a

condições ácidas, atuando como uma barreira física protegendo a mucosa gástrica contra fármacos irritantes (CERDEIRA; GOUCHA; ALMEIDA, 1998) e vetorizando adequadamente o fármaco ao intestino (KIM et al., 2003).

Para o revestimento de comprimidos e grânulos, geralmente são empregadas concentrações de 5-10% de FHPMC (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2006).

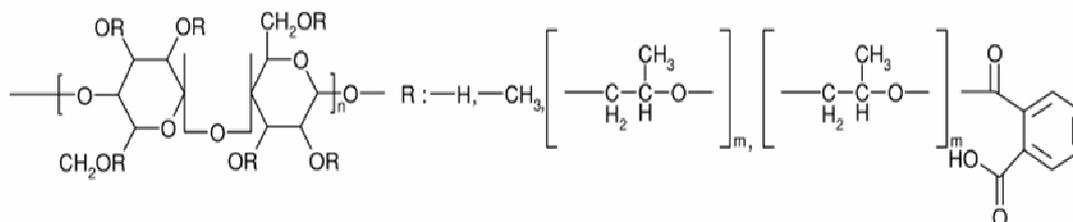


Figura 12 – Estrutura química do ftalato de hidroxipropilmetilcelulose.

As propriedades de FHPMC, em particular o pH, do qual se dissolve em meio aquoso, são determinadas pelo grau de substituintes metoxi, hidroxipropoxi e carboxibenzoil. Este polímero é instável ao armazenamento, sendo que os grupos éster ftálicos podem ser parcialmente clivados após 11 meses de acondicionamento, mesmo sem influência de enzimas (LAI et al., 2007).

3.3.4 Eudragit (EU):

Os copolímeros derivados do ácido metacrílico e metilmetacrílico, comercializados como Eudragit[®], são sistemas pH-dependentes que exploram as variações de pH ao longo do trato gastrointestinal para liberar seletivamente fármacos no cólon. Estes polímeros devem ser capazes de prevenir a liberação do componente ativo no estômago e intestino delgado proximal e promovê-la no íleo terminal ou cólon proximal. O revestimento contituído por esses polímeros podem ser aplicados nas várias formas farmacêuticas sólidas. Para a obtenção de revestimentos resistentes ao pH ácido do estômago e capazes de retardar a liberação até que a forma farmacêutica atinja o cólon, alguns autores sugerem quantidades de polímero na ordem de 10 a 12% em relação ao peso total do comprimido (FREIRE et al., 2006b; OLIVEIRA; LIMA, 2006).

São vários os tipos de Eudragit[®] comercializados, como Eudragit[®] L100-55, Eudragit[®] L100 (Figura 13), Eudragit[®] L30D, Eudragit[®] NE 30D, Eudragit[®] RS PO

e Eudragit[®] RL PO, Eudragit[®] S100 entre outros (PUEHLER, 2003) sendo que os Eudragit[®] S e o L são os mais empregados para liberação colônica, se dissolvendo, respectivamente, em valores de pH superiores a 7 e 6 (FREIRE et al., 2006b). A solubilidade do Eudragit[®] L e S em pH acima de 6 é devido a hidratação dos grupos carboxilado ionizados, pois esses são polímeros aniônicos, ao contrário dos Eudragit[®] E, RL, RS e NE que são polímeros catiônicos (Eudragit[®] tipo E contém grupo dimetilamino e os Eudragit[®] RL, RS e NE contém grupos amino quaternários) (MOUSTAFINE et al., 2005).

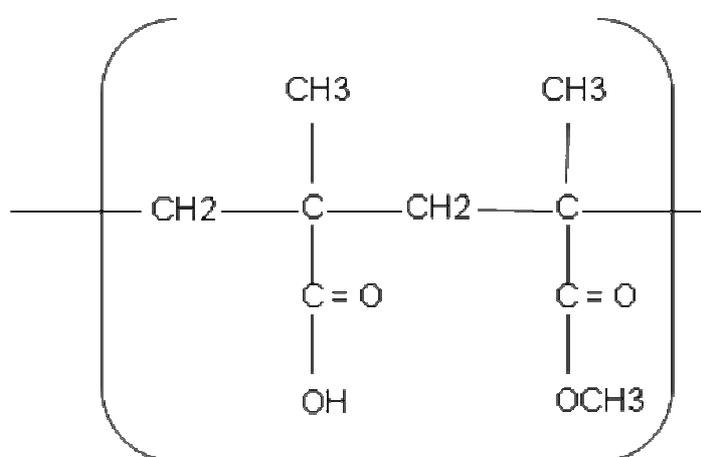


Figura 13 – Estrutura química do. Eudragit[®] L100 (MOUSTAFINE et al., 2005).

Moustafine e colaboradores (2005) observaram, através de análise por espectroscopia no IV, a formação de um complexo interpolieletrólito envolvendo Eudragit[®] do tipo S (poliânion) com QS (policátion), em *pellets* revestidos, durante ensaio de liberação.

Dai e colaboradores (2004) desenvolveram nanopartículas de ciclosporina A pH-dependente utilizando Eudragit[®] dos tipos S100, L100-55, L100 e E100. A biodisponibilidade relativa da ciclosporina aumentou para 32,5; 15,2 e 13,6%, respectivamente e diminuiu para 5,2% para as nanopartículas com Eudragit[®] E100 quando comparadas com microemulsão neoral.

O Quadro 02 apresenta os diferentes tipos de Eudragit[®] e suas aplicações farmacêuticas.

Quadro 02 - Aplicações farmacêuticas dos Eudragit® L, S e RS.

Tipos	Aplicações	Propriedades de dissolução	Funcionalidade	Grau
Eudragit® L	Liberação do fármaco no duodeno	Solúvel em fluido intestinal acima de pH 5,5	Polímeros aniônicos baseados em ácidos metacrílicos e metacrilatos com COOH	Eudragit® L100-55
				Eudragit® LD30-55
	Liberação do fármaco no jejuno	Solúvel em fluido intestinal acima de pH 6,0	Polímeros aniônicos baseados em ácido metacrílicos e metacrilatos com COOH	Eudragit® L12, 5
				Eudragit® L100
Eudragit® S	Liberação do fármaco no íleo	Solúvel em fluido intestinal acima de pH 7,0	Polímeros aniônicos baseados em ácidos metacrílicos e metacrilatos com COOH	Eudragit® S12, 5
				Eudragit® S 100
Eudragit® RS	Formulações de liberação sustentada	Insolúvel baixa permeabilidade	Copolímeros catiônicos de acrilato e metacrilato com grupos de amônio quaternário	Eudragit® RS 12,5
				Eudragit® RS 100
				Eudragit® RS PÓ
				Eudragit® RS 30 D

Fonte: ROWE; SHESKEY; OWEN, 2006

3.4 Estudos de Cinética de Liberação:

A avaliação e a comparação da liberação do fármaco a partir das formas farmacêuticas são fundamentais para garantir que o mesmo seja liberado de modo adequado. Diversos métodos são empregados para avaliar a cinética de liberação do fármaco das incluindo métodos estatísticos, métodos dependentes e independentes de modelos matemáticos (COSTA, 2002).

Os métodos modelo dependente descreve e analisa a liberação do fármaco a partir da forma farmacêutica, empregando vários modelos cinéticos que incluem cinética de ordem zero, cinética de primeira ordem, modelo Higuchi, Hixon Crowell, Backer Lonsdale, Korsmeyer Peppas, entre outros (Quadro 03) e cada um deles é dependente de um ou mais mecanismos que controla essa liberação. O tipo de fármaco, polimorfismo, cristalinidade, tamanho da partícula, solubilidade, quantidade na forma farmacêutica e o formato geométrico do polímero podem influenciar o perfil de dissolução/difusão desse fármaco (AGNES; ORTEGA, 2003).

Quadro 03: Modelos matemáticos usados para descrever os perfis de dissolução de fármacos incorporados em formas farmacêuticas.

MODELO MATEMÁTICO	EQUAÇÃO
Ordem zero	$Q_t = Q_0 K_0 t$
Primeira ordem	$\log Q_t = \log Q_0 + k_1 t'$
Higuchi	$\frac{M_t}{M_\infty} = K_H \sqrt{t+b}$
Hixon Crowell	$Q_0^{1/3} - Q_t^{1/3} = K_0 t$
Backer Lonsdale	$\frac{3}{2} \left[1 - \left[1 - \frac{Mt}{M_\infty} \right]^{2/3} \right] - \frac{Mt}{M_\infty} = \frac{3DmCms}{r_0^2 C_0}$
Korsmeyer Peppas	$\frac{M_{(t-1)}}{M_\infty} = \partial(t-1)^n + b$

Fonte: MANADAS; PINA; VEIGA, 2002

Onde:

Ordem zero:

- Q_t = quantidade de fármaco dissolvido ao tempo t;
- Q_0 = quantidade inicial de fármaco dissolvido na solução;
- K_0 = constante de liberação de ordem zero;

Primeira ordem:

- Q_t = quantidade de fármaco liberado no tempo t ;
- Q_0 = quantidade inicial de fármaco na solução;
- K_1 = constante de liberação de primeira ordem;

Higuchi:

- K_H = constante de dissolução de Higuchi;
- M_t / M_∞ = liberação fracional do fármaco;
- b = liberação abrupta inicial do fármaco.

Backer Lonsdale:

- M_t = quantidade de fármaco liberado no tempo t ;
- M_∞ = quantidade de fármaco liberada a um tempo infinito;
- D_m = coeficiente de difusão;
- C_{ms} = solubilidade do fármaco na matriz;
- r_0 = raio da matriz esférica;
- C_0 = concentração inicial do fármaco na matriz.

Korsmeyer Peppas:

- δ = constante que incorpora características estruturais e geométricas da forma farmacêutica;
- n = expoente de liberação indicativo do mecanismo de liberação do fármaco;
- M_t / M_∞ = liberação fracional do fármaco;
- b = liberação abrupta inicial do fármaco.

O modelo denominado cinética de ordem zero baseia-se na liberação lenta da substância ativa a partir de formas farmacêuticas que não desagregam, desde que sua área não se modifique e que não se atinja condições de equilíbrio, ou seja, a velocidade de difusão do fármaco, do interior para o exterior da matriz, é menor que a respectiva velocidade de dissolução, formando uma solução saturada, que permite a cedência constante do fármaco (LOPES; SOUSA; COSTA, 2005). As formas farmacêuticas que seguem este perfil liberam a mesma quantidade de fármaco por unidade de tempo, o qual é o modelo ideal para as formas farmacêuticas de liberação prolongada como é o caso dos comprimidos matriciais, sistemas osmóticos e das formas revestidas (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002).

A aplicação do modelo de cinética de primeira ordem aos estudos de dissolução foi proposta pela primeira vez por Gibaldi e Feldman em 1967 e mais tarde por Wagner em 1969. Este modelo tem sido também, muito empregado para descrever a absorção e/ou eliminação de alguns fármacos. As formas farmacêuticas que seguem este perfil de dissolução, tais como as que contêm fármacos hidrossolúveis em matrizes porosas, liberam o fármaco de forma proporcional à quantidade remanescente no seu interior de tal modo que a quantidade de fármaco liberada por unidade de tempo diminui (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002).

Entre os anos de 1961 e 1963, Higuchi desenvolveu diversos modelos teóricos destinados a liberação de fármacos, tanto pouco solúveis como muito solúveis, contidos em matrizes sólidas e semi-sólidas (AGNES; ORTEGA, 2003). O modelo Higuchi é freqüentemente utilizado para descrever a velocidade de liberação controlada do fármaco a partir de um sistema matricial. Este modelo descreve o mecanismo de liberação dos fármacos como um processo de difusão baseado na lei de Fick, estando dependente da raiz quadrada do tempo. O modelo Higuchi pode ser aplicado com maior exatidão a matrizes unidimensionais pouco solúveis, que não apresentam capacidade de intumescimento (LOPES; SOUSA; COSTA, 2005).

No modelo Hixon Crowell a velocidade de liberação é limitada pela velocidade de dissolução das partículas do fármaco e não pela difusão que possa ocorrer através da matriz polimérica. Este modelo tem sido usado para descrever o perfil de liberação tendo em vista a diminuição da superfície das partículas de fármaco à medida que a dissolução ocorre (LOPES; SOUSA; COSTA, 2005).

O modelo Baker e Lonsdale foi desenvolvido em 1974 a partir do modelo de Higuchi e descreve a liberação controlada do fármaco a partir de matrizes esféricas. Este modelo tem sido usado para linearizar resultados de ensaios de liberação de várias formulações de microesferas ou microcápsulas (COSTA, 2002).

Outro modelo baseia-se na equação semi-empírica proposta por Korsmeyer Peppas. Este modelo é genericamente utilizado para analisar a liberação de formas farmacêuticas poliméricas, quando o mecanismo de liberação não é bem conhecido ou quando possam estar envolvidos mais de um tipo de mecanismo de liberação, aparentemente independentes: um devido ao transporte do fármaco que

obedece as leis de Fick (difusão) e outro relacionado aos fenômenos de intumescimento/relaxamento do gel, que envolve a transição de um estado semi-rígido a outro mais flexível, denominado transporte caso II (COSTA, 2002; MANADAS; PINA; VEIGA, 2002).

Para os modelos derivados da equação Korsmeyer-Peppas, dependendo do valor de n (expoente de liberação) de melhor ajuste ao perfil de difusão/liberação de um fármaco contido em sistema matricial, é possível estabelecer, segundo o tipo de comportamento observado, uma classificação em modelo fickiniano (caso I) e modelos não-fickinianos (caso anômalo, caso II e super-caso II) (Quadro 04).

Quadro 04: Interpretação dos mecanismos de liberação por difusão a partir de filmes poliméricos.

EXPOENTE DE LIBERAÇÃO (n)	MECANISMO DE TRANSPORTE DO FÁRMACO
0,5	Difusão Fickiana
$0,5 < n < 1,0$	Transporte anômalo
1,0	Transporte caso II
Superior a 1,0	Transporte super caso II

Fonte: MANADAS; PINA; VEIGA, 2002

A difusão fickiniana caracteriza-se por uma elevada velocidade de difusão do solvente para o interior da matriz e uma baixa velocidade de relaxamento polimérica, que induz a formação de um gradiente de penetração de solvente. No processo de difusão não-fickiniana as cadeias poliméricas não apresentam mobilidade suficiente para permitir uma rápida penetração do solvente para o interior da matriz polimérica. Três classes de difusão não-fickiniana foram definidas: Transporte anômalo, Transporte caso II e Transporte super caso II. A diferença entre essas categorias concentra-se na velocidade de difusão do solvente. No caso Transporte anômalo a velocidade de difusão do solvente e do relaxamento do polímero são da mesma ordem de magnitude, no Transporte caso II a velocidade de difusão do solvente é maior que o processo de relaxamento do polímero e no Transporte super caso II, a velocidade de difusão do solvente é muito maior (aceleração na penetração do solvente) e é o fator determinante da difusão (AGNES; ORTEGA, 2003).

3.5 Triancinolona (TC):

A triancinolona (TC), cujo nome químico 9 α -fluor-11 β ,16 α ,17 α ,21-tetrahidroxipregna-1,4-diene-3,20-dione) (Figura 14) e seus derivados, tais como, acetonida (TCA), acetato (TA), hexacetonida (THC), diacetato (TD), benetonida (TB) são potentes glicocorticóides sintéticos de depósito com propriedades antiinflamatórias e imunossupressoras (BOOBIS et al., 1999). Atuam inibindo a síntese de prostaglandinas e leucotrienos, com conseqüente efeito antiinflamatório (HOOD et al., 1999).

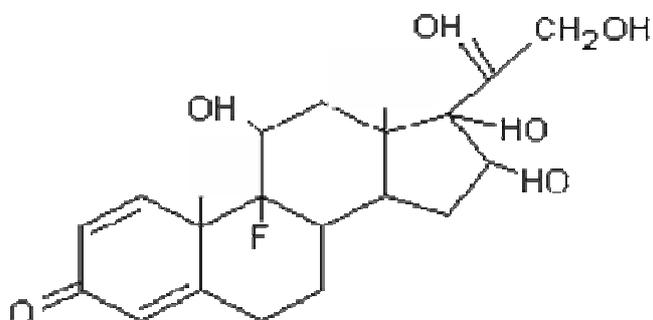


Figura 14 - Estrutura química da Triancinolona.

Os glicocorticóides têm capacidade de suprimir o desenvolvimento das manifestações do processo inflamatório. Inibem a resposta inflamatória, independentemente do agente indutor ser radiante, mecânico, químico, infeccioso ou imunológico. Estes também são de imenso valor no tratamento de doenças que decorrem de reações imunes indesejáveis. Essas doenças incluem desde condições que predominantemente representam a conseqüência da imunidade humoral, como a urticária, até as mediadas por mecanismos imuno-celulares, como a rejeição de transplantes de órgãos. As ações imunossupressoras e antiinflamatórias dos glicocorticóides estão ligadas de modo indissolúvel, porque ambas resultam, em grande parte, da inibição de funções específicas dos leucócitos (HAYNES Jr., 1996).

Os corticosteróides sintéticos são os fármacos mais comumente prescritos para pacientes com colite ulcerativa e doença de Crohn, em atividade, nos graus moderados e graves (HANAUER; BAERT, 1994; STEIN; HANAUER, 1999). São múltiplas as propriedades antiinflamatórias dos esteróides na colite ulcerativa,

incluindo linfocitotoxicidade, redução da liberação de citocinas e inibição da liberação de ácido araquidônico de membranas (HANAUER, 1993).

A TC é um pó branco ou quase branco, sem odor, levemente higroscópico e cristalino. 1 g dissolve em cerca de 5000 mL de água, 70 mL de propilenoglicol e menos do que 20 mL de dimetilsulfóxido; solúvel em álcool e metanol e levemente solúvel em éter e clorofórmio (MERCK INDEX, 2001).

Possui formas polimórficas que fundem entre 248-250 °C e 260-263 °C. Apresenta absorção máxima no ultravioleta em 239 nm (ϵ 15800) (MERCK INDEX, 2001).

Lopez e colaboradores (1999) realizaram um estudo desenvolvendo *pellets* contendo a TC para liberação colônica, segundo estes, o fármaco é mais potente que a sulfasalazina para o tratamento de doenças inflamatórias do intestino.

A dose terapêutica da TC é praticamente desprovida da ação mineralocorticóide, não provoca distúrbios psíquicos e nem os outros efeitos colaterais da hidrocortisona, porém estas ações variam conforme o paciente (MARTINDALE, 1999). Quando administrados, 4 mg de TC são equivalentes em atividade antiinflamatória a cerca de 5 mg de prednisolona e equivalentes à da metilprednisolona (MORENO; MATOS; FEVEREIRO, 2001).

Dentre os componentes de ação intermediária, é o corticoíde que possui meia vida mais longa (cerca de 5 horas) (DAMIANI et al., 2001).

Os efeitos da TC sobre a retenção de sódio e água são menores do que os da prednisolona. Efeitos adversos, como anorexia, perda de peso, vermelhidão, depressão e perda muscular são relatados e particularmente associados com a TC. Quando aplicados topicamente, principalmente em grandes áreas, quando a pele está lesada ou sob oclusão, os glicocorticóides podem ser absorvidos em quantidades suficientes para causar efeito sistêmico (RANG et al., 2004).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material:

4.1.1 Reagentes:

Os reagentes utilizados foram de grau de pureza pró-análise, exceto os especificados.

- Quitosana - PURIFARMA[®]
- Etilcelulose - SIGMA[®]
- Acetofalato de Celulose – DEG[®]
- Eudragit[®] L100 – PHARMA NOSTRA[®]
- Ftalato de Hidroxipropilmetilcelulose - SIGMA[®]
- Alginato – VETEC QUÍMICA FINA[®]
- Triancinolona - GALENA[®]
- Ácido Acético - DINÂMICA[®]
- Ácido Clorídrico - DINÂMICA[®]
- Ácido Sulfúrico - DINÂMICA[®]
- Acetona – VETEC QUÍMICA FINA[®]
- Acetato de Sódio - DINÂMICA[®]
- Acetonitrila - DINÂMICA[®] (grau CLAE)
- Álcool Etílico - LABMASTER[®]
- Propilenoglicol - ISO FAR[®]
- Cloreto de Cálcio - QUIMINORTE[®]
- Hidróxido de Sódio - DINÂMICA[®]
- Fosfato de Potássio Monobásico - DINÂMICA[®]
- Nitrogênio Líquido – WHITE MARTINS
- N-acetil glucosamina - SIGMA[®] (padrão)
- Água purificada – obtida por sistema de purificação por osmose reversa
- Carbonato de Sódio - DINÂMICA[®]

4.1.2 Equipamentos:

- Centrífuga - FANEM[®], mod. Excelsa baby 1
- Centrífuga - FANEM[®], mod. Micro
- Equipamento para cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) - coluna Phenomenex[®] Synergi 4u Hydro-RP80A, detector de UV Shimadzu[®] SPD-M10AVP, bomba Shimadzu[®] LC-10ADVP, programa Shimadzu[®] Class VP
- Dissolutor – NOVA ÉTICA[®], mod. 299
- Drageadeira de bancada - Fet - mod. BP_1.0
- Espectrofotômetro de Infravermelho – Bomem - mod. MB 100
- Espectrofotômetro de UV/VIS – Shimadzu - 1601
- Estereoscópio – Olympus – SZ – PT
- Liofilizador – Jouan – mod. LP3
- Microscópio Eletrônico de Varredura - Philips[®] XL30
- Purificador de água - Milipore[®]
- Banho Dubnoff Microprocessado - QUIMIS[®]
- Viscosímetro Ostwald - Fenske

4.2 Métodos:

4.2.1 Caracterização dos Polímeros:

4.2.1.1 DETERMINAÇÃO DO GRAU DE DESACETILAÇÃO DA QUITOSANA:

O GD de quitosana foi determinado através do método de primeira derivada da espectrofotometria na região do UV descrito por Tan e colaboradores. (1998). Este método consiste na dispersão de QS (amostra) e de N-acetil-glucosamina (NAG) (substância referência) em ácido acético 0,01 M. Visando verificar a interferência do solvente no espectro de absorção das amostras (QS e NAG), foram preparadas três soluções deste solvente em concentrações diferentes (0,01; 0,02 e 0,03 M) e o perfil de absorção destas soluções foi determinado.

Todos os perfis foram traçados como primeira derivada da absorvância por comprimento de onda, fazendo-se a leitura a cada 0,2 nm na faixa de 190 a 300 nm, numa velocidade de 30 nm/min usando cubeta com caminho óptico de 1 cm.

Através da sobreposição do espectro das três concentrações de ácido, foi observada a convergência dos espectros para um ponto comum e o comprimento de onda onde se localizou este ponto comum foi chamado de ponto zero para análise e quantificação da NAG.

Para determinação do GD da amostra de QS foi necessária a obtenção da curva padrão da NAG. Para isto, soluções do monômero em ácido acético e com diferentes concentrações: 0,025; 0,03; 0,035 e 0,04 mg/mL foram preparadas. Para esta análise foram usadas 3 amostras de cada concentração. Todos os espectros foram sobrepostos em um diagrama e a altura do pico de cada concentração de NAG analisada foi medida acima do ponto zero para o ácido acético (202 nm).

A amostra de QS foi previamente dispersa em ácido acético 0,01 M na concentração de 1 mg/mL. Em seguida, a amostra foi diluída e a quantificação dos grupos acetil de QS foi determinada no espectro de primeira derivada de absorvância na região do UV. A proporção de grupos NAG na amostra foi determinada a partir da curva padrão descrita acima em percentual e o GD foi calculado descontando-se o % de NAG de 100.

4.2.1.2 DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE RELATIVA DA QUITOSANA:

A densidade relativa da QS foi determinada pelo método do picnômetro, usando dispersões de QS a 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 e 1,0 g/dL em ácido acético 0,1 N contendo 0,1 M de cloreto de sódio. A densidade foi calculada através da relação de peso entre volumes iguais de dispersão de QS e água a uma temperatura de 25 °C.

Também foram determinadas as densidades relativas da água e do ácido acético 0,1 N contendo cloreto de sódio 0,1 M.

4.2.1.3 DETERMINAÇÃO DA VISCOSIDADE INTRÍNSECA DA QUITOSANA:

A viscosidade intrínseca de QS foi obtida a partir da regressão linear da curva da variação da viscosidade reduzida das dispersões de QS *versus* a variação da concentração destas (KNAUL et al., 1998).

A viscosidade reduzida foi obtida aplicando-se a equação 1.

$$\eta_{red} = \eta_{sp} / C \quad \text{eq. 1}$$

Onde:

- η_{red} = viscosidade reduzida;
- η_{sp} = viscosidade específica;
- C = concentração da dispersão polimérica.

A viscosidade específica foi obtida pela equação 2.

$$\eta_{sp} = \eta - \eta_o / \eta_o \quad \text{eq. 2}$$

Onde:

- η_{sp} = viscosidade específica;
- η = viscosidade da solução;
- η_o = viscosidade do solvente puro.

As viscosidades cinemáticas da QS em concentrações de 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 e 1,0 g/dL em ácido acético 0,1 *N*, contendo 0,1 *M* de NaCl, foram obtidas utilizando-se um viscosímetro capilar de Ostwald e um cronômetro para registrar o tempo de escoamento do líquido através do capilar. A viscosidade foi determinada através da equação 3, usando-se a água como líquido de referência para calibração do viscosímetro e aplicando-se a densidade relativa obtida no item 4.2.1.2.

$$\eta_2 = \left(\frac{t_2 d_2}{t_1 d_1} \right) \eta_1 \quad \text{eq. 3}$$

Onde:

- η_2 = viscosidade da amostra;
- t_2 e t_1 = tempo de escoamento da amostra e do líquido de referência, respectivamente;
- d_2 e d_1 = densidade relativa da amostra e do líquido de referência, respectivamente;
- η_1 = viscosidade do líquido de referência.

4.2.1.4 DETERMINAÇÃO DA MASSA MOLECULAR DA QUITOSANA:

A MM da QS foi determinada pelo método viscosimétrico, a partir da viscosidade intrínseca da dispersão polimérica, usando a equação de Mark-Houwink (equação 4) (RATHKE; HUDSON, 1994):

$$[\eta] = KM_w^a \quad \text{eq. 4}$$

Onde:

- $[\eta]$ = viscosidade intrínseca da solução;
- K e a = constantes viscosimétricas de Mark-Houwink;
- M_w = massa molecular.

As constantes viscosimétricas foram obtidas pela aplicação do valor do GD nas equações descritas por Wang et al. (1991):

$$K = 3,614 \cdot 10^{-3} GD^{14} \quad \text{eq. 5}$$

$$a = 0,9044GD + 1,82 \quad \text{eq. 6}$$

Onde:

- K e a = constantes viscosimétricas
- GD = grau de desacetilação do polímero

4.2.1.5 DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE RELATIVA DO ALGINATO DE SÓDIO:

A densidade relativa de AL de sódio foi determinada pelo método do picnômetro, usando dispersões de AL em concentrações de 0,03; 0,05; 0,1; 0,13; 0,15 e 0,17 g/dL em solução aquosa de NaCl 0,1 M. (LUCINDA-SILVA, 2003). A densidade foi calculada através da relação de peso entre volumes iguais de dispersão de AL e água a uma temperatura de 25 °C.

Também foram determinadas as densidades relativas da água e do cloreto de sódio 0,1 M.

4.2.1.6 DETERMINAÇÃO DA VISCOSIDADE INTRÍNSECA DO ALGINATO DE SÓDIO:

A viscosidade intrínseca do AL de sódio foi obtida a partir da regressão linear da curva da variação da viscosidade reduzida das dispersões de AL.

Foi determinada a viscosidade dinâmica ou absoluta das dispersões de AL em concentrações de 0,03; 0,05; 0,1; 0,13; 0,15 e 0,17 g/dL em solução aquosa de NaCl 0,1 M segundo a metodologia descrita no item 4.2.1.3.

4.2.1.7 DETERMINAÇÃO DA MASSA MOLECULAR DO ALGINATO DE SÓDIO:

A massa molecular aproximada do AL foi determinada através da equação 7, que relaciona a viscosidade intrínseca e a massa molecular do polímero em cloreto de sódio 0,1 M (SMIDSRØD, 1970; JOHNSON; CRAIG; MERCER, 1997).

$$[\eta] = 2,0 \cdot 10^{-5} M_w \quad \text{eq. 7}$$

Onde:

- $[\eta]$ = viscosidade intrínseca da dispersão;
- M_w = massa molecular.

4.2.2 Validação da metodologia para quantificação da TC por espectrofotometria na região do UV:

Este experimento foi realizado para garantir que a metodologia empregada para a determinação do teor e da eficiência de encapsulação, atenda as exigências analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados obtidos. Em função disto, foi realizado um estudo sobre os parâmetros de validação que incluem: linearidade, precisão, recuperação, limite de detecção e limite de quantificação (BRASIL, 2003).

4.2.2.1 DETERMINAÇÃO DO PICO DE ABSORÇÃO MÁXIMA DO FÁRMACO NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA (UV):

Para determinação do pico de absorção máxima da TC na região do UV, foram preparadas soluções diluídas (10 µg/mL) de TC em ácido clorídrico diluído pH 1,5 e tampão fosfato 50 mM pH 7,5. Estas soluções foram analisadas na região do UV e os picos de absorção máxima foram registrados.

4.2.2.2 CURVA ANALÍTICA PARA QUANTIFICAÇÃO DO FÁRMACO POR ESPECTROFOTOMETRIA NA REGIÃO DO UV:

As curvas analíticas de TC foram realizadas em tampão fosfato 50 mM pH 7,5, tampão fosfato 10 mM pH 7,5 e solução HCl 0,1 mol/L pH 1,5, onde a partir da solução estoque foram preparadas diluições com concentrações variadas (2,5; 5,0; 10; 20; 30; 40 e 50 µg/mL).

As leituras foram realizadas em espectrofotometria em 242 nm para os diferentes sistemas solventes utilizados. As análises foram realizadas em triplicata.

Foram determinados a faixa de linearidade do método, a equação da reta e o erro do método

4.2.2.3 LINEARIDADE:

A linearidade do método foi determinada através da obtenção de curvas analíticas de TC em tampão fosfato 0,05 N, 0,01 N e solução de ácido clorídrico 0,1 N, conforme descrito no item 4.2.2.2.

Foram realizadas as curvas analíticas padrão, relacionando a concentração de TC com a absorção na região do UV em 242 nm. As curvas obtidas foram submetidas à análise estatística de regressão linear para determinação do coeficiente de linearidade, coeficiente angular e r^2 .

4.2.2.4 PRECISÃO:

A precisão do método foi determinada a partir da solução estoque de TC em tampão fosfato 0,05 N, 0,01 N e solução de ácido clorídrico 0,1 N, onde foram preparadas soluções de TC em três concentrações 10, 30 e 50 $\mu\text{g/mL}$, correspondentes as concentrações baixa, media e alta do intervalo linear da curva padrão. Estas soluções foram analisadas por espectrofotometria na região do UV, sendo que a análise foi realizada com 6 replicatas.

4.2.2.5 RECUPERAÇÃO:

O teste foi realizado adicionando quantidades conhecidas de TC (50 mg) na solução tampão 0,05 N, contendo 10 mg de SM, para o preparo de soluções amostras. A quantidade de fármaco adicionada corresponde às regiões inferior, mediana e superior da curva analítica, respectivamente 10, 20, 40 $\mu\text{g/mL}$. As amostras foram preparadas em triplicata e analisadas por espectroscopia na região do UV.

A recuperação foi calculada como porcentagem de recuperação de quantidade conhecida de fármaco adicionada à amostra, acrescida dos intervalos de confiança, baseada na equação 8.

$$R(\%) = \frac{C}{C_0} 100 \quad \text{eq. 8}$$

Onde:

- C = Media das concentrações determinadas experimentalmente
- Co = Concentração teórica inicial

4.2.2.6 LIMITE DE DETECÇÃO E LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO:

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

O limite de quantificação (LQ) é determinado pela menor quantidade de fármaco em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob condições experimentais estabelecidas (BRASIL, 2003).

Para a realização dessas análises foram preparadas três soluções (soluções tampão 0,01 N, e 0,05 N, solução de HCl 0,1 N, cada qual, contendo TC em concentrações próximas ao limite inferior da curva analítica (1,25; 2,5 e 5 µg/mL). Para determinar LD e LQ foi avaliado o desvio padrão dos valores encontrados, sendo que todas as análises foram realizadas em triplicata.

O LD foi calculado baseado no desvio padrão e na inclinação da curva analítica através da equação 9.

$$LD = \frac{Sx3}{\alpha} \quad \text{eq. 9}$$

Onde:

- S = Desvio padrão
- α = Inclinação da curva padrão

E o LQ será calculado conforme equação 10.

$$LQ = \frac{Sx10}{\alpha} \quad \text{eq. 10}$$

Onde:

- S = Desvio padrão
- α = Inclinação da curva analítica

4.2.3 Preparação dos sistemas multiparticulados:

4.2.3.1 PREPARAÇÃO DE SISTEMAS MULTIPARTICULADOS DE AL:QS:

Sendo a QS um policação e o AL um poliânion, os sistemas multiparticulados foram preparados pelo método de coacervação complexa/gelificação ionotrópica (Figura 15). O método utilizado foi proposto e adaptado de Lucinda-Silva e Evangelista (2005). O corticosteroíde TC base foi escolhido como fármaco-modelo para o desenvolvimento deste trabalho por ser pouco solúvel em água, possibilitando assim sua incorporação em sistemas preparados em meio aquoso, e por ser um fármaco empregado no tratamento da colite ulcerativa.



Figura 15 - Ilustração do método de coacervação complexa/gelificação ionotrópica
1 = dispersão de AL + TC; 2 = dispersão de QS + CaCl₂ (M1) ou somente CaCl₂ (M2).

Os sistemas multiparticulados sem revestimento com e sem TC foram preparados por dois métodos: formação complexa de AL-Ca:QS, simultaneamente (M1) e formação complexa de AL-Ca e posterior coacervação complexa com QS (M2).

No M1 a dispersão aquosa (30 mL) de AL de sódio (pH 5,5) contendo fármaco foi gotejada na dispersão de QS (60 mL) em ácido acético 0,1 N (pH 5,5) contendo cloreto de cálcio, com auxílio de uma seringa e agulha com 250 µm de diâmetro. As partículas foram deixadas em repouso por aproximadamente 20 min. para completa reticulação do sistema, sendo em seguida separadas por filtração, lavadas com água purificada por duas vezes para a retirada dos eletrólitos em excesso. Após a filtração, as amostras foram congeladas com nitrogênio líquido e secas por liofilização (Figura 16).

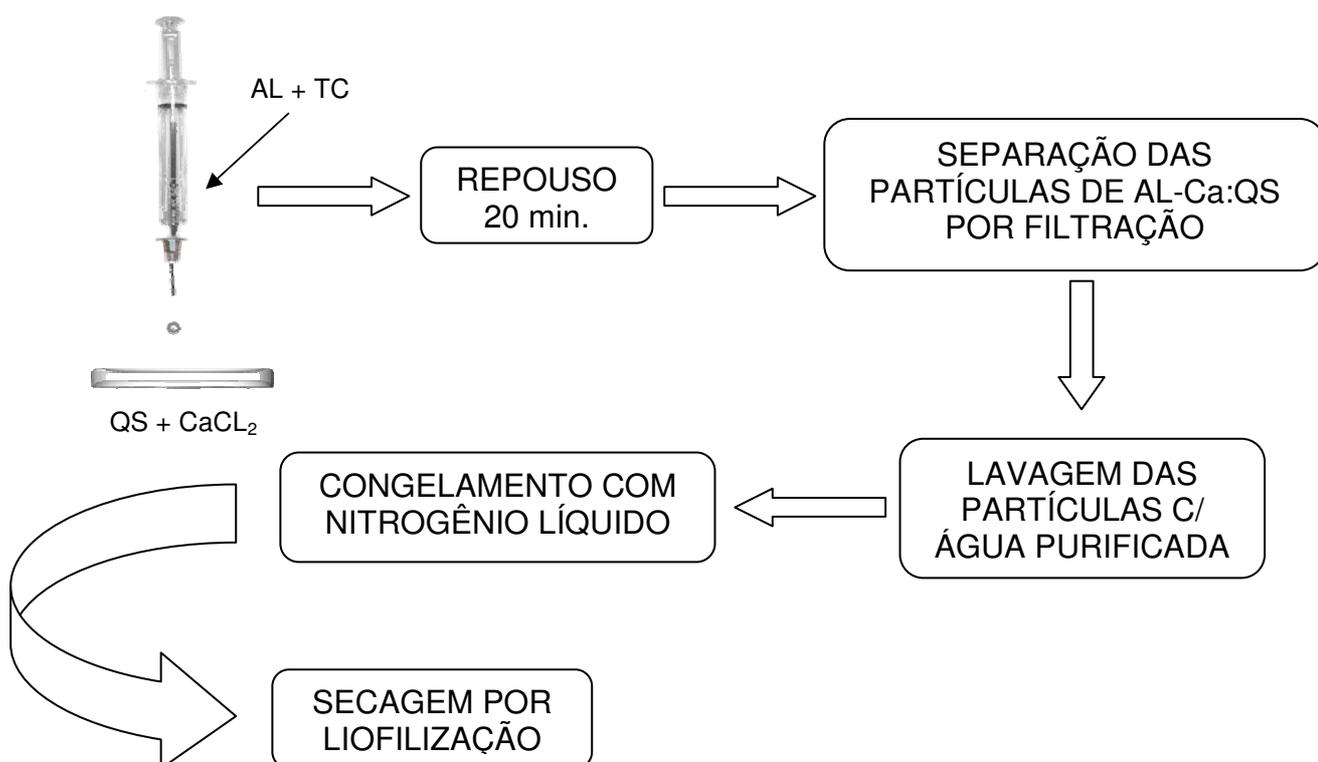


Figura 16 - Fluxograma do M1 (formação complexa de AL-Ca:QS, simultaneamente).

No M2 a dispersão aquosa (30 mL) de AL de sódio (pH 5,5) contendo fármaco foi gotejada na solução de cloreto de cálcio, em seguida as partículas foram filtradas e adicionadas à dispersão de QS (60 mL) em ácido acético 0,1 N (pH 5,5), sob agitação magnética. Em seguida, as partículas foram filtradas, lavadas com água purificada por duas vezes, congeladas e secas por liofilização (Figura 17).

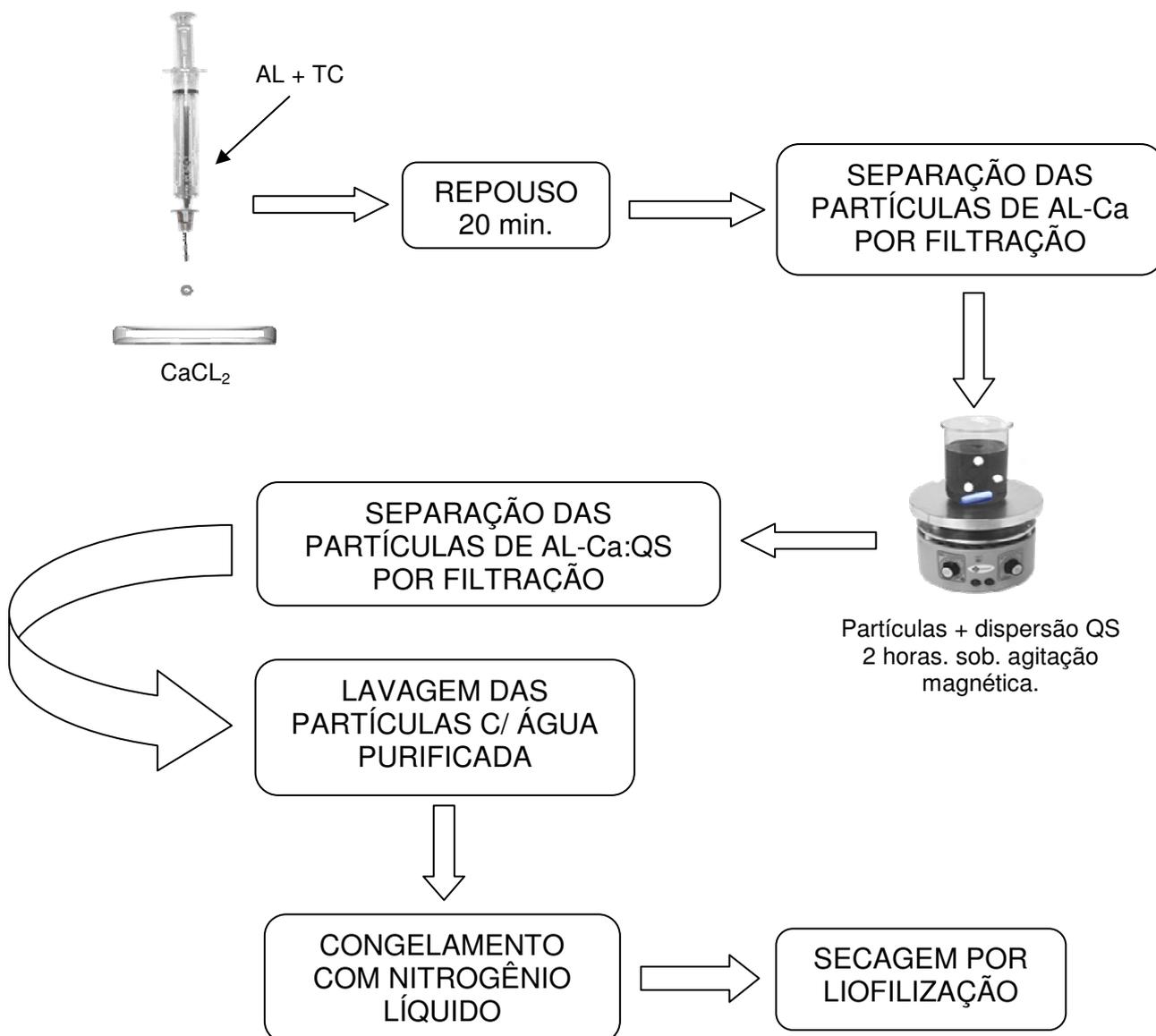


Figura 17 - Fluxograma do M2 (formação complexa de AL-Ca e posterior coacervação complexa com QS).

Para a otimização do teor de encapsulação e perfil de liberação, o fármaco foi incorporado nos SM variando a concentração das dispersões de AL , QS e do cloreto de cálcio (Quadro 05).

Quadro 05 - Formulações de SM de AL:QS com diferentes concentrações de CaCl_2 , com e sem TC e preparadas por dois métodos.

Método	AL (%)	QS (%)	CaCl_2 (%)*
M1	2,5	1,0	3,75
	5,0	1,0	7,5
M2	1,0	0,5	1,5

AL: alginato de sódio; QS: quitosana; cloreto de cálcio : CaCl_2 ; M1: formação complexa de AL-Ca:QS, simultaneamente; M2: formação complexa de AL-Ca e posterior coacervação complexa com QS; * concentração na dispersão de QS.

4.2.3.2 VERIFICAÇÃO DA PERDA DE MASSA DO COMPLEXO AL:QS EM MEIO GÁSTRICO

SIMULADO:

Foram preparadas dispersões de AL 1% em água destilada (100 mL, pH 5) e QS 0,5 % em ácido acético 0,1 N (200 mL, pH 5). A dispersão de AL foi adicionada na dispersão de QS, ficando sob agitação por um período de 2 horas. O complexo foi filtrado com membrana poliéster sob vácuo e seco em estufa ar circulante a 40 °C, por aproximadamente 24 horas.

Em seguida, o complexo AL:QS foi pesado e colocado em contato com o meio HCl 0,1 N, sob agitação, durante intervalos de tempo pré-determinados (30, 60 e 120 min) e filtrados em papel filtro. Posteriormente as amostras foram colocadas novamente em estufa de ar circulante a 40 °C e pesadas após secagem. Para o cálculo da perda de massa do complexo (PMC %) foi utilizada a equação 11.

$$PMC = \frac{m_2}{m_1} 100 \quad \text{eq. 11}$$

Onde:

- m_1 e m_2 são a massa seca do complexo AL:QS antes e após contato com o meio, respectivamente.

4.2.3.3 PREPARAÇÃO DOS SISTEMAS MULTIPARTICULADOS REVESTIDOS COM POLÍMEROS GASTRO-RESISTENTES:

Os SM revestidos com polímeros gastro-resistentes derivados da celulose, como a FHPMC, ACT, EC e o polímero acrílico Eudragit[®] L100, foram preparados objetivando a alteração das propriedades de intumescimento das partículas e liberação do fármaco em diferentes meios (TGI simulado) (Quadro 06).

As dispersões de FHPMC e de ACT foram preparadas utilizando-se acetona e álcool etílico como solventes (1:1) e 1 % de propilenoglicol como plastificante. A dispersão de EC foi preparada com álcool etílico e o Eudragit[®] L100 foi diluído com água (pH 6,8).

No procedimento, as partículas de AL-Ca:QS foram revestidas através de 2 métodos: revestimento por imersão e revestimento por aspersão.

O método de revestimento por imersão (IM) consistiu em mergulhar as partículas nas dispersões poliméricas com o auxílio de uma peneira, durante 1 minuto. Em seguida as amostras ficaram em repouso a temperatura ambiente, por aproximadamente 2 minutos. O procedimento foi repetido por três vezes. As amostras foram filtradas, lavadas com água purificada por duas vezes, congeladas com nitrogênio líquido e secas por liofilização (Figura 18).

Quadro 06 - Formulações para o revestimento das partículas de AL:QS com TC

Polímeros Núcleo	IMERSÃO						ASPERSÃO		
	ACT1% ¹	ACT5% ¹	FHPMC1% ¹	FHPMC5% ¹	FHPMC7,5% ¹	EU1% ²	EC1% ¹	EU1% ¹	FHPMC 7,5 ¹
AL(%)	1,0	1,0	1,0	2,5	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
QS(%)	0,5	0,5	0,5	1,0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
CaCL ₂ (%)	1,5	1,5	1,5	3,75	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
TC(%)	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0

ACT: acetofalato de celulose; FHPMC: ftalato de hidroxipropilmetilcelulose; EU: Eudragit® L100; EC: etilcelulose; AL: alginato de sódio; QS: quitosana; CaCL₂: cloreto de cálcio; TC: triancinolona; Solventes das dispersões poliméricas: ¹acetona:álcool etílico, 1:1; ²água purificada.

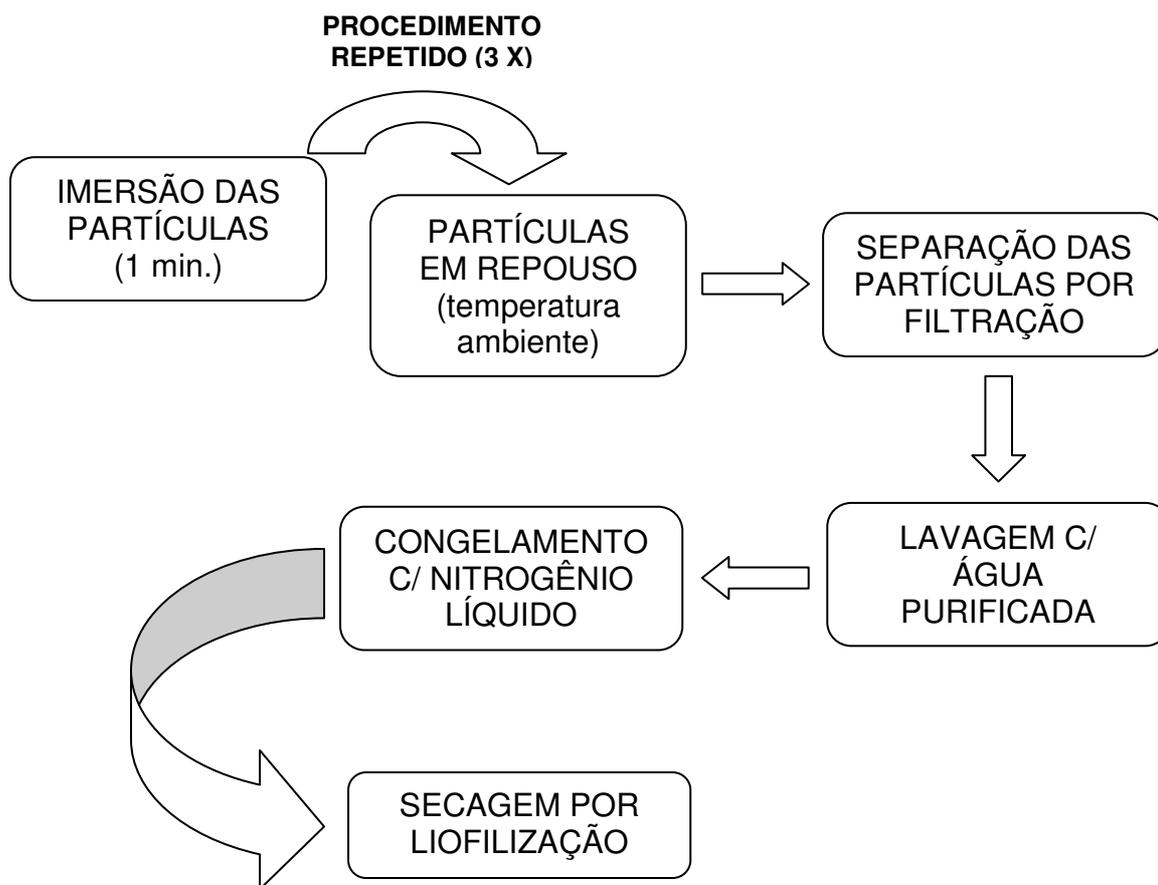


Figura 18 - Fluxograma do método de revestimento por imersão

Para revestimento dos sistemas por aspersão (AS) foi utilizado uma drageadeira de bancada, conforme mostrado na Figura 19. O método AS consistiu na deposição da dispersão polimérica de revestimento sob as partículas em rotação, dentro da drageadeira, a uma velocidade de aproximadamente 60 rpm.

Para o procedimento de revestimento por aspersão (AS), foram reproduzidas apenas as formulações que obtiveram os melhores resultados no ensaio de dissolução do fármaco. Portanto, as dispersões de Eudragit® L100 1% e de FHPMC 7,5%, diluídas com acetona, etanol:acetona 3:7 e 1 % de propilenoglicol, respectivamente, foram preparadas.



Figura 19 – Drageadeira de bancada

Para padronizar as condições do método por aspersão, lotes pilotos foram testados buscando otimizar o revestimento. As partículas foram pesadas antes e após a dispersão em intervalos de tempos pré-determinados (5; 10; 15 e 20 min) para verificar o ganho de massa das partículas, escolhendo-se o tempo de 10 a 15 minutos como tempo de aplicação das dispersões poliméricas.

A solução de revestimento foi aplicada em camadas finas, com intervalo de tempo suficiente para a secagem entre cada aplicação. Foram aplicadas em média 3 camadas de revestimento, sendo a velocidade do fluxo de aspersão de 2 mL/min e pressão de 4 mBar. O tempo entre a aspersão e a secagem de cada quantidade de dispersão foi cerca de 10 a 15 minutos, A secagem do revestimento das partículas foi realizada através da insuflação de ar quente. Em seguida ao processo de revestimento, as partículas foram congeladas com nitrogênio líquido e secas por liofilização.

4.2.4 Caracterização dos sistemas multiparticulados:

Os SM obtidos foram caracterizados, quanto à morfologia, granulometria e as características de intumescimento, visando à obtenção de um produto com rendimento.

4.2.4.1 ANÁLISE MORFOLÓGICA:

Para análise morfológica das partículas foi empregada a microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a microscopia óptica (MO). Na análise por MEV as amostras secas foram colocadas sobre uma fita adesiva dupla-face aderida a um suporte de metal, revestidas com ouro coloidal sob vácuo e analisadas. As análises foram realizadas no Departamento de Engenharia de Materiais da UFSC – Florianópolis/SC. Na análise por MO as partículas secas foram colocadas em placa de petri e analisadas usando estereoscópio *Leica MZ APO* e máquina digital acoplada.

4.2.4.2 ANÁLISE GRANULOMÉTRICA:

Para análise granulométrica das microcápsulas foi empregado o estereoscópio *Leica MZ APO* e o programa *Leica Qwin Image Analysis Systems* para medição. No estereoscópio as amostras foram colocadas diretamente nas placas de Petri e foi feita a distribuição de tamanho das microcápsulas de cada lote analisado. A frequência de tamanho de partícula foi distribuído em intervalos de classe e o cálculo do diâmetro médio das partículas foi obtido através da equação 12 (ANSEL; POPOVICH; ALEN JR, 2007).

$$\bar{x} = \frac{\sum (pto\bar{x} \times f\%)}{100} \quad \text{eq. 12}$$

Onde, \bar{x} = diâmetro médio das partículas; \sum = Somatória do diâmetro médio das partículas; $pto\bar{x}$ = média do intervalo de classes e $f\%$ = frequência relativa.

4.2.4.2 ANÁLISE DA ABSORÇÃO DE ÁGUA E ÍNDICE DE INTUMESCIMENTO:

O intumescimento foi avaliado em meios com diferentes valores de pH simulando os diferentes ambientes do TGI (superior): meio gástrico simulado HCl 0,1 N (pH 1,5) e meio entérico simulado (tampão fosfato pH 7,4). O intumescimento foi analisado através da capacidade de absorção de água (gravimetria) e índice de intumescimento (verificação do aumento de diâmetro das partículas) (MUNJERI; COLLETT; FELL, 1997; LEOPOLD; EIKELER, 1998). Em ambos os ensaios, as partículas ficaram em contato com o meio estudado durante 3 horas.

No ensaio de absorção de água por gravimetria as amostras intumescidas foram removidas periodicamente (30, 60, 120 e 180 minutos) e pesadas em balança analítica digital, após retirada do excesso de meio absorvido na superfície com papel de filtro.

Para a caracterização do grau de intumescimento pela absorção da água o índice de intumescimento foi calculado utilizando-se a equação 13.

$$Abs. \text{ água}(\%) = \frac{m_1 - m_0}{m_0} 100 \quad \text{eq. 13}$$

Onde:

- *Abs. água (%)* = absorção de água;
- m_1 = massa da partícula após determinado tempo de contato com o meio de intumescimento;
- m_0 = massa da partícula antes do contato com o meio de intumescimento

Para a caracterização do grau de intumescimento pela verificação do aumento de diâmetro das partículas foi utilizado estereoscópio *Leica MZ APO* e máquina digital acoplada, a análise do diâmetro foi segundo Feret na direção horizontal (0°) (BARBER, 1993). O índice de intumescimento foi calculado utilizando-se a equação 14.

$$I.I.(\%) = \frac{d_1 - d_0}{d_0} 100 \quad \text{eq. 14}$$

Onde:

- I.I. (%) = índice de intumescimento;
- d_1 = tamanho da partícula após determinado tempo de contato com o meio de intumescimento;
- d_0 = tamanho da partícula antes do contato com o meio de intumescimento

4.2.5 Caracterização das partículas contendo fármaco (TC):

As partículas de AL:QS contendo TC foram caracterizadas quanto a morfologia (4.2.4.1), intumescimento (4.2.4.2) e ensaios de teor e eficiência de encapsulação.

4.2.5.1 DETERMINAÇÃO DO TEOR E DA EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO:

O teor de encapsulação do fármaco corresponde à proporção deste no sistema polimérico.

Para determinação do teor de encapsulação, cerca de 5 mg de amostra foram pesados e colocados em contato com 20 mL de tampão fosfato 50 mM pH 7,5 por 2 h, sob agitação. Após a agitação, a amostra foi filtrada e o fármaco foi quantificado por espectrofotometria em 242 nm. Os ensaios foram realizados em triplicata. O teor de encapsulação foi calculado usando-se a equação 15.

$$TE(\%) = \frac{m_{TC}}{m_{cap}} \times 100 \quad \text{eq. 15}$$

Onde:

- TE = teor de encapsulação
- m_{TC} = massa de TC quantificada na amostra
- m_{cap} = massa das partículas usadas na amostra

A eficiência de encapsulação corresponde à quantidade de fármaco que foi incorporado pelo sistema. A eficiência de encapsulação foi calculada a partir do teor de encapsulação e do rendimento do lote das cápsulas analisadas usando-se a equação 16.

$$EE(\%) = \frac{TE \times R}{m_{TCtotal}} \quad \text{eq. 16}$$

Onde:

- EE = eficiência de encapsulação
- TE = teor de encapsulação (%)
- R = rendimento em massa do lote que está sendo analisado
- $M_{TCtotal}$ = massa de fármaco total usado na preparação do lote que está sendo analisado.

4.2.6 Ensaio de liberação do fármaco *in vitro*:

4.2.6.1 ENSAIO DE LIBERAÇÃO DO FÁRMACO USANDO MEIO ÁCIDO OU MEIO ENTÉRICO:

Este ensaio foi realizado para verificar o perfil de liberação e analisar os mecanismos de liberação do fármaco *in vitro*. Este foi realizado em aparelho dissolutor (Figura 20) pelo método de cestas (Aparato 1) da Farmacopéia Americana (United States Pharmacopeia, 2005), sob as seguintes condições:

- Volume do meio de dissolução: 450 mL;
- Velocidade de agitação: 50 rpm;
- Temperatura: $37 \pm 0,5$ °C;
- Tempo de ensaio: 6 h;
- Tempos de amostragens: 15; 30; 45; 60; 90; 120; 150; 180; 240; 300 e 360 min;
- Amostra: aproximadamente 30 mg de partículas;
- Alíquotas retiradas: 3 mL
- Meios de liberação: suco gástrico simulado sem enzimas e suco entérico simulado sem enzimas.

Os meios de liberação simularam o suco gástrico (HCl 0,1 N pH 1,5) e o suco entérico (solução tampão fosfato 0,01 N pH 7,4). O fármaco foi quantificado por espectrofotometria no UV. As alíquotas do meio de liberação foram retiradas nos períodos de tempo pré-determinados e não houve reposição do meio de liberação, sendo feita, neste caso, a correção dos valores da concentração do fármaco.



Figura 20 - Aparelho de dissolução.

4.2.6.2 ENSAIO DE LIBERAÇÃO DO FÁRMACO EM MEIO COLÔNICO SIMULADO:

A fim de verificar o perfil de liberação da TC no cólon, as partículas foram submetidas ao ensaio de liberação em meio colônico simulado *in vitro* usando suspensões de fezes humanas. Para tanto, foi preparado uma suspensão de 5 % de conteúdo fecal em solução tampão 0,01 N com pH 6,8. Segundo Yang (2008), as fezes humanas utilizadas devem ser de voluntários sadios sem precedente histórico de distúrbio gastrointestinal e estes não podem ter utilizados antibióticos por pelo menos 3 meses antes do estudo.

O teste de dissolução foi realizado sob as seguintes condições:

- Volume do meio de dissolução: 300 mL;
- Velocidade de agitação: ± 70 rpm;
- Ambiente: anaeróbio com pH 6,8;
- Alíquotas retiradas: 3 mL;
- Tempo de ensaio: 24 horas;
- Temperatura: $37 \pm 0,5$ °C;
- Tempos de amostragem: 120; 600; 1440 min;
- Amostra: 30 mg de partículas revestidas, após ensaio de liberação em meio ácido e entérico simulados;
- Meio de liberação: suspensão de conteúdo fecal 5 %;

A produção do ambiente anaeróbico foi obtida através da reação de ácido sulfúrico 2 M com carbonato de cálcio em ambiente fechado, para produção de CO_2 (Figura 21).

O fármaco foi quantificado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

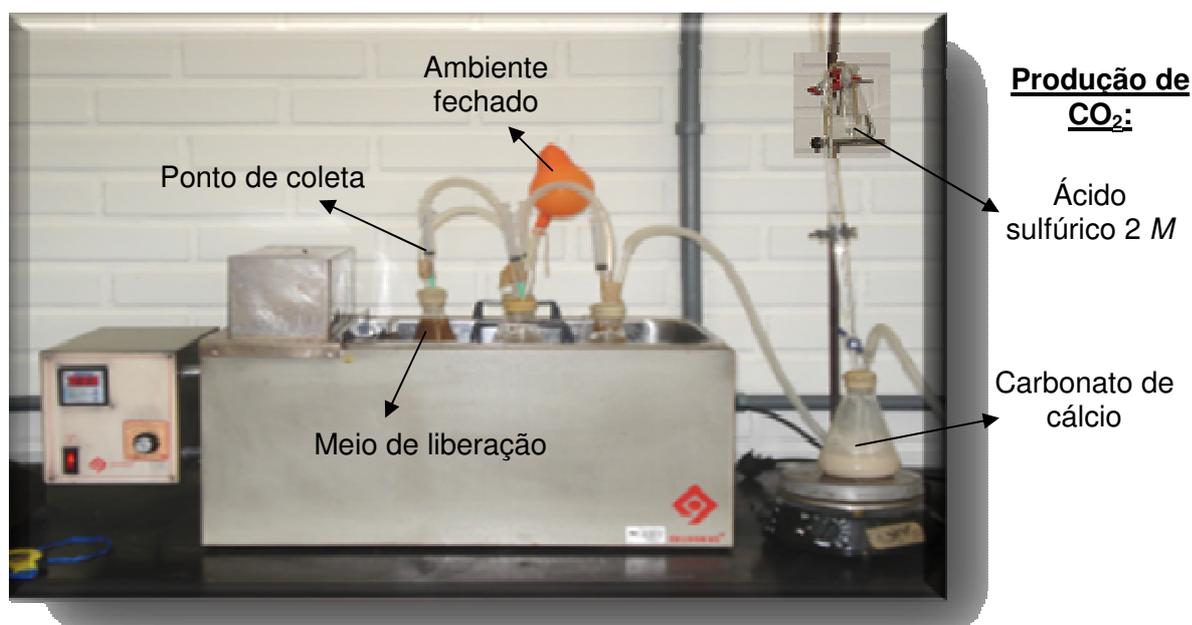


Figura 21 – Fotografia do aparato para liberação *in vitro* do fármaco em meio colônico simulado utilizado

4.2.7 Quantificação de TC por CLAE:

O método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) tem a capacidade de separar, identificar e quantificar analitos contidos nas amostras. O ensaio foi realizado sob as seguintes condições: coluna fase reversa C_{18} , detector de UV em 242 nm, temperatura a 35 °C, velocidade de fluxo 1mL/min e como fase móvel solução tampão acetato de sódio 0,02 M (pH 4,8) e acetonitrila na proporção de 68:32, respectivamente (LEOPOLD; FRIEND, 1995).

Preparou-se solução estoque de TC 1 mg/mL em solução de etanol. Alíquota de 1 mL foi retirada dessa solução e adicionada em 20 mL da solução tampão contendo 5 % de conteúdo fecal pH 6,8. A amostra ficou sob agitação (30 min), foi centrifugada duas vezes (30 min; velocidade de 3000 rpm) e filtrada com filtro de seringa celulose regenerada sartorius (diâmetro: 25 mm; tamanho dos poros: 0,45 μm). Para a construção da curva analítica foram preparadas soluções

diluídas (10; 25; 50 e 100 µg/mL) de TC em meio colônico pH 6,8. As leituras foram realizadas em CLAE em 242 nm.

4.2.8 Análise da cinética de liberação *in vitro*:

Para o estudo da cinética de liberação do fármaco *in vitro* foram aplicados alguns modelos matemáticos: cinética de ordem zero, cinética de 1^a ordem, modelo de Higuchi, de Hixon Crowell, de Korsmeyer-Peppas e de Baker-Lonsdale (Quadro 03 item 3.4). A adequação do perfil de liberação ao modelo matemático foi baseada no valor do coeficiente de correlação (*r*) (COSTA, 2002). O estudo foi realizado usando o *software* sigma-Plot[®] versão 9.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização da Quitosana:

5.1.1 *Determinação do grau de desacetilação da Quitosana:*

A QS é o derivado mais importante da quitina em termos de aplicação. A QS é obtida através da desacetilação parcial de quitina em condições alcalinas (RINAUDO, 2006). A prática industrial mais comum, e que também é bastante empregada em laboratórios de pesquisa, é aquela na qual a desacetilação da quitina é realizada em suspensão de solução aquosa de hidróxido de sódio, sendo que a concentração dessa solução, o excesso de álcali, o tempo e a temperatura da reação são variáveis, conforme o procedimento adotado (CAMPANA; SIGNINI, 2001).

O grau de desacetilação da QS é importante na formação do complexo polieletrólítico com alginato de sódio, pois quanto maior o GD, maior é a proporção de grupos amina e, conseqüentemente, maior será a ligação do polímero com poliânions. Isto pode ser explicado pelo aumento da densidade de carga e, por conseguinte, de forças eletrostáticas no processo de complexação proporcionado pelo aumento de grupos amino na cadeia polimérica (LUCINDA-SILVA, 1999).

A busca por métodos precisos para a determinação do GD de QS, tem sido uma das grandes preocupações dos pesquisadores por muitas décadas (ZHANG et al., 2005). Segundo Tan (1998) o método empregado para a determinação do GD de QS tem que ser um método simples, rápido, eficaz e que não sofra a presença de impurezas, principalmente as proteínas, que são contaminantes típicos presentes nas amostras brutas de QS.

Várias técnicas têm sido propostas para a determinação do GD de QS baseadas em espectroscopia no infravermelho (TAN et al., 1998; SANTOS et al., 2003; ZHANG et al., 2005; RINAUDO, 2006; ABDEL-FATTAH et., 2007), espectroscopia na região do infravermelho próximo (RATHKE; HUDSON, 1993), primeira derivada do espectro na região do UV (TAN et al., 1998; RINAUDO, 2006), titulação potenciométrica (JIANG; CHEN; ZHONG., 2003; RINAUDO, 2006; TAKAHASHI; IMAI; SUZUKI, 2007), titulação coloidal (TAN et al., 1998), determinação enzimática (RINAUDO, 2006), ressonância magnética nuclear

(CAMPANA; SIGNINI, 2001; LAVERTU et al., 2003; SANTOS et al., 2003; ZHANG et al., 2005; RINAUDO, 2006; ABDEL-FATTAH et., 2007), determinação por difração de raio-x (CAMPANA; SIGNINI, 2001; ZHANG et al., 2005; ABDEL-FATTAH et., 2007), reação com ninhidrina, entre outras (TAN et al., 1998; KUMAR, 2000).

Segundo Khan, Peh e Ch'ng (2002), Tan e colaboradores (1998), alguns destes métodos são considerados onerosos para análises rotineiras, como espectroscopia por ressonância magnética nuclear ou são considerados métodos cancerígenos, como é o caso da reação por ninhidrina, no qual são necessárias precauções extras para a sua manipulação.

Portanto, o método escolhido para determinar o GD de QS para este trabalho foi da primeira derivada do espectro na região do UV. Segundo Tan e colaboradores (1998) e Lucinda-Silva (2003), este método permite que uma simples e rápida análise da QS, não sofra influencia de impurezas e demonstre alta sensibilidade para detecção de NAG.

A NAG apresenta uma absorção máxima em 193 nm. A presença de ácido acético na solução de NAG altera consideravelmente a determinação deste composto, pois ele apresenta uma alta absorção em 199 nm. A primeira derivada do espectro da NAG e do ácido acético estão plotados na Figura 22.

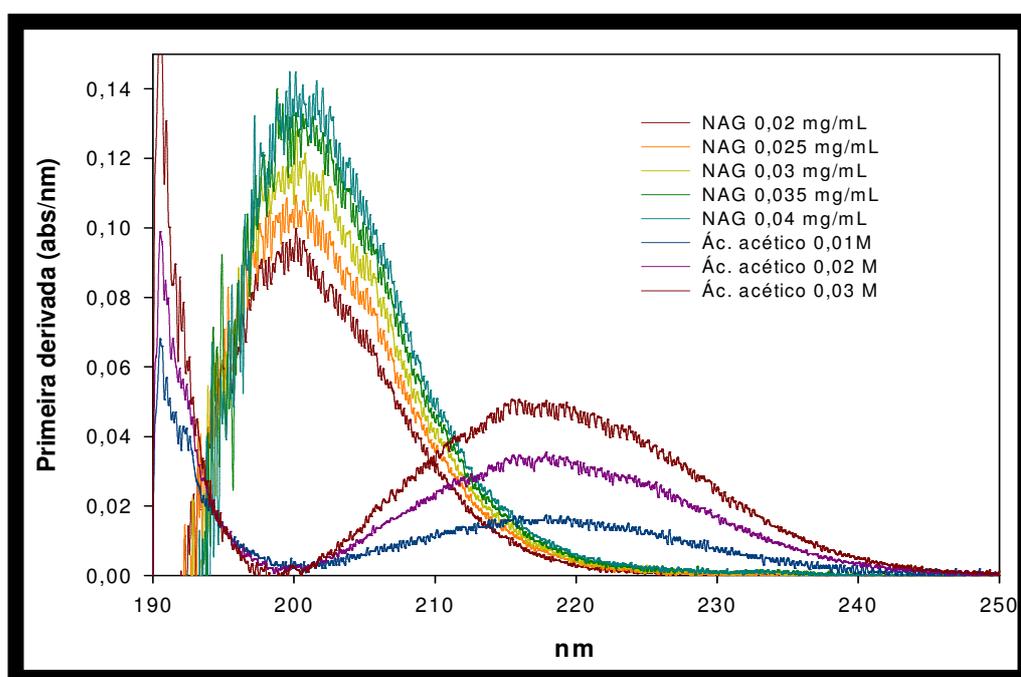


Figura 22 – Primeira derivadas (mg/mL) em ácido acético 0,01 M na derivada do espectro de soluções de ácido acético e de soluções de NAG em diferentes região do UV.

Quando soluções de ácido acético com diferentes concentrações (0,01; 0,02 e 0,03 M) são analisadas, usando a água como branco, observa-se que todos os espectros convergem para um ponto comum em 201 nm, podendo ser chamado de ponto zero. Este ponto corresponde ao comprimento de onda de máxima absorção da NAG, tornando assim a determinação da NAG independente da concentração da solução de ácido acético em um intervalo de concentração comumente usado na preparação de dispersões diluídas de QS (KHAN; PEH; CH'NG, 2002).

Para determinação do GD da amostra de QS por este método, foi obtida a curva analítica da NAG em ácido acético 0,01 M (Figura 23). Através da regressão linear da reta foram obtidos os seguintes parâmetros estatísticos:

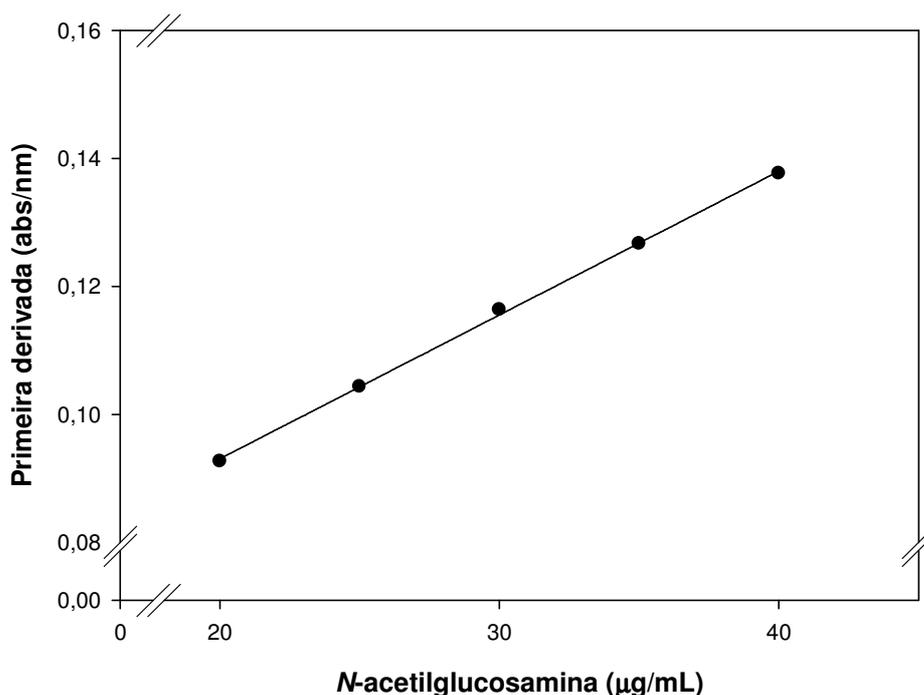


Figura 23 – Curva analítica da NAG em ácido acético 0,01 M.

Equação da reta: $Y = 0,0022x + 0,0481$

$$r^2 = 0,9993$$

Desvio padrão = 1,18198

A partir da primeira derivada do espectro na região do UV da amostra de QS e a aplicação na curva analítica, obteve-se um GD de $89,76\% \pm 0,013$, valor

este considerado alto, uma vez que, GD superior a 50% já é considerado QS (BARROS et al., 2006). Lucinda-Silva (2003) obteve um GD de $82,46\% \pm 0,33$, determinado pelo método da primeira derivada na região do UV, para quitosana de outra marca e grau analítico, após purificação. Em trabalho anterior, esta amostra de QS teve seu GD determinado pelo método de titulação potenciométrica e a proporção de grupos amino encontrada foi de 62,79% (LUCINDA, 1999) mostrando que o método da primeira derivada na região do UV é mais sensível e sofre menor interferências do que o método potenciométrico.

Santos e colaboradores (2003) caracterizaram QS comerciais de diferentes marcas (QS_F, QS_A e QS_P), quanto ao GD através de dois métodos: ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H) e titulação condutimétrica, obtendo os seguintes resultados: para RMN ¹H (77,0; 90,2 e 90,0 %) e para titulação condutimétrica (74,8; 89,9 e 89,6 %), respectivamente. Segundo Santos e colaboradores ambos os métodos são eficientes e reproduzíveis para determinar o GD de QS, embora a titulação condutimétrica tenha uma ligeira vantagem em relação ao RMN ¹H, pois esta é considerada uma técnica não destrutiva e de baixo custo. Por outro lado, a análise pelo RMN ¹H requer preparação menos exigente da amostra, devido à especificidade do pico do grupo acetamida.

5.1.2 Determinação da Densidade Relativa da Quitosana:

Entre as características importantes da QS que influenciam as propriedades de formulações está o tamanho de partícula, a densidade, a massa molar, o grau de desacetilação e a viscosidade (SINHA et al., 2004).

A densidade relativa das dispersões diluídas de QS foi determinada por picnômetro usando a água como líquido referência. Os valores de densidade estão descritos na Tabela 02.

Tabela 02 - Valores de densidade relativa para dispersões de quitosana, em ácido acético 0,1 N contendo NaCl 0,1 M.

Amostras	Densidade relativa (n=3)
Água	1,0000
Ácido acético 0,1 N contendo NaCl 0,1 M	1,0004
0,1 g/dL	1,0004
0,2 g/dL	1,0010
0,3 g/dL	1,0006
0,4 g/dL	1,0015
QS 0,5 g/dL	1,0017
0,6 g/dL	1,0025
0,7 g/dL	1,0017
0,8 g/dL	1,0021
0,9 g/dL	1,0015
1,0 g/dL	1,0030

5.1.3 Determinação da Viscosidade Intrínseca da Quitosana:

A viscosidade intrínseca, embora seja um método não absoluto, é um dos processos mais utilizados para a determinação da massa molar de polímeros. As medidas são feitas com base no tempo de escoamento do solvente e das soluções diluídas do polímero, utilizando-se um viscosímetro capilar (SANTOS et al., 2003).

A determinação da viscosidade intrínseca das dispersões de QS (0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; 1,0 g/dL) em ácido acético 0,1 N contendo NaCl 0,1 M, foram determinadas a temperatura de 25 °C, onde as viscosidades dinâmica, relativa, específica e reduzida foram calculadas, conforme apresentado na Tabela 03.

A partir dos dados de viscosidade reduzida e a concentração das dispersões, foi elaborado um gráfico (Figura 24) e através da regressão linear da reta foram obtidos os valores dos coeficientes de linearidade e angular, dados esses necessários para cálculo da viscosidade intrínseca.

Tabela 03 - Valores de viscosidade relativa (η_{rel}), específica (η_{sp}) e reduzida (η_{red}) para dispersões de quitosana, em ácido acético 0,1 N contendo NaCl 0,1 M.

QS (g/mL)	η_{rel}	η_{sp}	η_{red} (dL/g)
0,1	1,92	0,92	9,21
0,2	3,12	2,12	10,61
0,3	4,78	3,78	12,62
0,4	6,68	5,68	14,22
0,5	8,67	7,67	15,35
0,6	10,49	9,49	15,82
0,7	12,94	11,94	17,07
0,8	15,31	14,31	17,89
0,9	15,47	14,47	16,07
1,0	22,99	21,99	21,99

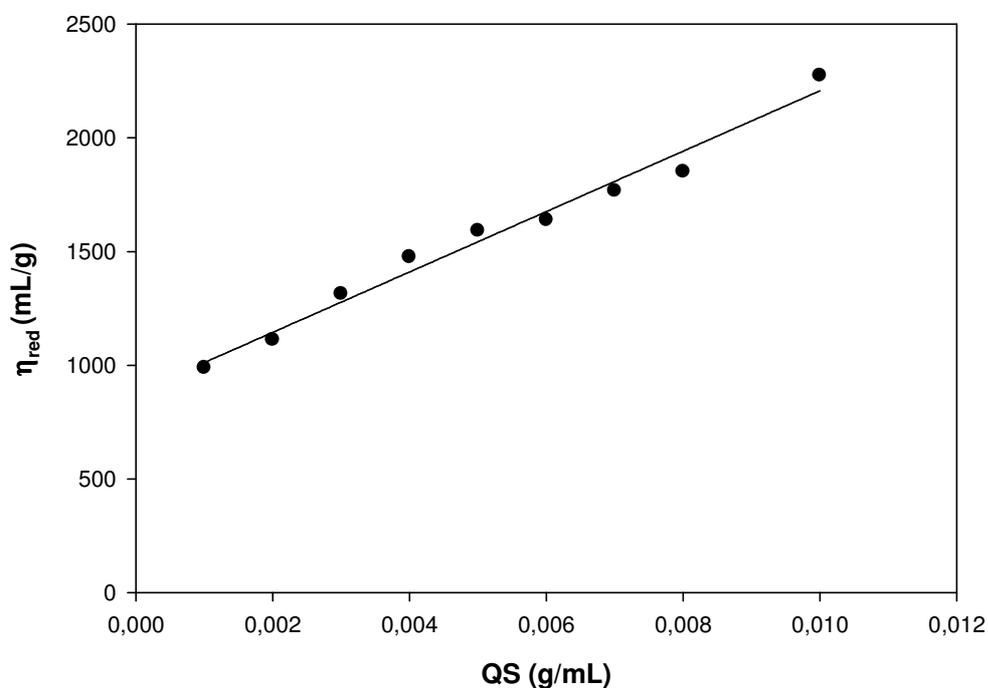


Figura 24 - Gráfico da viscosidade reduzida das dispersões de quitosana contra a concentração das respectivas dispersões para cálculo da viscosidade intrínseca do polímero.

Coeficiente angular (a) = 132790,32

Coeficiente linear (y_0) = 878,51

$r^2 = 0,9794$

A viscosidade intrínseca é igual o coeficiente linear, ou seja, 878,54 mL/g. Santos e colaboradores (2003) caracterizaram amostras comerciais de diferentes marcas de QS, quanto à viscosidade intrínseca, obtendo os seguintes resultados QS_A (360 mL/g) e QS_F (942 mL/g).

5.1.4 Determinação da Massa Molecular da Quitosana:

A MM da QS foi determinada pelo método viscosimétrico, a partir da viscosidade intrínseca da dispersão polimérica, usando a equação de Mark-Houwink (equação 4) (RATHKE; HUDSON, 1994), em que relaciona a viscosidade intrínseca (878,54 mL/g), o GD do polímero (89,76%) e as constantes viscosimétricas K e a ($3,614 \cdot 10^{-3}$; 0,9044, respectivamente). A massa molecular encontrada foi de $9,02 \cdot 10^5$ Da. Comparando com dados da literatura, a MM de QS encontrada neste estudo pode ser considerada alta. Santos e colaboradores (2003) caracterizaram diferentes QS comerciais (QS_A e QS_F), quanto a MM a partir da viscosidade intrínseca, obtendo os seguintes resultados: $6,9 \cdot 10^4$ Da ($K=0,076$ e $\rho=0,76$) e de $5,2 \cdot 10^4$ Da ($K=0,074$ e $\rho=0,76$) respectivamente.

5.2 Caracterização do AL de sódio:

5.2.1 Determinação da densidade relativa:

Para posterior determinação da viscosidade intrínseca e massa molecular do AL, foi verificada a densidade relativa das dispersões do polímero com diferentes concentrações (tabela 04). A densidade relativa variou entre 1,002 e 1,005 para dispersões com concentração entre 0,03 a 0,17 g/dL, respectivamente.

Tabela 04 - Valores de densidade relativa para dispersões de alginato de sódio em NaCl 0,1 M.

Amostras	Densidade relativa (n=3)
Água	1,000
NaCl 0,1 M	1,002
0,03 g/DI	1,002
0,05 g/dL	1,003
AL 0,1 g/dL	1,004
0,13 g/dL	1,004
0,15 g/dL	1,004
0,17 g/dL	1,005

5.2.2 Determinação da viscosidade intrínseca:

A viscosidade intrínseca do AL foi obtida a partir da determinação das viscosidades dinâmica, relativa, específica e reduzida das dispersões de AL de

sódio em diferentes concentrações em água contendo NaCl 0,1 M. A Tabela 05 apresenta os valores de viscosidade obtidos.

Tabela 05 - Valores de viscosidade relativa (η_{rel}), específica (η_{sp}) e reduzida (η_{red}) para dispersões de alginato de sódio em NaCl 0,1 M.

AL (g/dL)	η_{rel}	η_{sp}	η_{red} (g/dL)
0,03	1,27	0,27	9,0
0,05	1,40	0,40	8,0
0,1	2,36	1,36	13,6
0,13	2,93	1,93	14,8
0,15	3,26	2,26	15,06
0,17	3,71	2,71	15,94

A Figura 25 apresenta a correlação entre a viscosidade reduzida e a concentração das dispersões. A partir desta correlação, a viscosidade intrínseca foi obtida através do prolongamento da reta até interseção do eixo y, ou seja, quando a concentração (x) for igual a zero. A viscosidade intrínseca para o polímero analisado foi de 10,46 dL/g.

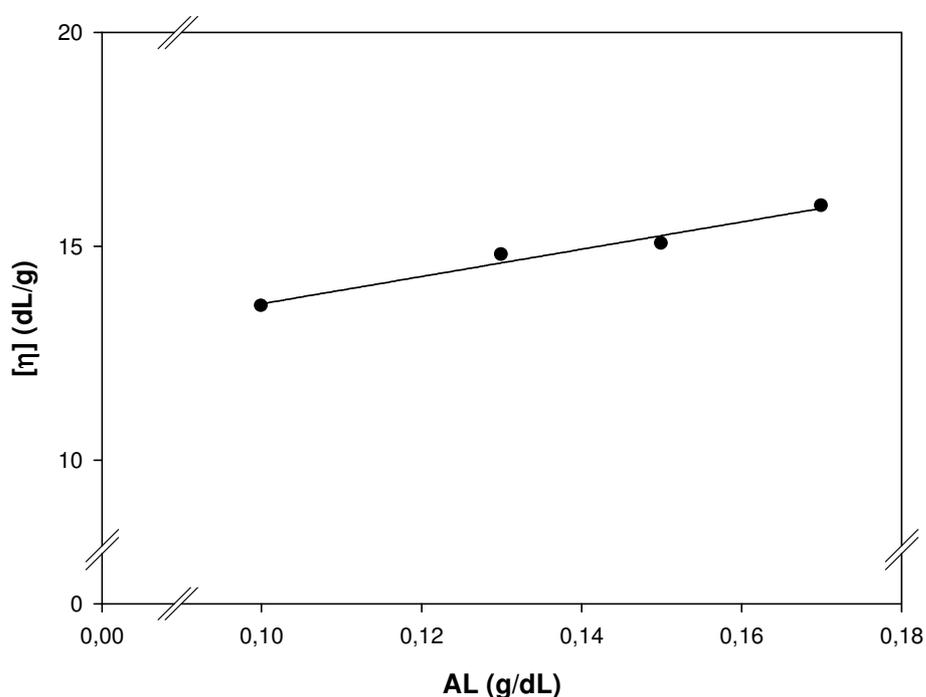


Figura 25 - Gráfico da viscosidade reduzida das dispersões de alginato (AL) contra a concentração das respectivas dispersões para cálculo da viscosidade intrínseca do polímero.

Coeficiente angular (a) = 31,8879

Coeficiente linear (y_0) = 10,4654

$r^2 = 0,9724$

Comparando com os resultados obtidos no estudo de caracterização molecular dos diferentes tipos de AL, realizado por Johnson; Craig e Mercer (1997), onde as viscosidades intrínsecas das amostras apresentaram resultados que variaram de 0,242 a 3,4217 dL/g, o AL analisado exibiu um alto grau de viscosidade, demonstrando ser ideal para emprego em sistemas de liberação de fármaco.

Segundo Bresolin e colaboradores (2003), a viscosidade de AL é um dos parâmetros que influencia o processo de intumescimento, erosão e o perfil de dissolução do fármaco da matriz. Alginatos com baixo grau de viscosidade demonstram provocar uma maior erosão e liberação do fármaco da matriz, ao contrário de formulações contendo AL de alta viscosidade que exibem uma menor erosão e subsequente menor liberação do fármaco.

5.2.3 Determinação da Massa Molecular do Alginato de Sódio:

A viscosidade intrínseca das dispersões de alginato pode ser usada como um meio para determinação do peso molecular, embora outras técnicas, como espalhamento de luz, estejam disponíveis (JOHNSON; CRAIG; MERCER, 1997).

A massa molecular aproximada do AL foi determinada através da equação 7 item 4.2.1.7, em que relaciona a viscosidade intrínseca (10,4654 dL/g) e a massa molecular do polímero em cloreto de sódio 0,1 M (SMIDSRØD, 1970; JOHNSON; CRAIG; MERCER, 1997). A massa molecular encontrada foi de $5,23 \cdot 10^5$ Da, resultado este maior que o obtido por Johnson e colaboradores (1997), que através do cálculo da viscosidade intrínseca obteve valores próximos de $1,2 \cdot 10^4$ a $1,71 \cdot 10^5$ Da.

5.3 Método analítico para quantificação da TC:

A determinação do pico de absorção máxima do fármaco foi realizada por espectrofotometria na região do UV. A espectrofotometria na região do UV permite

identificar e quantificar uma ampla variedade de substâncias químicas e biológicas. O espectro de absorção no UV consiste em um gráfico de frequência ou comprimento de onda *versus* intensidade de absorção (em transmitância ou absorbância). O composto analisado deve ser dissolvido em um solvente apropriado que não absorva luz na região estudada (SILVERSTEIN; BASSLER; MORRILL, 1994).

A Figura 26 apresenta o perfil de absorção de soluções contendo TC na região do UV. Para os três sistemas solventes analisados (HCl 0,1 N e tampão fosfato 0,01 e 0,05 N) o pico de absorção máxima do fármaco foi de 242 nm.

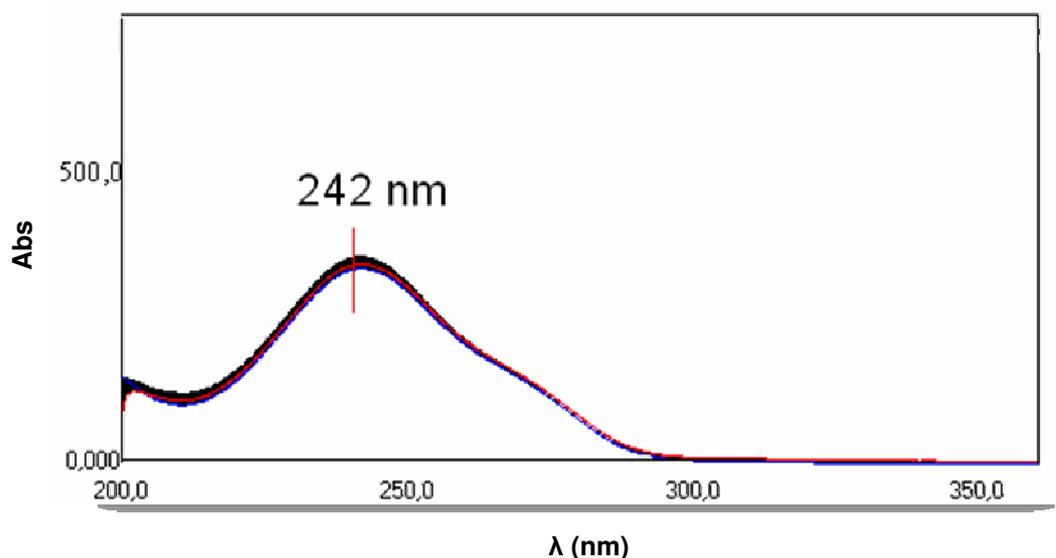


Figura 26 - Perfil de absorção das soluções de TC na região do UV.

5.3.1 Determinação da linearidade

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

Foi determinada a linearidade do método de quantificação da TC em três diferentes meios: tampão fosfato 0,05 M pH 7,5; tampão fosfato 0,01 M pH 7,5 e meio gástrico simulado (ácido clorídrico 0,1 N). Em todas as curvas analíticas preparadas (Quadro 07) obteve-se um coeficiente de determinação próximo a 1, o que traduz a resposta linear do procedimento de calibração, ou seja, o sinal

analítico obtido é proporcional à quantidade de constituinte(Figura 27) (HARRIS, 2001).

Quadro 07 - Dados obtidos pela linearidade do método em soluções tampão 0,05 N, 0,01 N e HCl 0,1 N .

Solventes	A	y_0	R^2
Tampão 0,05	0,0426	-0,0198	0,9930
Tampão 0,01	0,0423	0,0012	0,9998
HCl 0,1 N	0,0412	0,0030	0,9993

a: Coeficiente angular; y_0 : Coeficiente linear; r^2 : Coeficiente de determinação.

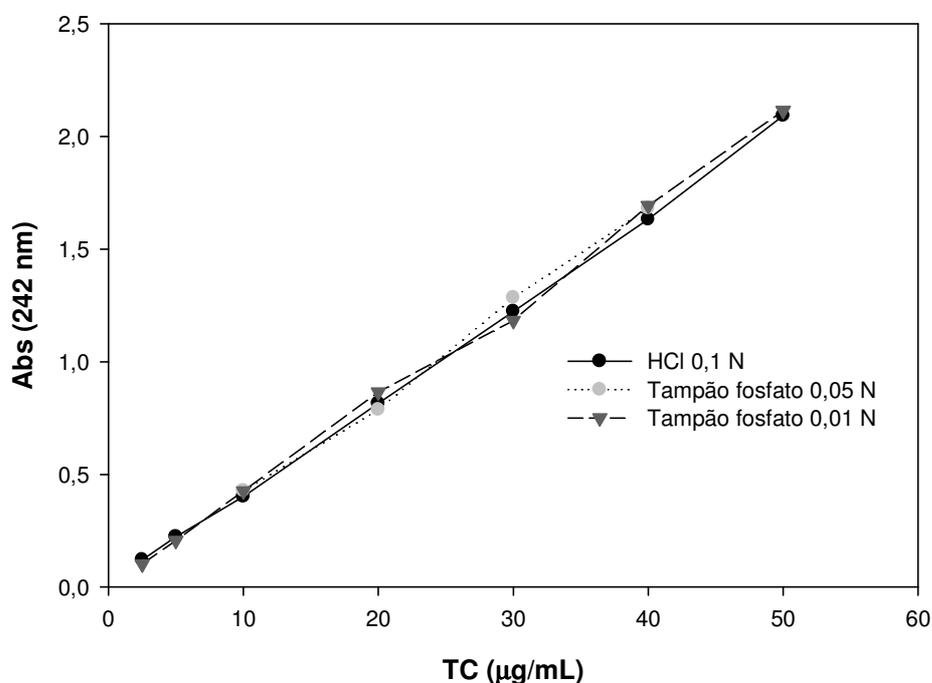


Figura 27 - Curvas analíticas de TC em ácido clorídrico 0,1 N pH 1,5, tampão fosfato 0,05 N pH 7,5 e tampão fosfato 0,01 N pH 7,5 em 242 nm.

5.3.2 Determinação da precisão ou coeficiente de variabilidade do método:

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

Para obtenção da precisão do método fez-se uma curva analítica em diferentes meios (tampão fosfato 0,05 M pH 7,5; tampão fosfato 0,01 M pH 7,5 e meio gástrico simulado) usando-se três concentrações de TC: 10, 30 e 50 µg/mL. Cada concentração foi preparada com 6 replicatas. Calculou-se a precisão para cada concentração usada e montou-se as seguintes curvas analíticas (figura 28 a 30) e procedeu-se a análise estatística dos dados obtidos (tabelas 6 a 8).

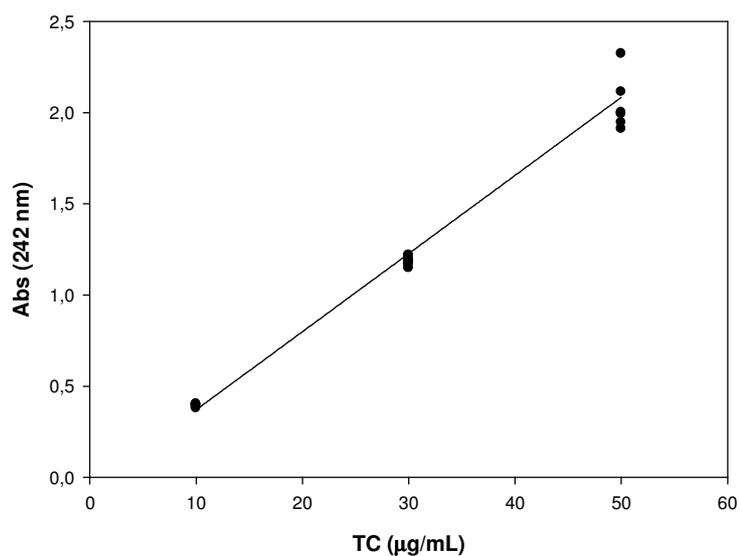


Figura 28 - Determinação da precisão do método de quantificação de TC em tampão fosfato 0,05 N pH 7,5, em espectrofotômetro de UV (242 nm)

Coeficiente angular (a) = 0,04285

Coeficiente linear (y_0) = -0,05817

$r^2 = 1$

Tabela 06 - Análise estatística dos dados da análise de precisão do método de quantificação da TC em tampão fosfato 0,05 N pH 7,5, em espectrofotômetro de UV (242 nm)

TC (µg/mL)	DPR (%)	Variância
10	2,02	0,0000765
30	1,91	0,000615
50	3,46	0,005929

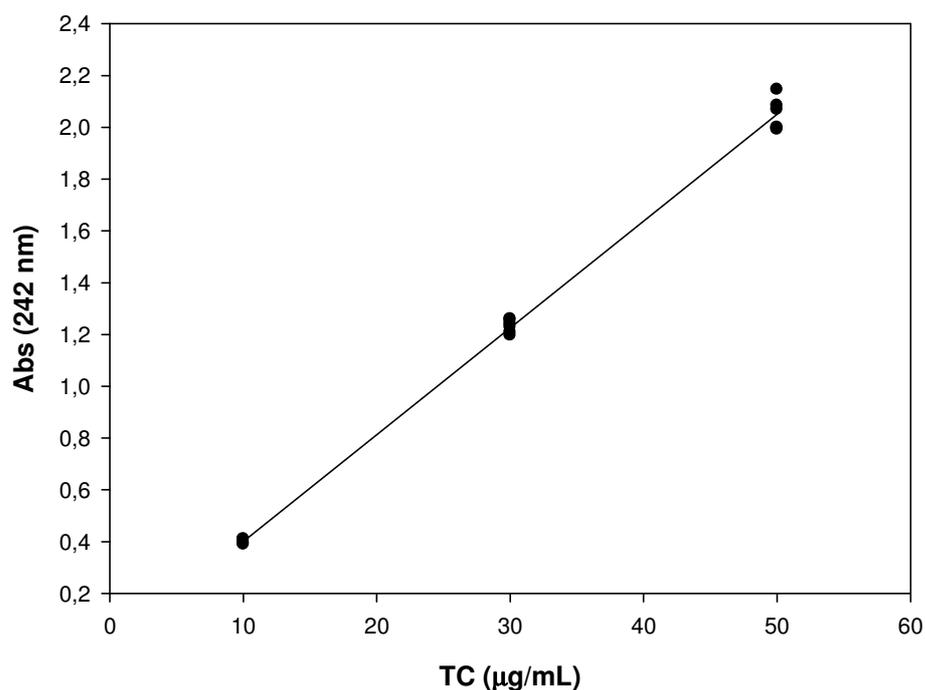


Figura 29 - Determinação da precisão do método de quantificação de TC em tampão fosfato 0,01 N pH 7,5, em espectrofotômetro de UV (242 nm)

Coeficiente angular (a) = 0,04123

Coeficiente linear (y_0) = -0,01072

$r^2 = 0,997$

Tabela 07 - Análise estatística dos dados da análise de precisão do método de quantificação da TC em tampão fosfato 0,01 N pH 7,5, em espectrofotômetro de UV (242 nm)

TC (µg/mL)	DPR (%)	Variância
10	1,92	0,000071
30	1,89	0,00065
50	2,78	0,003876

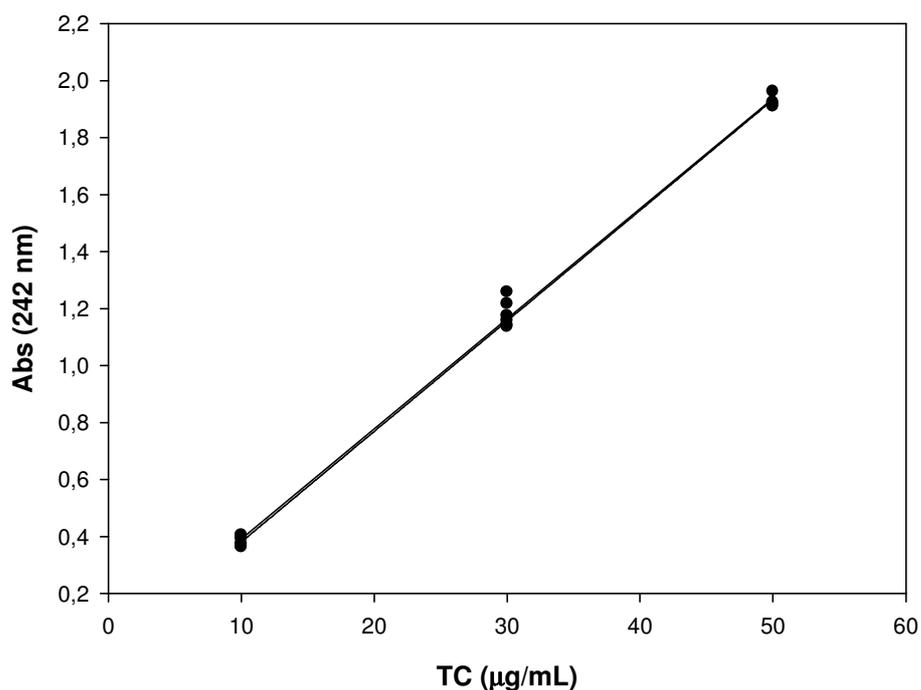


Figura 30 - Determinação da precisão do método de quantificação de TC em ácido clorídrico 0,1 N, em espectrofotômetro de UV (242 nm)

Coefficiente angular (a) = 0,03862

Coefficiente linear (y_0) = 0,00054

$r^2 = 0,997$

Tabela 08: Análise estatística dos dados da análise de precisão do método de quantificação da TC em ácido clorídrico 0,1 N, em espectrofotômetro de UV (242 nm)

TC (µg/mL)	DPR (%)	Variância
10	4,04	0,000795
30	3,65	0,002234
50	0,98	0,010521

Os resultados obtidos indicam que o método proposto apresenta precisão para a quantificação de TC, sendo obtido um coeficiente de correlação menor que 5% (ANVISA, 2003).

5.3.3 Determinação da recuperação/exatidão do método:

Recuperação é o método mais utilizado para a validação de processos analíticos, pois a recuperação determina a quantidade de fármaco no processo de preparação da amostra e está relacionada com a exatidão (ANVISA, 2003).

A recuperação mede a eficiência do procedimento de extração de um método analítico dentro de um limite de variação. Porcentagens de recuperação do analito e do padrão interno próximos a 100% são desejáveis, porém, admite-se valores menores, desde que a recuperação seja precisa e exata. O percentual de recuperação/exatidão do método é apresentado nas tabelas 9 a 11.

Tabela 09 - Percentual de recuperação da TC contida nas partículas de AL 1% sem revestimento (n=3)

MEIOS	Quantidade de TC adicionada (µg/mL)	Quantidade recuperada (µg/mL)	Recuperação (%)
HCl 0,1 N	20	17,25	86,24
Tamp. 0,01 N	20	17,49	87,45
Tamp. 0,05 N	20	17,23	86,17

Tabela 10 - Percentual de recuperação da TC contida nas partículas de AL1% com revestimento ACT 5% (n=3)

MEIOS	Quantidade de TC adicionada (ug/mL)	Quantidade recuperada (ug/mL)	Recuperação (%)
HCl 0,1 N	20	19,58	97,90
Tamp. 0,01 N	20	21,96	109,83
Tamp. 0,05 N	20	21,72	108,60

Tabela 11 - Percentual de recuperação da TC contida nas partículas de AL1% com revestimento FHPMC 5% (n=3)

MEIOS	Quantidade de TC adicionada (ug/mL)	Quantidade recuperada (ug/mL)	Recuperação (%)
HCl 0,1 N	20	18,88	94,41
Tamp. 0,01 N	20	19,90	99,50
Tamp. 0,05 N	20	21,74	108,71

5.3.4 Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ):

Os valores obtidos na determinação dos limites de detecção e de quantificação estão apresentados na tabela 12 e mostram que o método analítico é adequado para a quantificação de TC, obedecendo a faixa linear da curva analítica que foi de 10 a 50 ug/mL.

Tabela 12 – Dados obtidos pelos limites de detecção e quantificação em HCl 0,1 N, soluções tampão 0,01 N e 0,05 N (n=3).

	HCl 0,1 N	TAMPÃO 0,01 N	TAMPÃO 0,05 N
LD (ug/mL)	0,639852	0,692751	1,589076
LQ (ug/mL)	2,132839	2,309171	5,29692

5.4 Caracterização das partículas inertes de AL: QS:

As partículas são sistemas com dimensões de aproximadamente 1 a 2 mm, geralmente poliméricos que podem ser classificados em duas categorias de acordo com a sua constituição: as esferas que são sistemas matriciais compactos e as cápsulas que são sistemas reservatórios, contendo uma substância ativa ou núcleo, rodeado por uma membrana ou revestimento (SOUZA; RÉ, 2000).

São vários os métodos propostos para a produção dos SM, os quais podem ser divididos em duas classes principais: métodos químicos e métodos físicos. A escolha do método de preparação depende do tamanho da partícula, da solubilidade do núcleo, do tipo de polímero utilizado, das propriedades físicas, da permeabilidade e espessura da parede, do custo da produção e do tipo e taxa de liberação (BRESOLIN et al., 2003).

Após a etapa de preparação, as partículas podem ser caracterizadas abrangendo os mais variados aspectos, tais como: morfologia, tamanho de partícula e distribuição granulométrica, propriedades de intumescimento, teor e eficiência de encapsulação, perfil de liberação do fármaco, entre outros (ONEDA; RÉ, 2003).

5.4.1 Características morfológicas:

Para a caracterização morfológica das partículas de AL:QS sem TC e sem revestimento, foram testados lotes variando a concentração dos polímeros AL:QS (1:2) e do CaCl_2 (Quadro 05, item 4.2.3.1). Foi observado que a morfologia das partículas foi dependente das condições de preparo. Segundo Zaniboni (1995) a morfologia das matrizes pode ser influenciada por vários fatores que incluem a concentração dos polímeros, distância entre a agulha de gotejamento e a solução, diâmetro do orifício e da agulha de gotejamento, temperatura da solução, velocidade de gotejamento entre outros.

A Figura 31 apresenta as fotomicrografias das partículas de AL:QS inertes, variando a concentração dos polímeros.

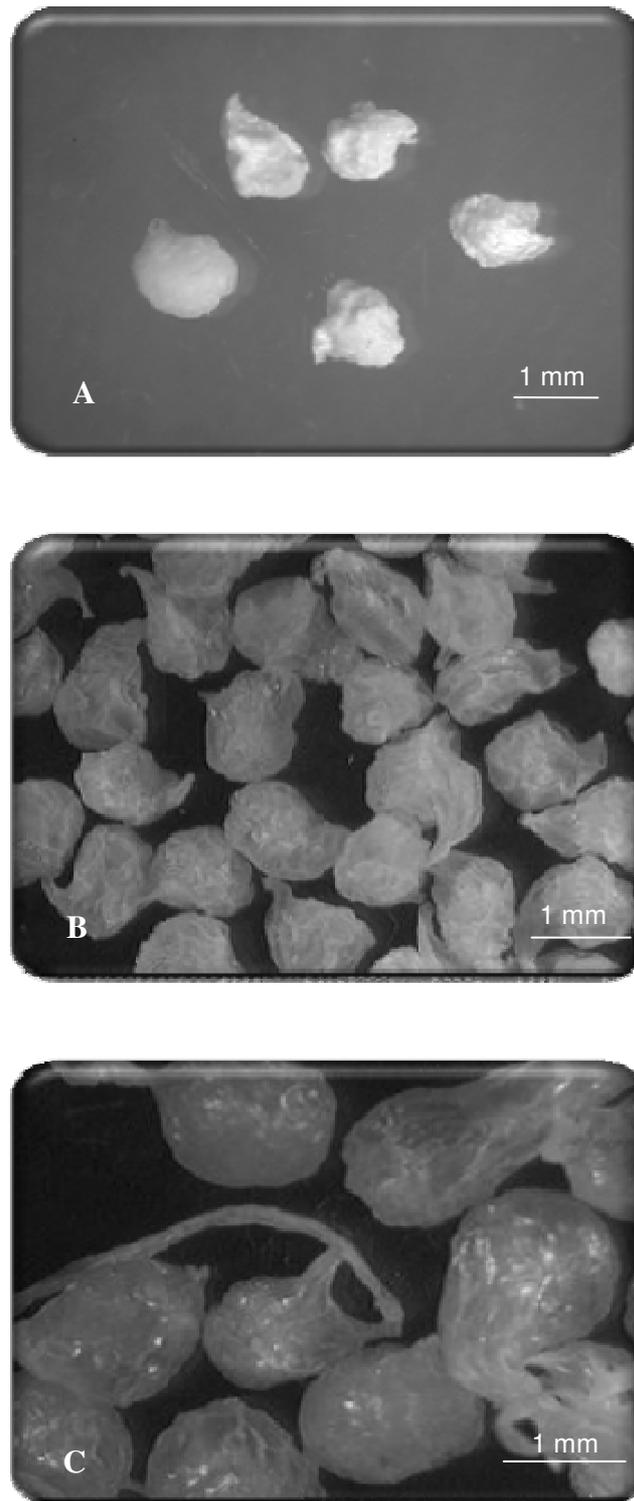


Figura 31 – Fotomicrografias em estereoscópio das partículas de AL:QS em diferentes concentrações de AL 1% (A) (aumento de 10x) AL 2,5% (B) e AL 5% (C) (aumento de 0,67x).

Foi observado que o aumento da concentração do polímero favoreceu a obtenção de partículas maiores, com aspecto levemente achatado e com deformações do tipo cauda. Isto pode estar relacionado com a altura e velocidade

do gotejamento e com a viscosidade da dispersão, o que pode dificultar o movimento das partículas suspensas, levando à aglomeração durante o gotejamento da dispersão de AL.

Através das fotomicrografias eletrônicas de varredura (Figura 32) foi possível observar que as partículas, com maior proporção de AL: Ca (5,0 e 7,5 %, respectivamente) em relação a QS (1,0 %), apresentaram superfície mais rugosa resultante, provavelmente, do excesso de AL na superfície das partículas. Os lotes das partículas contendo AL 1,0 e 2,5 % apresentaram superfícies lisas, sendo que o lote AL1% apresentou um pouco mais de rugosidade, provavelmente devido ao método de preparação, onde a formação da membrana polieletrólítica ocorreu após obtenção da matriz AL:Ca. Segundo Lucinda-Silva e Evangelista (2005) a ligação dos íons cálcio pelo AL ocorre na parte interna da cadeia polimérica e a complexação com polieletrólitos, como a QS, provavelmente ocorre somente na superfície das mesmas.

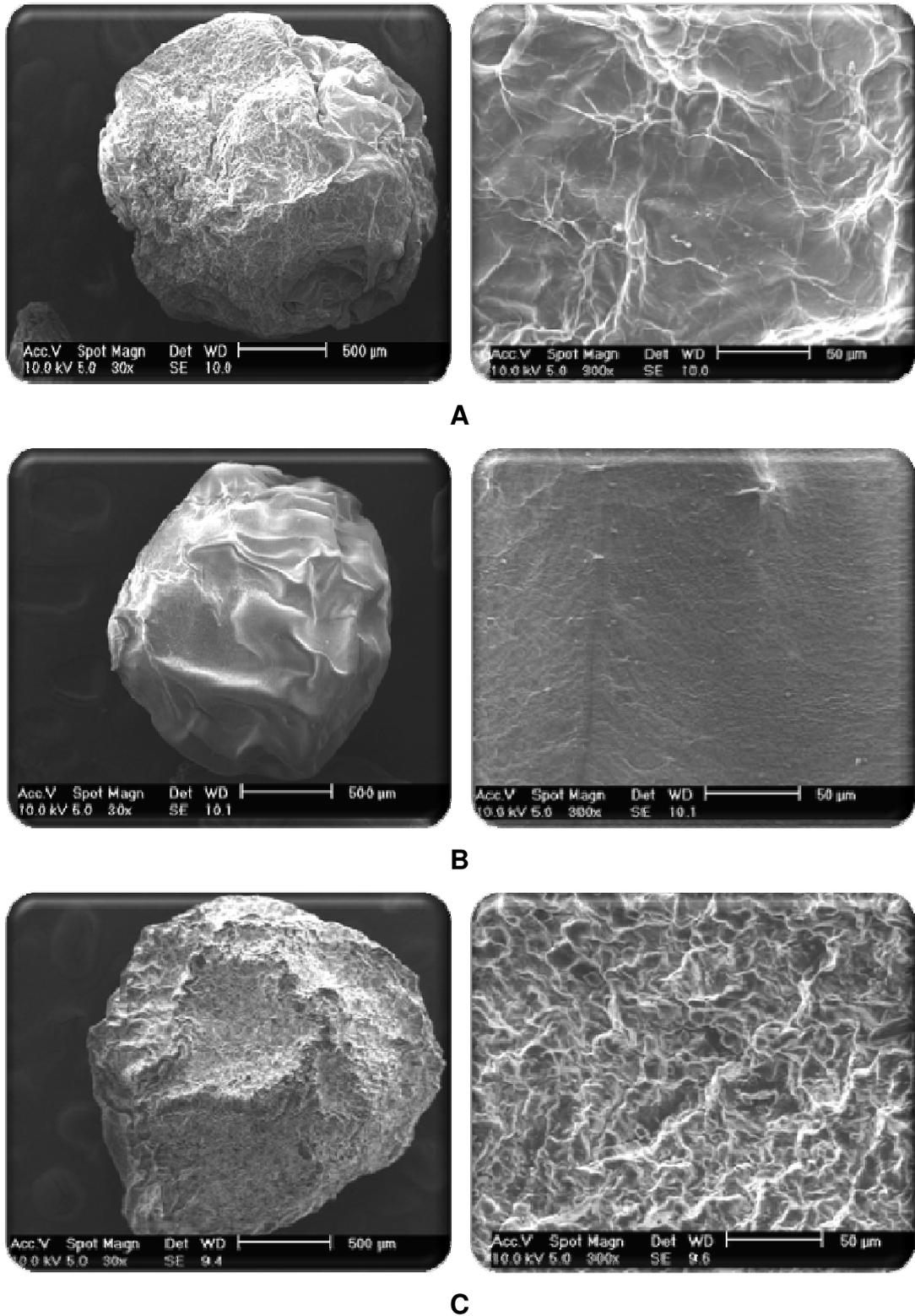


Figura 32 – Fotomicrografias eletrônicas de varredura de partículas de AL:QS com diferentes concentrações de polímeros preparadas pelos dois métodos: A – AL:QS 1:0,5 preparados pelo método 2 (formação da matriz de AL:Ca 1:1,5 e posterior coacervação complexa com QS); B e C – AL:QS 2,5:1 e 5:1, respectivamente, preparados pelo método 1 (formação do complexo de AL:Ca:QS, simultaneamente).

Os processos de congelamento e secagem são considerados etapas críticas na obtenção dos sistemas multiparticulados, pois interferem diretamente na morfologia das partículas. O processo de congelamento com nitrogênio, por se dar de forma instantânea, evita a deformação provocada pela contração de volume que ocorre no processo convencional de congelamento. Para isso, o emprego de nitrogênio líquido durante o processo de congelamento é fundamental para a obtenção de partículas esféricas. Como mostra a Figura 33 (A), as formulações com iguais concentrações de polímeros apresentaram aspecto diferentes, devido à presença de nitrogênio durante o processo de secagem.

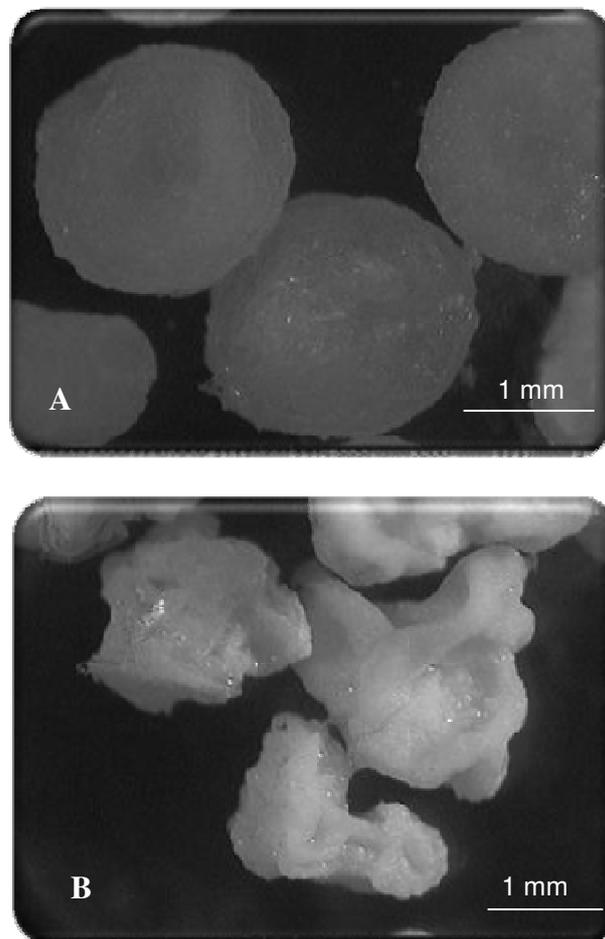


Figura 33 – Fotomicrografias em estereoscópio de partículas de AL:QS revestidas com FHPMC 5% congeladas com nitrogênio líquido (A) e sem nitrogênio líquido (B) (aumento 2 X).

5.4.2 Análise granulométrica:

A análise granulométrica consiste de uma técnica analítica que visa à determinação da distribuição de tamanho de partículas de uma dada amostra. Muitos métodos são empregados para a medida de distribuição granulométrica. A escolha do método apropriado não leva em consideração apenas a faixa de tamanho, mas também propriedades como densidade, índice de refração, entre outras (ALLEN, 1997).

No presente trabalho o tamanho médio em todos os lotes está provavelmente diretamente relacionado com a técnica de obtenção. Além do diâmetro de abertura da agulha usada no gotejamento da dispersão de AL, fatores como concentração e correspondente viscosidade da dispersão, presença ou não de fármaco suspenso, presença de revestimento e os respectivos solventes e métodos, congelamento e secagem podem ter influenciado a distribuição de tamanho apresentado pelos lotes de SMs.

Como apresentado na tabela 13, o aumento da concentração da dispersão polimérica levou ao aumento do tamanho médio das partículas sem fármaco, 1,64 e 2,10 mm para dispersões com 2,5 e 5% de AL, respectivamente. A incorporação do fármaco na forma suspensa na matriz polimérica levou a redução do tamanho médio dos SMs, podendo estar relacionado com alterações na densidade e viscosidade da dispersão com a adição do fármaco.

Tabela 13 - Distribuição de tamanho das partículas de AL-Ca:QS com e sem fármaco preparadas pelo M1 e M2, sem revestimento preparadas pelos métodos de aspersão e imersão

LOTE	N ¹	LIMITE INFERIOR	LIMITE SUPERIOR	DIÂMETRO MÉDIO	DESVIO PADRÃO
AL 2,5% M1	57	0,4	2,4	1,64	0,28
AL 5% M1	19	1,9	3,1	2,10	0,24
AL 1% TC M2	49	1,1	2,1	1,60	0,21
AL 2,5% TC M1	57	0,7	2,9	2,06	0,36
AL 5% TC M1	28	1,4	2,2	1,71	1,18

¹N – número de partículas analisadas; * AL 1%; ** AL 2,5%

5.4.3 Análise de intumescimento:

O índice de intumescimento foi aplicado para determinar o grau de hidratação dos SM, através da verificação do aumento de diâmetro e através da absorção de água pelo método de gravimetria (MUNJERI; COLLETT; FELL, 1997; LEOPOLD; EIKELER, 1998).

O processo de intumescimento de um material polimérico é ativado pela absorção de água e ocorre em nível molecular. Esta difusão é possível devido à mobilidade dos segmentos locais das cadeias do polímero, que permite alojar as moléculas do líquido. Na presença de solventes adequados, os polímeros reticulados intumescem incorporando solvente, enquanto as cadeias puderem ser distendidas, e os segmentos são forçados a assumir uma conformação mais alongada (JOSÉ, 2000).

Foi avaliado o perfil de intumescimento das partículas de AL:QS inertes preparadas pelos dois métodos: M1 (formação complexa de AL-Ca:QS, simultaneamente) e M2 (formação complexa de AL-Ca e posteriormente coacervação complexa com QS) variando as concentrações de cloreto de cálcio e das dispersões poliméricas.

As análises de intumescimento mostraram que as formulações de forma geral, apresentaram um menor índice de intumescimento em meio gástrico simulado do que em meio entérico simulado (Figuras 34 e 35)

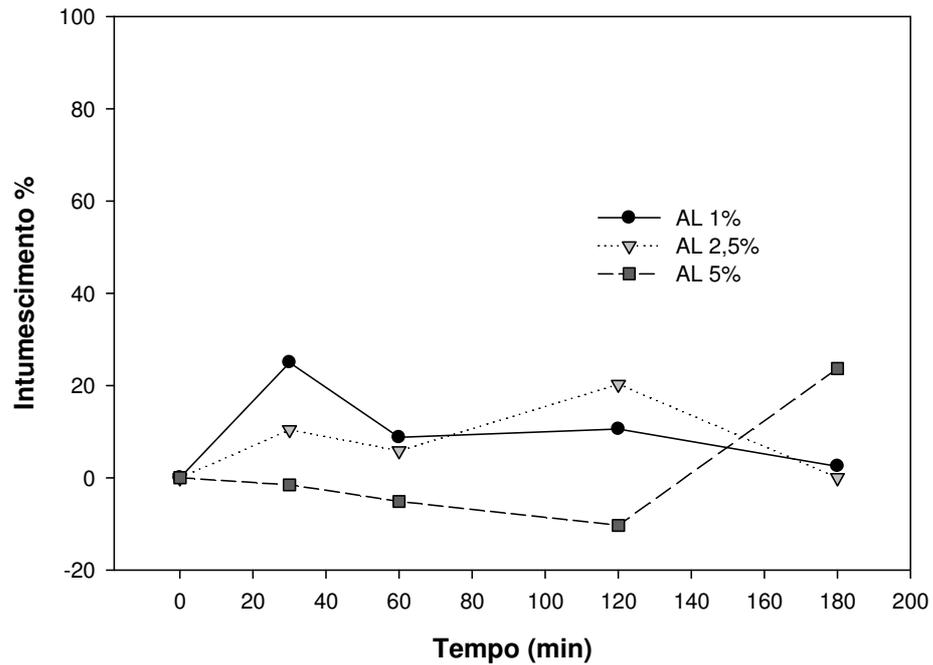


Figura 34 - Perfil de intumescimento das partículas de AL:QS inertes em meio gástrico simulado (pH 1,5).

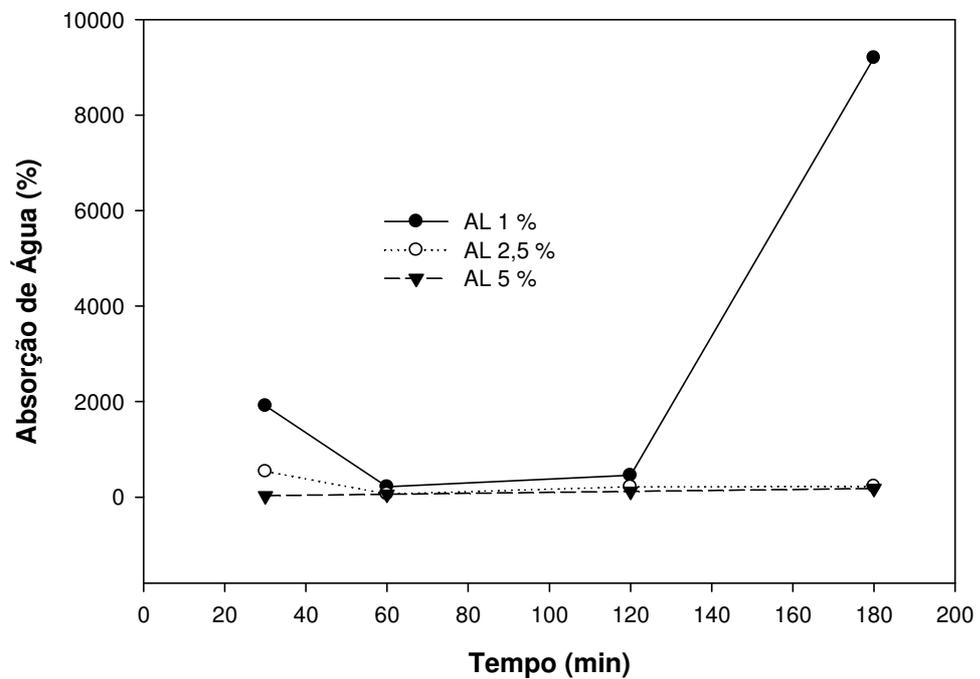


Figura 35 - Perfil de absorção de água das partículas de AL:QS inertes em meio gástrico simulado (pH 1,5).

Segundo Pasparakis e Bouropoulos (2006) e Kim e colaboradores (2008), a redução do diâmetro das partículas preparadas pelo método de complexação de

AL:QS, em condições ácidas, pode estar relacionada com a ligação de AL com cálcio, onde íons cálcio são deslocados da rede de AL e os resíduos de carboxil do AL são protonizados para formar ácido algínico insolúvel em água. E, a interação de AL:QS que sofrem rompimento, decorrente da repulsão eletrostática entre as cargas positivas dos resíduos amino da QS.

Observa-se que o índice de intumescimento é maior no lote AL1%, preparado pelo método formação complexa AL-Ca com posterior complexação com QS. Segundo Kim e colaboradores (2008) e Abreu e colaboradores (2008), quando a QS reveste as partículas de AL-Ca, esta é altamente solúvel em meio gástrico, pois a carga positiva dos grupos amino interage fracamente com a carga negativa dos grupos carboxil do AL. Esse comportamento pode levar a dissolução da camada de revestimento de QS nas partículas de AL-Ca durante a incubação, favorecendo então, a perda de massa das partículas.

Baseado nisso, foi realizado um estudo para verificar se há perda de massa entre o complexo AL:QS em meio gástrico simulado (HCl 0,1 M) durante um período de incubação de 120 min. Experimentalmente, verificou-se uma perda de massa do complexo de aproximadamente $61,18 \pm 1,2 \%$.

As Figuras 36 e 37 apresentam o comportamento de intumescimento das partículas em meio entérico. O aumento de diâmetro observado nas partículas preparadas pelo M2 (lote AL 1%) em meio entérico, pode ser devido, o deslocamento dos íons cálcio pelos íons sódio ou pelo efeito sequestrante do fostafo sobre os íons cálcio, favorecendo a solubilidade de AL de cálcio nesse meio. Enquanto, que nas partículas preparadas pelo M1 (lotes AL 2,5 e 5%), este comportamento pode ser decorrente ao rompimento da reticulação de AL com cálcio ou pelo fato de que, a interação eletrostática entre QS e AL é menor em pH 7,4, devido o pKa de AL (3,38 a 3,65) e o pKa de QS (6,3).

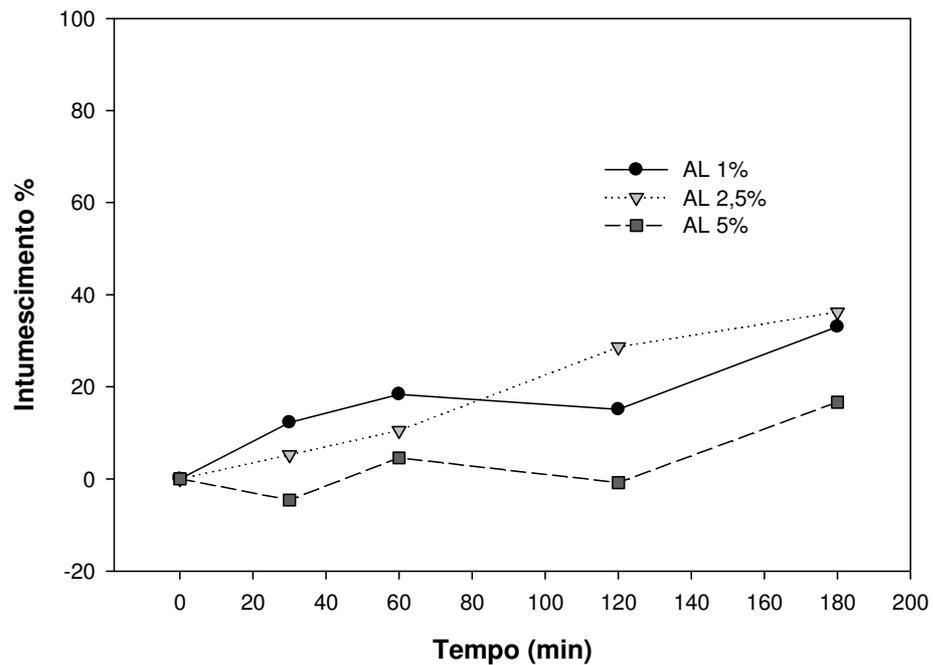


Figura 36 - Perfil de intumescimento das partículas de AL:QS inertes em meio entérico simulado (pH 7,4).

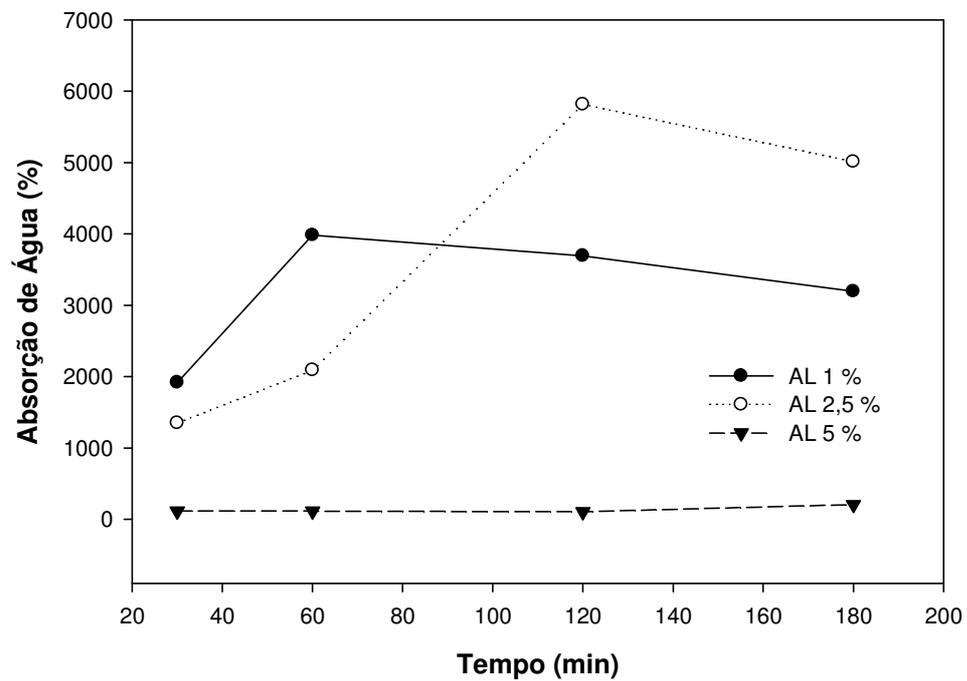
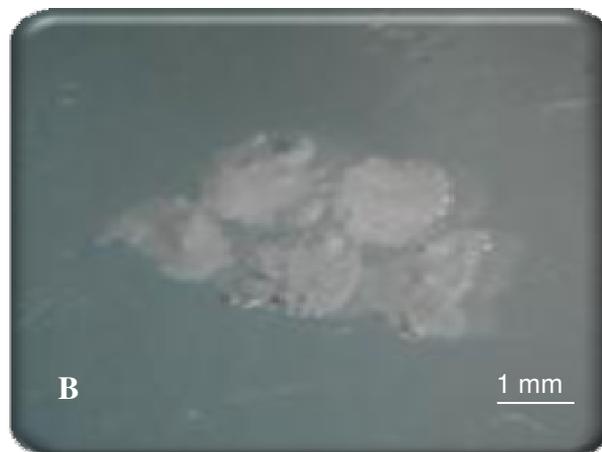
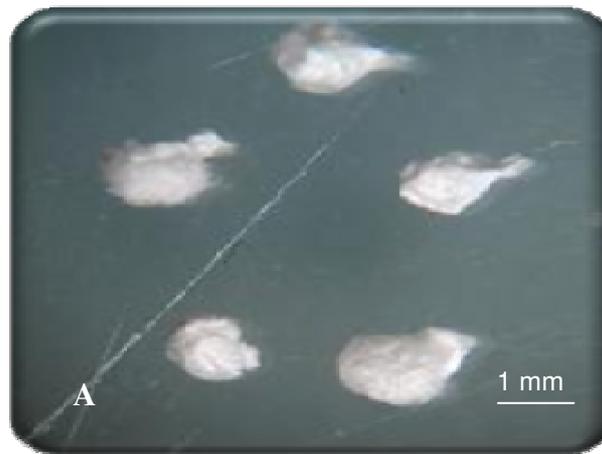


Figura 37 - Perfil de absorção de água das partículas de AL:QS inertes em meio entérico simulado (pH 7,4).

Segundo Kim e colaboradores (2008), as cadeias de AL das partículas preparadas pelo M1 parecem estar fortemente emaranhadas com as cadeias de

QS insolúvel levando a um maior índice de intumescimento das partículas no meio entérico, não ocorrendo à degradação da matriz.

Para melhor visualização do processo de intumescimento descrito acima, as Figuras 38 a 40 apresentam fotomicrografias dos SM sem fármaco e sem revestimento submetidas à análise de intumescimento em meio gástrico e meio entérico simulados nos tempos 0 e 180 minutos.



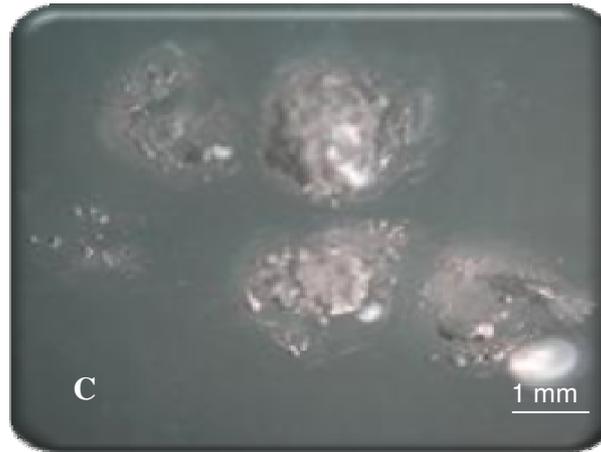
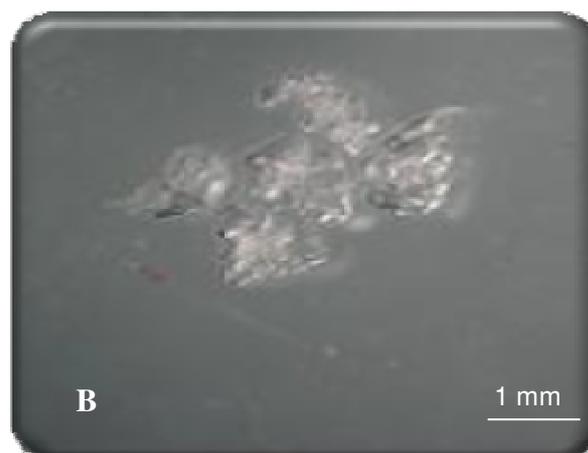
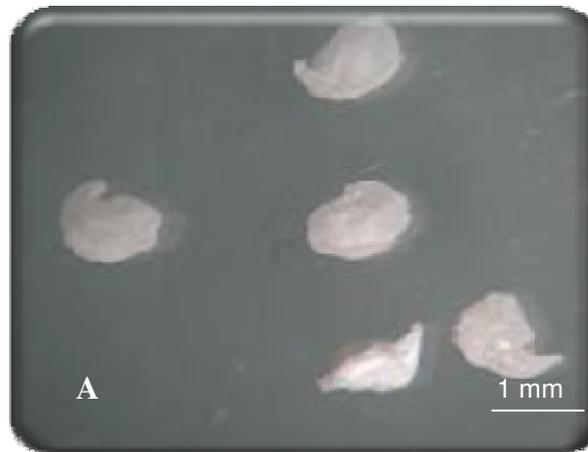


Figura 38 - Fotomicrografias microcápsulas AL:QS inertes (AL1% QS 0,5%) secas (A), meio gástrico (B), meio entérico (C) após 180 minutos de contato com os meios de intumescimento (aumento 10 X).



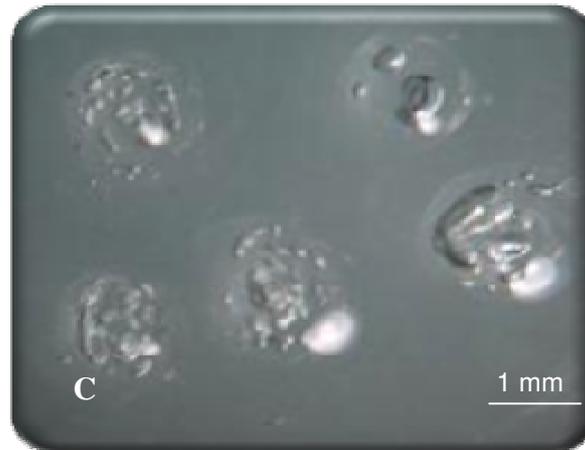
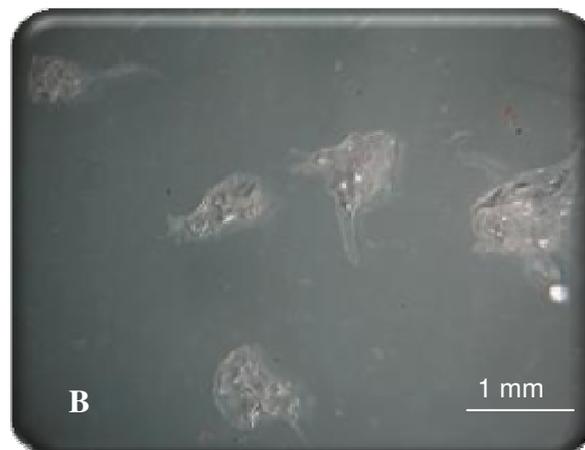
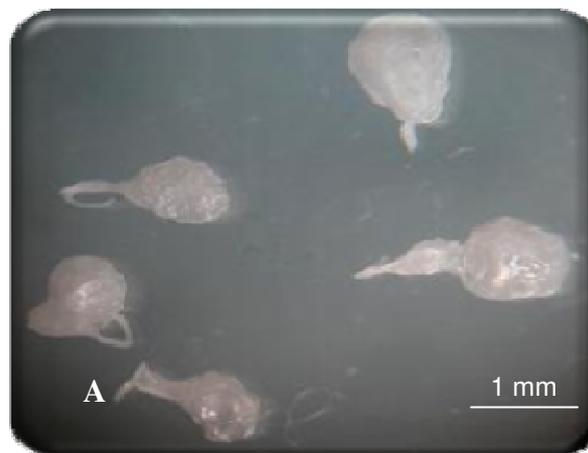


Figura 39 - Fotomicrografias microcápsulas AL:QS inertes (AL2,5% QS1%) secas (A), meio gástrico (B) e meio entérico (C) após 180 minutos de contato com os meios de intumescimento (aumento 10 X).



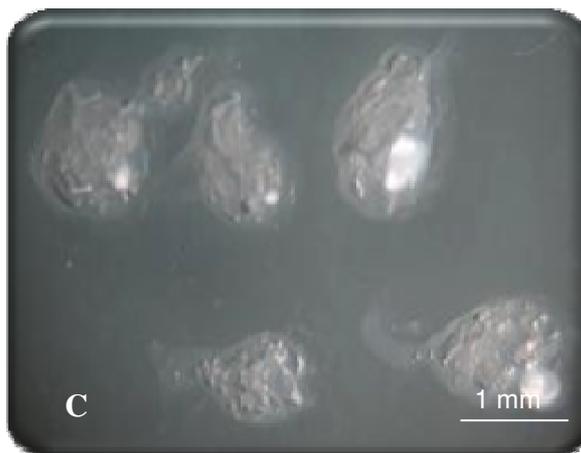


Figura 40 - Fotomicrografias microcápsulas AL:QS inertes (AL5% QS1%) secas (A), meio gástrico (B) e meio entérico (C) após 180 minutos de contato com os meios de intumescimento (aumento 10 X).

5.5 Caracterização dos sistemas multiparticulados contendo TC:

Para a otimização dos SM de AL:QS com TC com e sem revestimento, variou-se a concentração dos polímeros, a concentração de cálcio e o método de preparação. As composições dos lotes preparados estão descritas nos quadros 03 e 04, nos itens 4.2.3.1 e 4.2.3.2, respectivamente.

5.5.1 Determinação do teor e eficiência de encapsulação:

Para determinação do teor de encapsulação das partículas preparadas, foi realizado um estudo do tempo de contato das partículas com a solução extratora, tampão fosfato 0,05 N pH 7,5, para a quantificação do fármaco. O tempo de contato com a solução extratora foi de 2 h, sob agitação.

A Tabela 14 apresenta os valores de teor e eficiência de encapsulação obtidos nos diferentes lotes variando os seguintes parâmetros: concentração de AL e QS, com e sem revestimento, tipo e concentração do polímero de revestimento e a metodologia empregada.

Tabela 14 - Determinação do teor e eficiência de encapsulação da TC nos SM de AL:QS (n=3)

TC* adicionada (mg/mL)	REVESTIMENTOS	LOTES	Rendimento (mg)	TE (%)	EE (%)
5,0	SR	AL 1% M2	90	14,13	6,36
		AL 2,5% M1	900	16,20	97,20
		AL 5% M1	600	3,27	13,08
	IMERSÃO	ACT 1%	177	21,83	25,76
		ACT 5%	299	22,92	45,69
		FHPMC 1%	233	24,90	38,68
		FHPMC 5%	222	27,57	40,80
		FHPMC 7,5% ¹	239,1	15,47	24,66
		EC 1%	227,8	12,80	19,44
		EU 1%	231,5	17,97	27,73
	ASPERSÃO	FHPMC 7,5%	1558	15,14	47,17
		EU 1%	759	10,91	16,60

AL(alginato); SR (sem revestimento); M1 e M2 (métodos de preparação); ACT (acetofalato de celulose); FHPMC (ftalato de hidroxipropilmetilcelulose); EC (etilcelulose); EU (eudragit®)
* concentração na dispersão de AL; ¹ dispersão de AL (1%); ² dispersão de AL (2,5%).

Em geral, as formulações apresentaram uma baixa eficiência de encapsulação, isto pode estar relacionado com a possível perda de TC durante o processo de preparação das partículas. Além disso, o volume disponível na matriz das partículas para incorporar o fármaco pode ter reduzido. Segundo Kim e colaboradores (2008) a redução da matriz pode ser decorrente à interação eletrostática entre AL e QS, pois sistemas preparados pela formação complexa AL-Ca, com simultânea complexação com QS demonstram formar uma estrutura mais densa, dificultando a incorporação do fármaco.

O lote AL 2,5% M1, apresentou alta eficiência de encapsulação, este perfil está, provavelmente, mais relacionado com o alto rendimento do lote.

5.5.2 Características morfológicas:

As partículas sem revestimento contendo o fármaco modelo (TC), tornaram-se visualmente maiores e mais esféricas quando comparadas as partículas revestidas, mantendo suas superfícies rugosas.

Os lotes revestidos por imersão (IM) apresentaram tamanho médio de partícula inferior aos dos lotes não revestidos (Tabela 15). Esta alteração

provavelmente está relacionada com o uso de solventes dessecantes como veículos para os polímeros revestidores. Tais solventes podem promover a secagem prévia dos sistemas e, conseqüentemente, alterar a morfologia e tamanho destes (Figura 41 e 42).

Os lotes revestidos pelo método AS, EU 1 % e FHPMC 7,5%, apresentaram tamanho médio de partícula de 1,37 e 1,50, respectivamente. Enquanto, que os lotes revestidos pelo método IM apresentaram menor tamanho de partícula variando entre 0,76 a 1,03 mm.

Tabela 15 - Distribuição de tamanho das partículas de AL-Ca:QS com fármaco e com revestimento preparadas pelos métodos de aspersão e imersão

LOTE	N¹	LIMITE INFERIOR	LIMITE SUPERIOR	DIÂMETRO MÉDIO	DESVIO PADRÃO
ACT 1% IM	41	0,6	1,4	0,98	0,12
ACT 5% IM	46	0,01	2,7	0,78	0,86
FHPMC 1% IM	63	0,4	2,0	1,03	0,23
FHPMC 5% IM *	76	0,01	2,0	0,76	0,20
FHPMC 5% IM **	77	0,01	1,4	0,85	0,26
FHPMC 7,5% AS	74	0,7	2,1	1,50	0,27
EU 1% AS	71	0,8	2,0	1,37	0,19
EC 1%	62	0,4	1,2	0,86	0,14

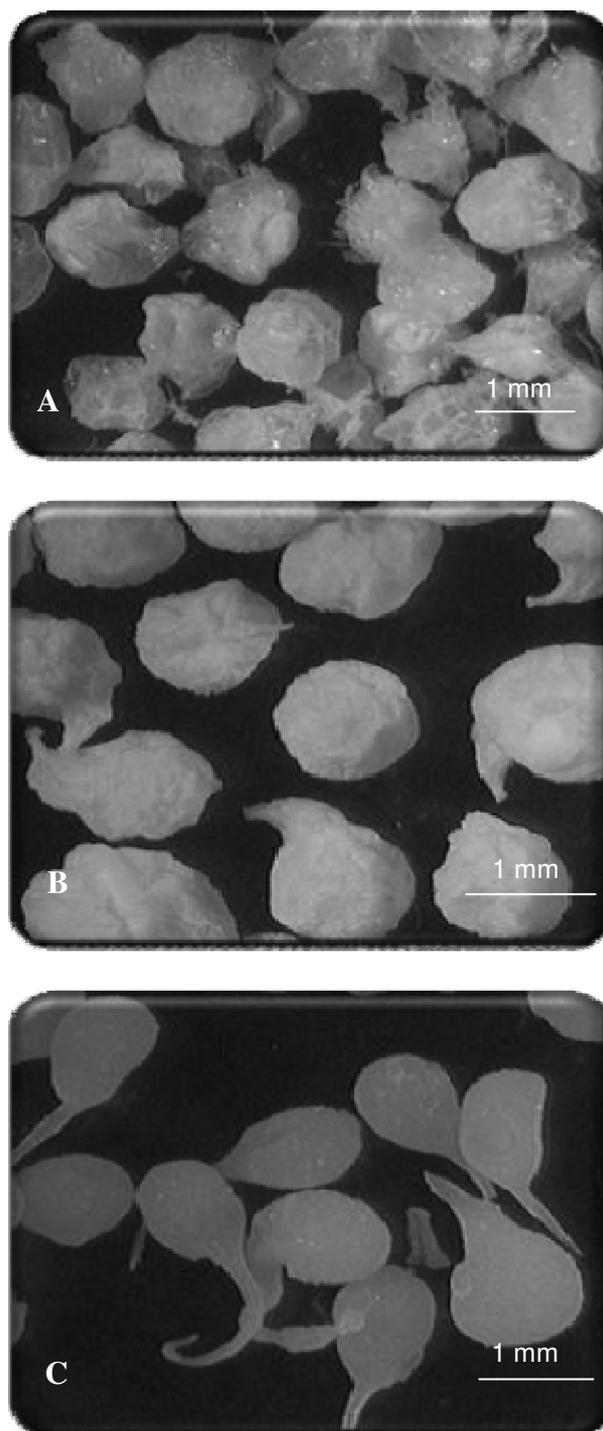


Figura 41 – Fotomicrografias em estereoscópio de SM de AL:QS com TC variando a concentração do polímero AL 1% (A), AL 2,5% (B) e AL 5% (C) (aumento de 0,67x).

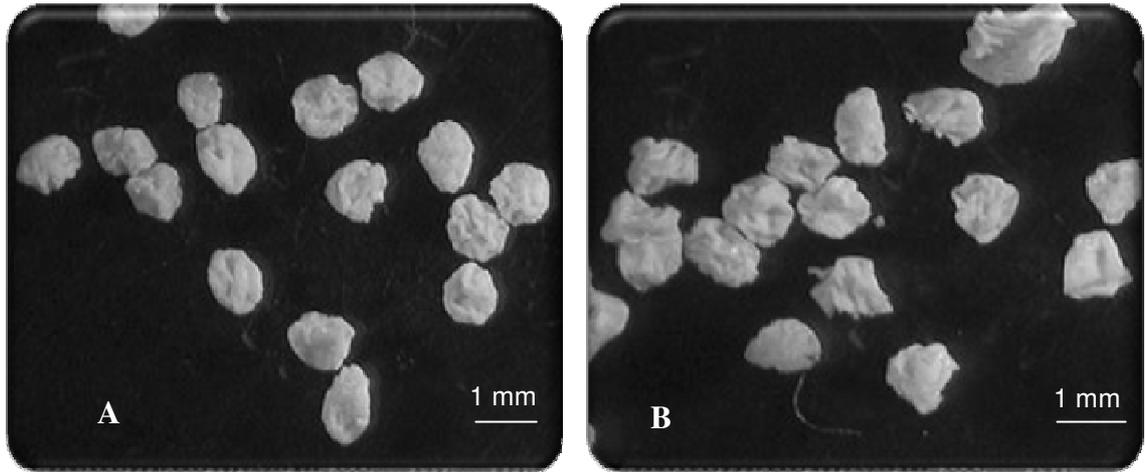


Figura 42 – Fotomicrografias em estereoscópio de SM de AL:QS com TC revestidas com ACT 1% (A) e FHPMC 1% (B) pelo método de imersão (aumento de 0,67x).

O aspecto das partículas com e sem fármaco, respectivamente, podem ser visualizados nas fotomicrografias (Figura 43). A aparência mais densa das partículas com fármaco, provavelmente é devido, a presença do fármaco suspenso na matriz hidrofílica, em função de sua insolubilidade, proporcionando um aspecto mais esbranquiçado, e apresentando relativa esferecidade e superfície levemente rugosa proporcionando melhora na morfologia das partículas.

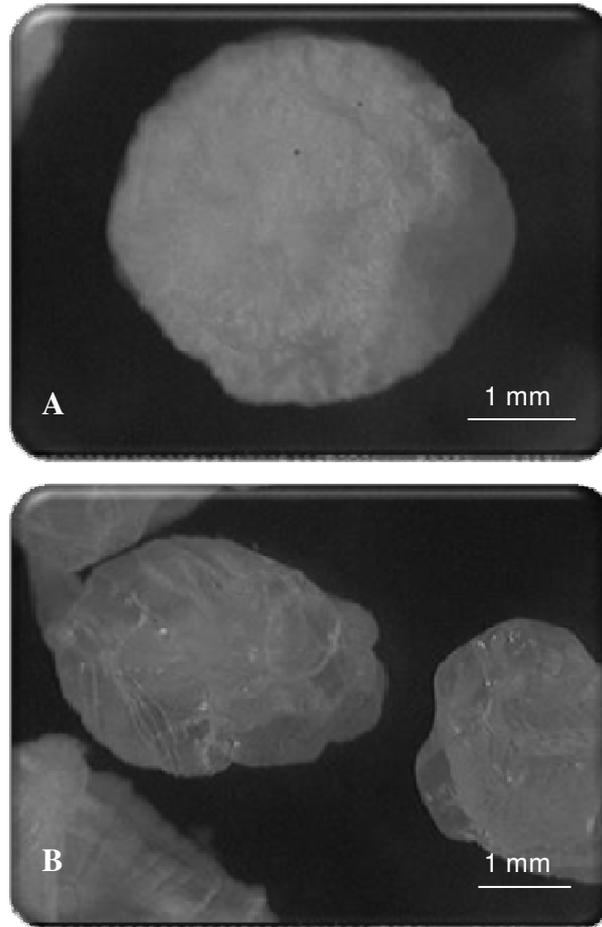


Figura 43 – Fotomicrografias em estereoscópio de SM de AL:QS (AL 2,5%) com TC (A) e sem TC (B) preparados pelo método M1 (aumento de 2 X).

O aspecto morfológico das partículas revestidas pelos métodos de imersão e aspersão pode ser visualizado nas fotomicrografias (Figura 44). Observa-se que o método por imersão apresentou maior homogeneidade de revestimento e aspecto mais esférico, quando comparado com as partículas revestidas pelo método de aspersão. Este comportamento pode estar relacionado, aos processos de congelamento e secagem, nas quais as partículas revestidas por aspersão foram submetidas antes de serem revestidas, resultando em partículas previamente rugosas, dificultando o revestimento homogêneo da matriz.

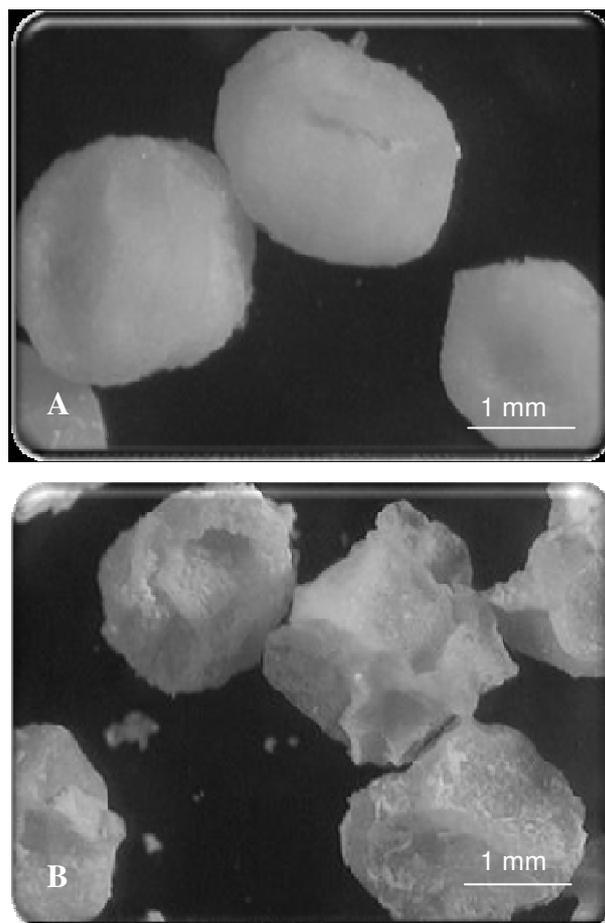


Figura 44 – Fotomicrografias em estereoscópio de SM de AL:QS com TC revestidas com EC 1% (A) e EU 1% (B) pelos métodos de imersão e aspersão, respectivamente aumento de 2 X).

5.5.3 Análise de intumescimento:

A fim de verificar a influência da incorporação do fármaco no perfil de intumescimento dos SM de AL:QS, o intumescimento foi analisado em partículas com e sem revestimento contendo fármaco em meio gástrico e meio entérico simulados pelos métodos de verificação do aumento do diâmetro das partículas e pela absorção de água por gravimetria.

Como mostram as Figuras 45 a 48, as partículas contendo fármaco apresentaram um perfil de intumescimento semelhante ao obtido com as partículas sem fármaco. As partículas intumesceram pouco em meio gástrico simulado, sofrendo uma leve diminuição do tamanho com o passar do tempo de análise. Em meio entérico simulado as partículas apresentaram um maior grau de intumescimento, seguido por erosão a partir do tempo 60 minutos sendo que o índice de intumescimento foi dependente da concentração do polímero. Este

comportamento pode ser observado em ambos os métodos: verificação do diâmetro da partícula e por absorção de água.

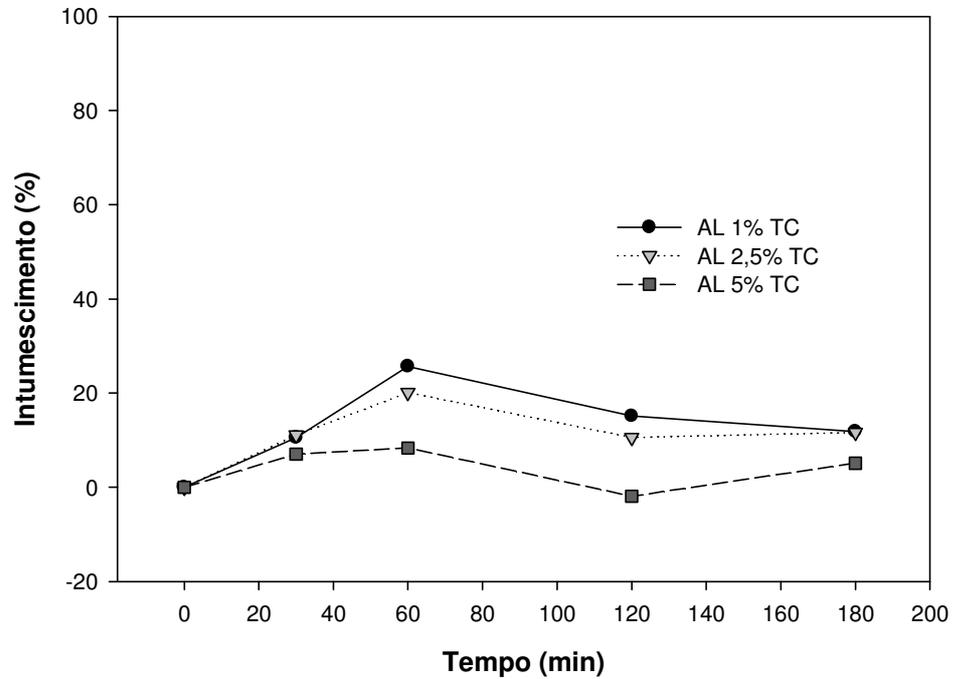


Figura 45 - Perfil do intumescimento dos SMs em função do tempo dos lotes com TC sem revestimento em meio gástrico (pH 1,5) simulado (n=3)

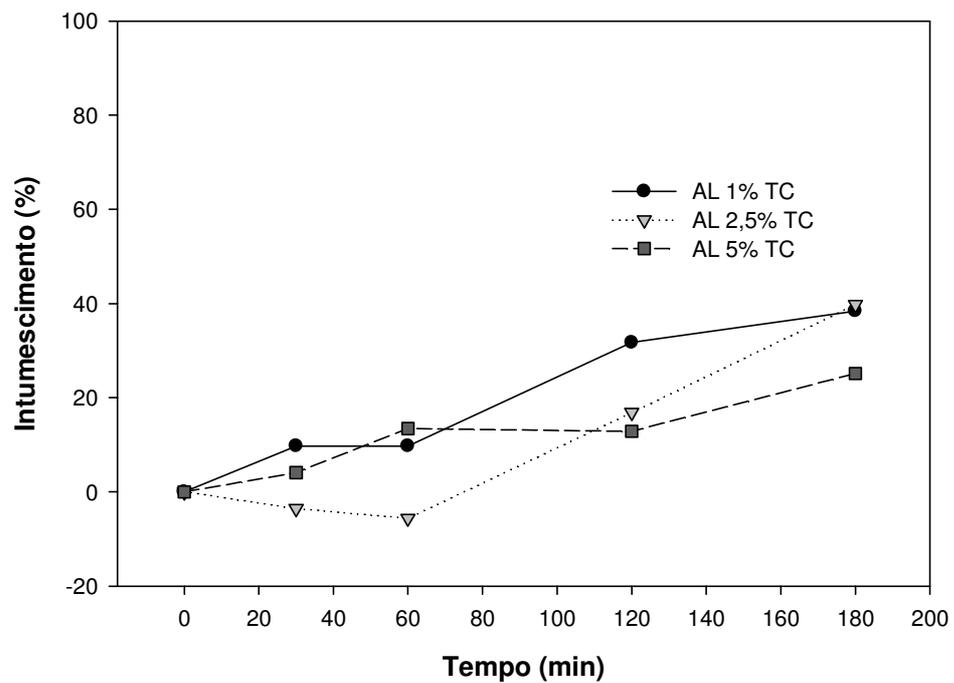


Figura 46 - Perfil do intumescimento dos SMs em função do tempo dos lotes com TC sem revestimento em meio entérico (pH 7,4) simulado (n=3)

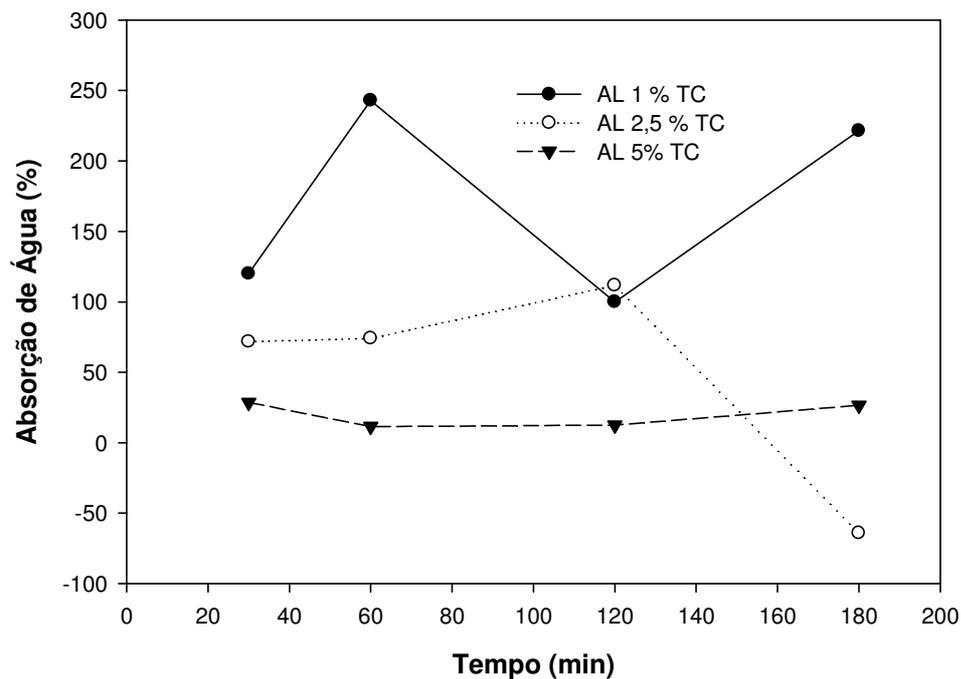


Figura 47 - Perfil de absorção de água dos SMs contendo TC sem revestimento em meio gástrico (pH 1,5) simulado (n=3)

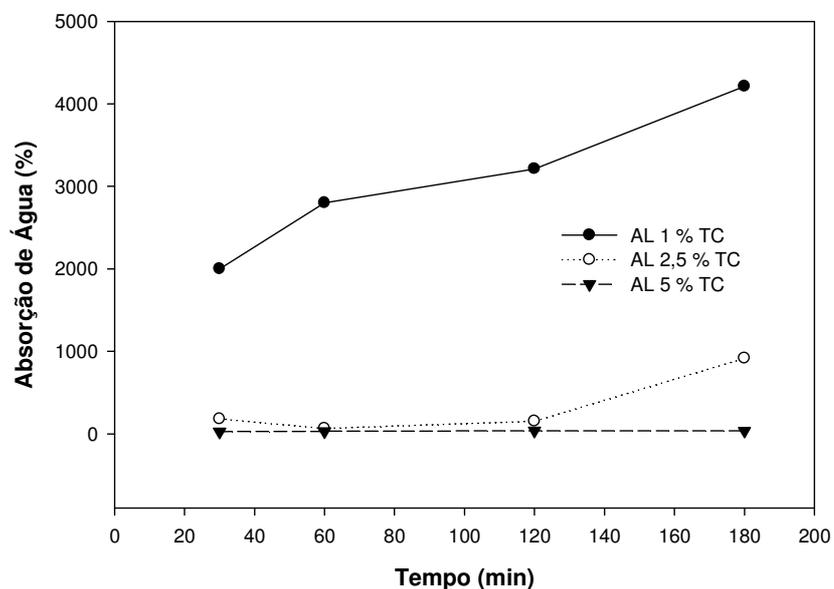


Figura 48 - Perfil de absorção de água dos SMs contendo TC sem revestimento em meio entérico (pH 7,4) simulado (n=3)

As Figuras 49 a 51 apresentam o comportamento de intumescimento das partículas de AL:QS contendo fármaco em meio gástrico e em meio entérico. Através das fotomicrografias, é possível visualizar a diferença do perfil de

intumescimento dependente do meio utilizado e da concentração dos polímeros AL e QS.

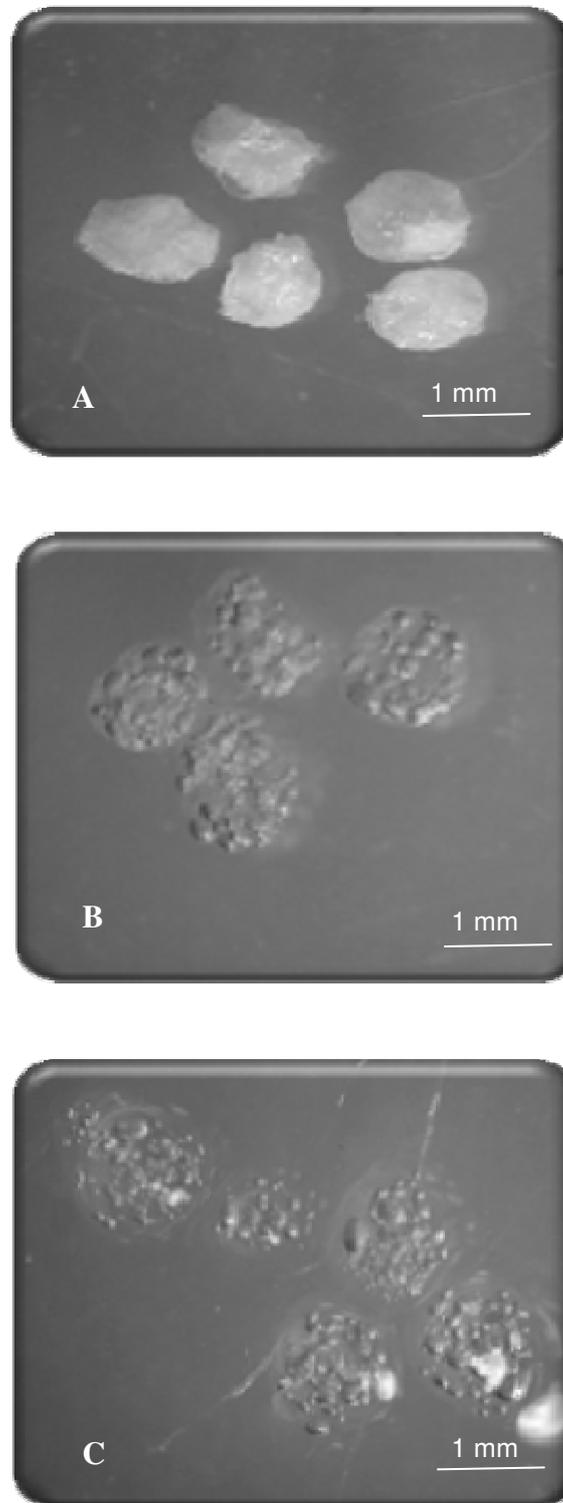


Figura 49 – Fotomicrografias de SM AL:QS com TC (AL1% QS 0,5%) secas (A), meio gástrico (B), meio entérico (C) após 180 minutos de contato com os meios de intumescimento

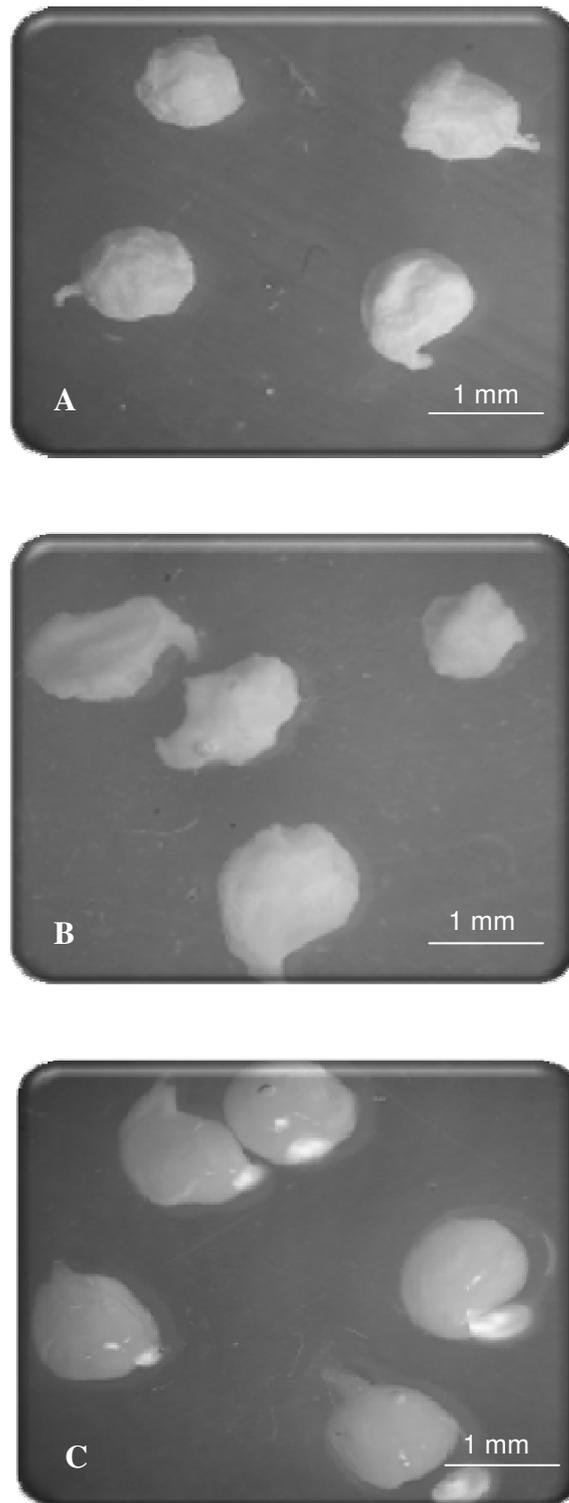


Figura 50 – Fotomicrografias de SM AL:QS com TC (AL2,5% QS 1,0%) secas (A), meio gástrico (B), meio entérico (C) após 180 minutos de contato com os meios de intumescimento

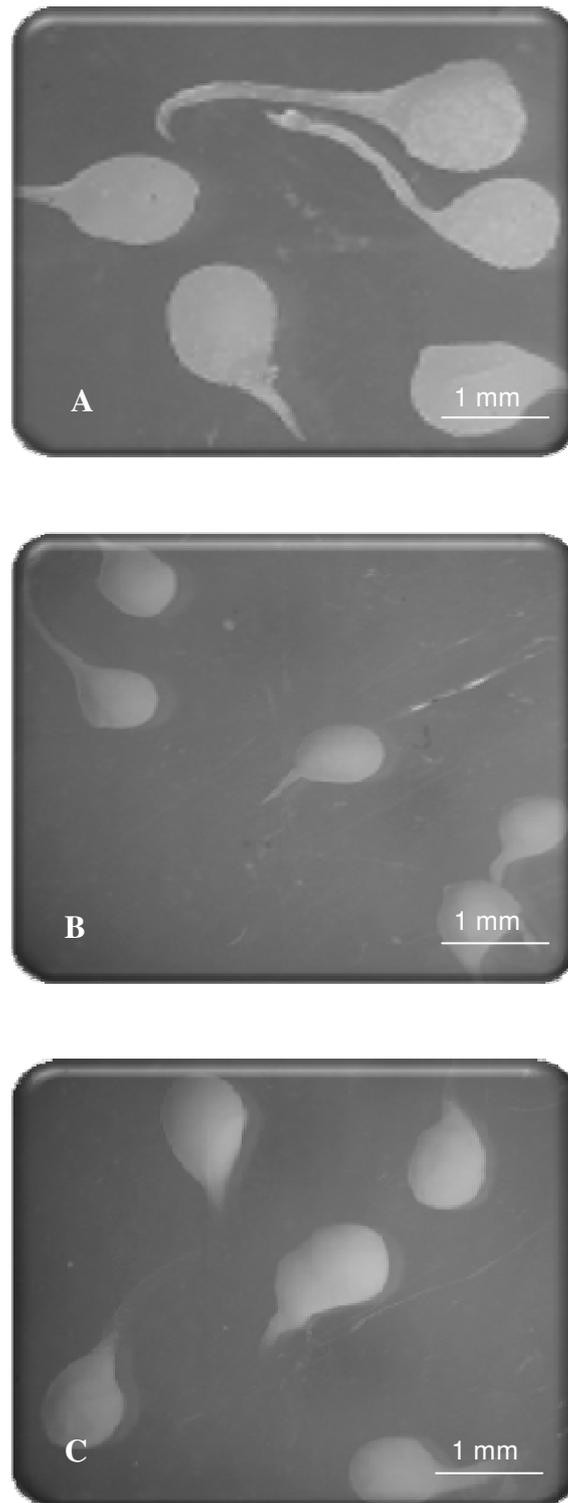


Figura 51 – Fotomicrografias de SM AL:QS com TC (AL5% QS 1,0%) secas (A), meio gástrico (B), meio entérico (C) após 180 minutos de contato com os meios de intumescimento

Correlacionando com os resultados obtidos do perfil de intumescimento das partículas sem revestimento, os sistemas revestidos apresentaram maior índice de intumescimento. As Figuras apresentam o comportamento de intumescimento dos SMs de AL:QS revestidos com FHPMC e EU pelos métodos de imersão (IM) e

aspersão (AS) contendo fármaco em meio gástrico e em meio entérico (Figuras 52 a 54).

Observou-se que de forma geral, as partículas revestidas pelo método de IM apresentaram um menor índice de intumescimento, quando comparadas com os lotes preparados pelo método de AS, isto provavelmente pode estar relacionado a homogeneidade do revestimento, devido as condições do processo de preparação pelo método de AS que incluem velocidade de fluxo de aspersão (2 mL/ min), tempo entre a aspersão e a secagem das partículas (média de 10 a 15 min) e a velocidade de rotação da cuba (± 60 rpm).

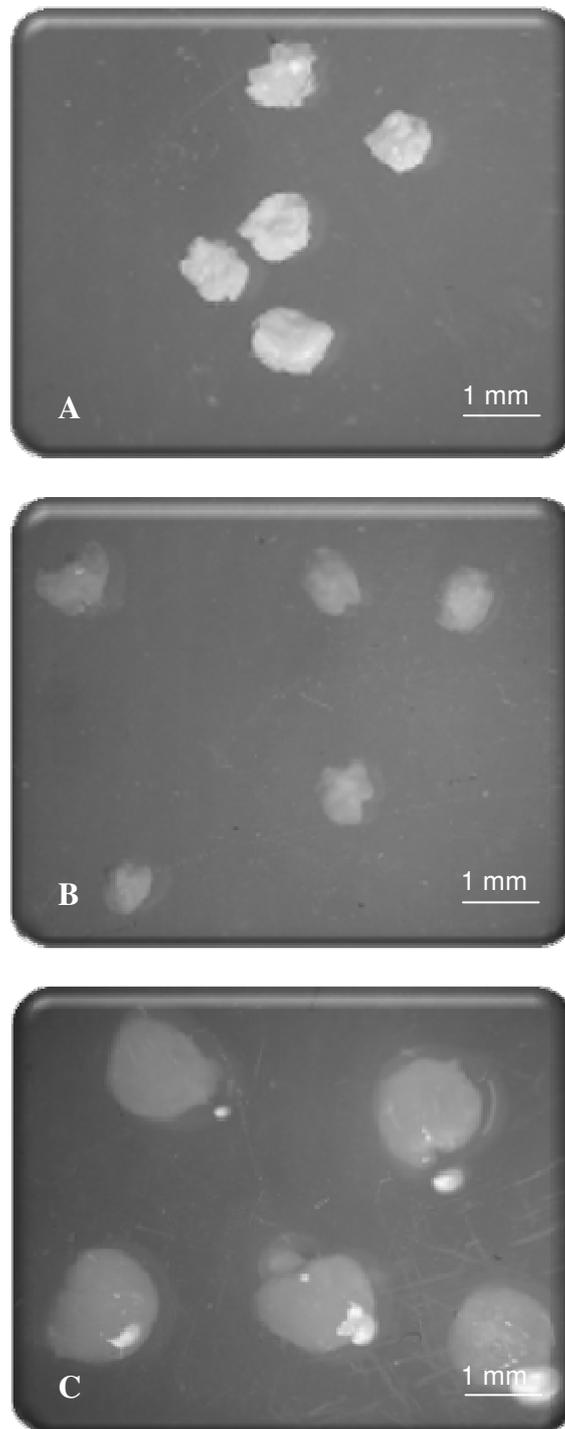


Figura 52 – Fotomicrografias de SM AL:QS com TC revestidas com FHPMC 5% pelo método de imersão secas (A), meio gástrico (B), meio entérico (C) após 180 minutos de contato com meios de intumescimento

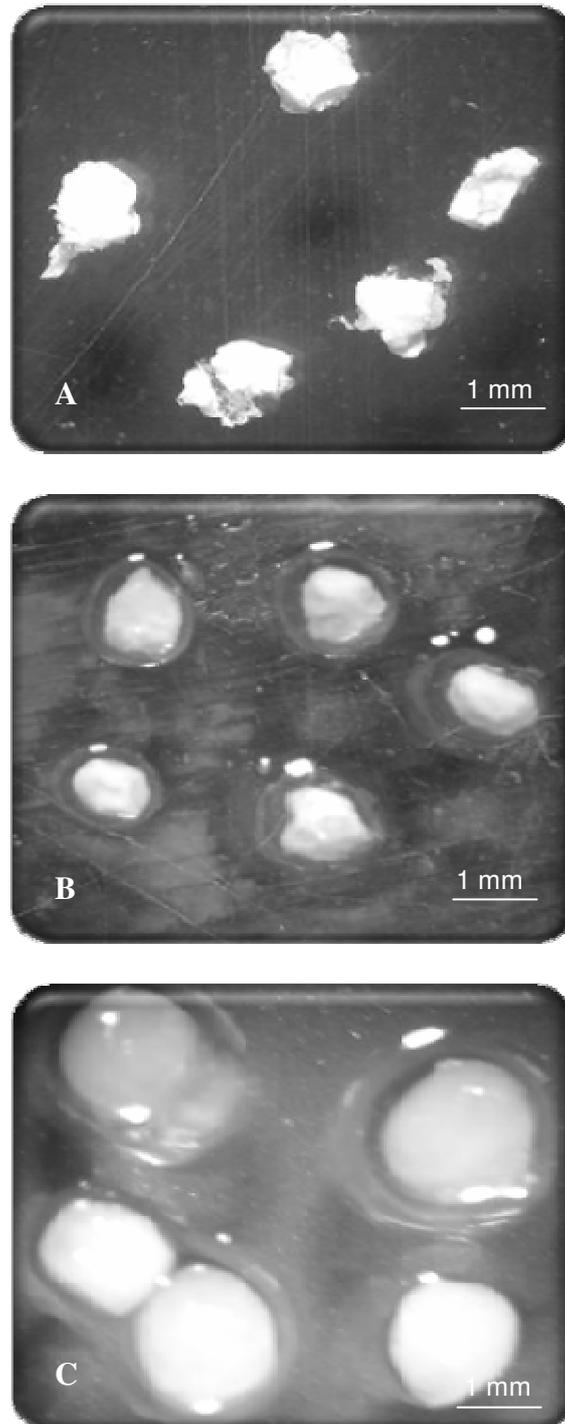


Figura 53 – Fotomicrografias de SM AL:QS com TC revestidas com FHPMC 7,5% pelo método de aspersão secas (A), meio gástrico (B), meio entérico (C) após 180 minutos de contato com os meios de intumescimento

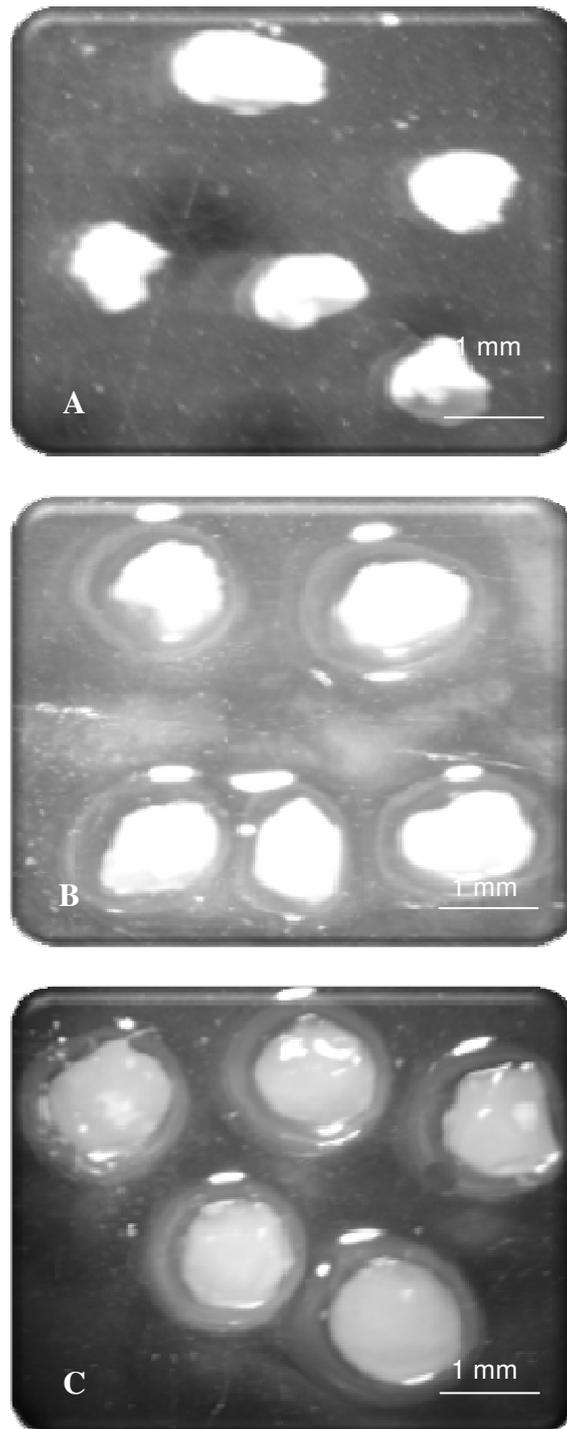


Figura 54 – Fotomicrografias de SM AL:QS com TC revestidas com EU 1% pelo método de aspersão secas (A), meio gástrico (B), meio entérico (C) após 180 minutos de contato com os meios de intumescimento

Os sistemas revestidos pelo método imersão (figuras 55 e 56) apresentaram menor índice de intumescimento em meio gástrico. Foi observado que os lotes FHPMC 5% e ACT 5% nos primeiros 30 minutos de ensaio apresentaram índice de intumescimento de aproximadamente 10 e 25%, respectivamente. Em meio entérico simulado, o índice de intumescimento foi

maior, sendo que o lote FHPMC 1% apresentou nos primeiros 30 minutos de ensaio aproximadamente 75% de intumescimento e o ACT 1 % apresentou 40 %.

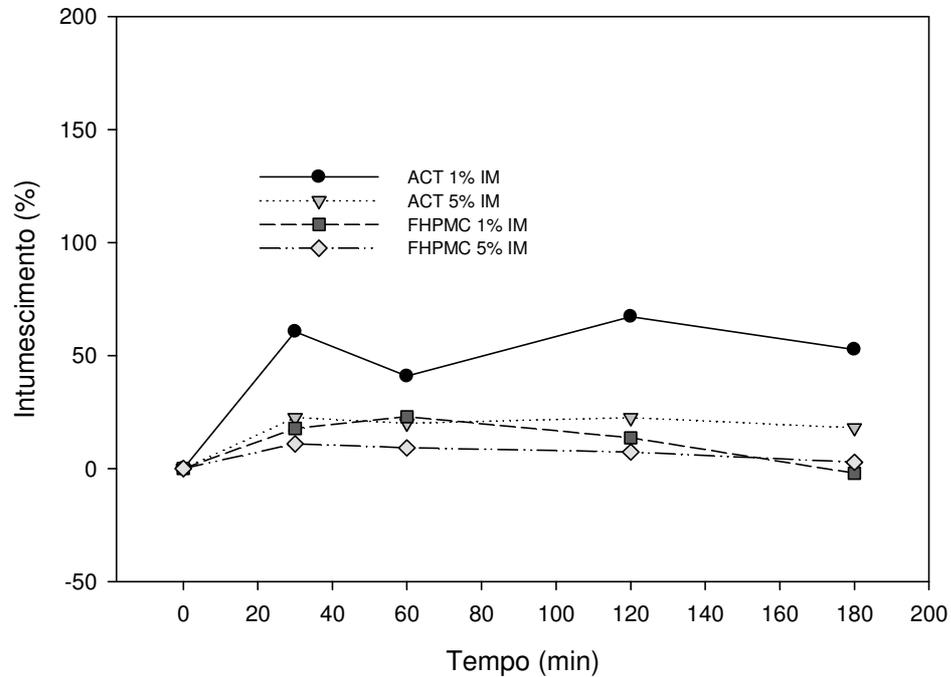


Figura 55 - Perfil do intumescimento em meio gástrico (pH 1,5) simulado (n=3) dos SMs, contendo TC com revestimento

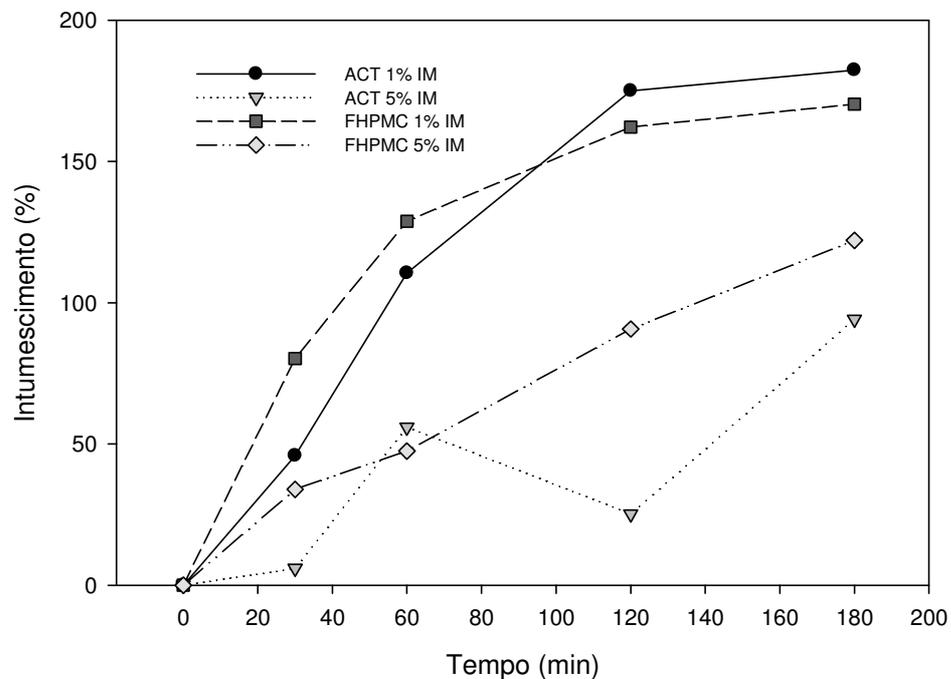


Figura 56 - Perfil de intumescimento em meio entérico (pH 7,4) simulado (n=3) dos SM, contendo TC com revestimento

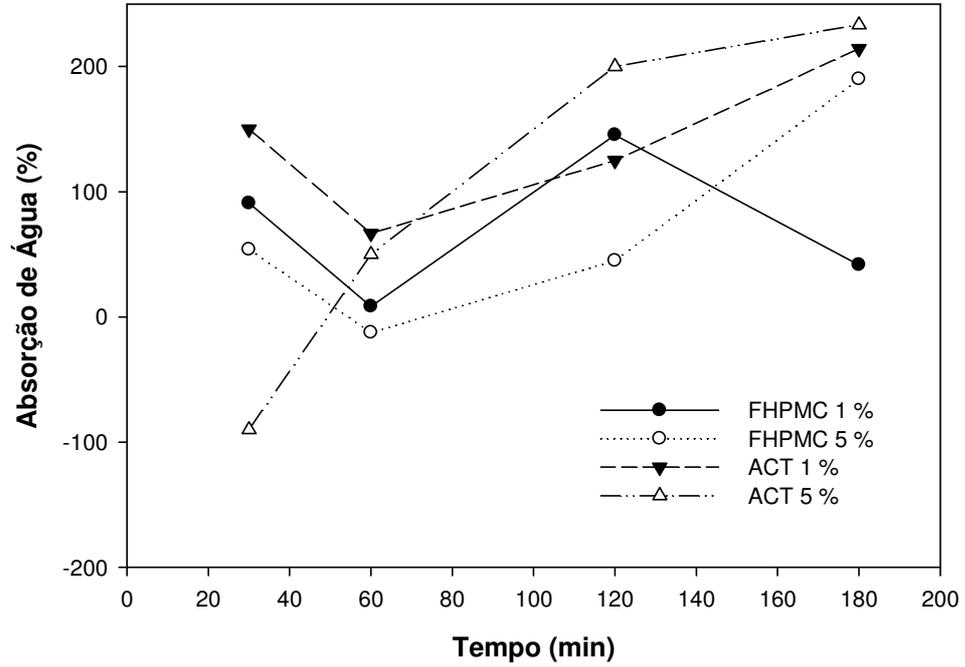


Figura 57 - Perfil de absorção de água dos lotes contendo TC com revestimento em meio ácido simulado (n=3)

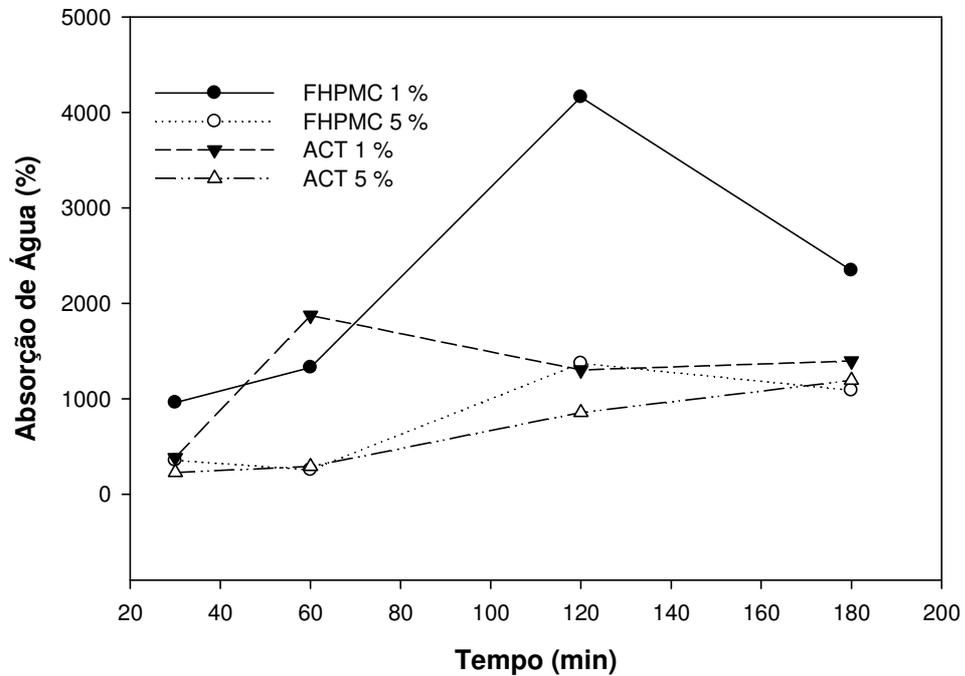


Figura 58 - Perfil de absorção de água dos lotes contendo TC com revestimento em meio entérico (pH 7,4) simulado (n=3)

De forma geral, os lotes revestidos com FHPMC apresentaram perfil de intumescimento e absorção de água menor em meios gástrico e entérico simulados, comparados com os lotes revestidos com ACT, sendo o comportamento de intumescimento dependente da concentração do polímero empregado.

5.5.4 Ensaio de liberação *in vitro*:

5.5.4.1 ENSAIO DE LIBERAÇÃO DO FÁRMACO EM MEIOS GÁSTRICO E ENTÉRICO

SIMULADOS:

A fim de avaliar o comportamento no trânsito gastrointestinal, as partículas de AL:QS foram submetidas ao ensaio de liberação em diferentes meios simulando o pH do TGI. Inicialmente as partículas foram submetidas ao meio gástrico simulado por 2 horas.

A Figura 59 apresenta o perfil de liberação das partículas de AL:QS em diferentes concentrações sem revestimento, contendo fármaco. Observa-se que em meio gástrico, nos lotes com maior concentração polimérica a liberação do fármaco foi menor.

Nas primeiras 2 horas de ensaio, os lotes de AL 5 % e AL 2,5 % liberaram aproximadamente cerca de 10 % do fármaco, enquanto que o lote com AL 1% apresentou um perfil de liberação do fármaco de aproximadamente 19 %.

Este comportamento pode estar relacionado com a ionização dos polieletrólitos AL e QS. Em pH ácido a QS encontra-se protonada com os grupamentos amino na forma de —NH_3^+ e o polieletrólito aniônico, AL, encontram-se com os grupos carboxílico não ionizados na forma de —COOH e tendem a precipitar no meio. Este comportamento pode levar ao fechamento da estrutura e, com isso, a um maior controle da liberação do fármaco em meio ácido. A limitação da ionização do AL em meio ácido, podendo levar a sua insolubilidade, provavelmente influenciou o comportamento do perfil de liberação destes sistemas.

De forma esperada, correlacionando com os resultados obtidos no ensaio de intumescimento, o lote com maior concentração polimérica praticamente não intumescceu nas primeiras 2 horas de ensaio em meio gástrico simulado. Ao

contrário, os lotes com menor concentração polimérica AL 1 % e AL 2,5 % apresentaram um índice de intumescimento de 18 e 10 %, respectivamente.

O perfil de liberação das partículas de AL:QS em meio entérico simulado apresentou o fármaco sendo liberado mais rapidamente que em meio gástrico simulado, provavelmente porque o complexo AL:QS é dependente do pH, apresentando taxa de intumescimento bem maior em meio entérico.

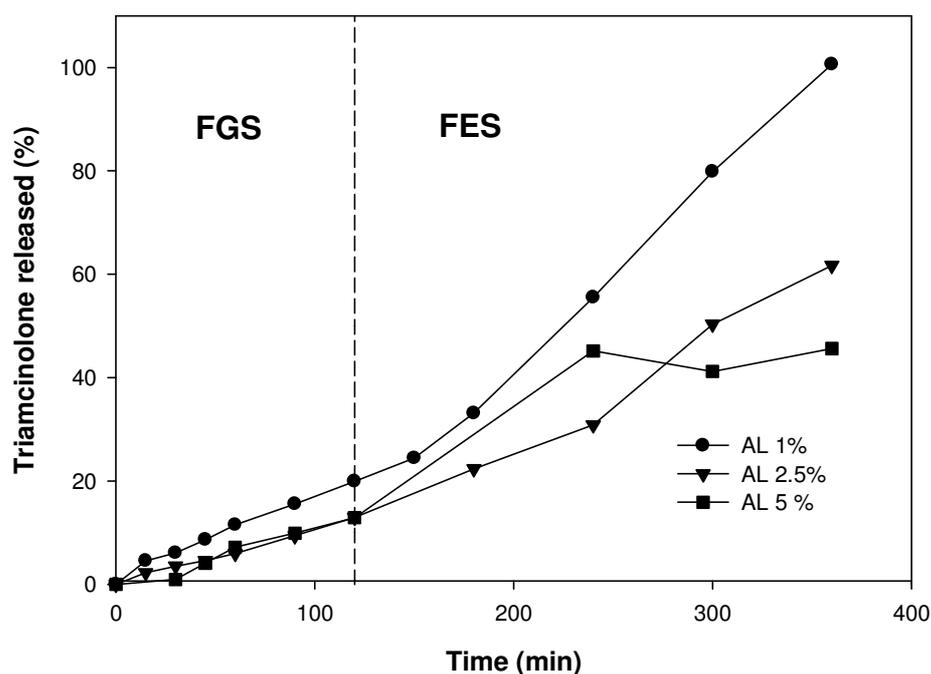


Figura 59 - Perfil de liberação da TC incorporada em SM de AL:QS, com diferentes concentrações de AL e QS sem revestimento, em meio gástrico e entérico simulados. FGS: fluido gástrico simulado; FES: fluido entérico simulado.

A fim de diminuir a liberação do fármaco das partículas em meios gástrico e entérico simulados, as partículas foram revestidas com polímeros gastro-resistentes (ACT, FHPMC e EU) e polímero insolúvel em água (EC). O emprego de polímeros de revestimentos para liberação controlada de fármacos no cólon vem sendo muito utilizado (LOPES; LOBO; COSTA, 2005). Os polímeros de revestimento possuem grupos carboxil, os quais são insolúveis em água na sua forma protonada (meio ácido) e se solubilizam na faixa de pH fracamente ácida a neutra, entre 5,0 a 7,0, através da formação de sais (THOMA; BECHTOLD, 1992).

De maneira geral, as partículas dos lotes revestidos apresentaram menor taxa de liberação nas primeiras horas de ensaio. Além de reduzir a liberação em meio gástrico, o revestimento retarda a liberação em meio entérico, pois é

necessário a dissolução e/ou intumescimento do polímero para que ocorra a liberação do fármaco.

A Figura 60 apresenta o perfil de liberação dos sistemas revestidos com FHPMC em diferentes concentrações, preparados pelos métodos de IM e AS. É visível que o lote controle, sem revestimento, a liberação do fármaco foi maior, quando comparado com os lotes revestidos. O lote revestido com FHPMC 7,5% preparado pelo método de IM apresentou menor taxa de liberação do fármaco, tanto em meio gástrico como entérico, apresentando, nos primeiros 180 min de ensaio, retenção total do fármaco no sistema, isto provavelmente deve-se ao fato de que a liberação mais lenta do fármaco é dependente da concentração do polímero e do método de revestimento. Aumentando a concentração polimérica, aumenta a espessura do revestimento e conseqüentemente aumenta o tempo para dissolução e liberação do fármaco.

Correlacionando com os resultados obtidos no ensaio de intumescimento, Figuras 49, 50 e 51 item 5.5.3, os lotes revestidos pelo método de IM apresentaram menor índice de intumescimento, quando comparados com os lotes obtidos por AS, devido a homogeneidade do revestimento, logo a difusão do fármaco desses sistemas tende a ser menor.

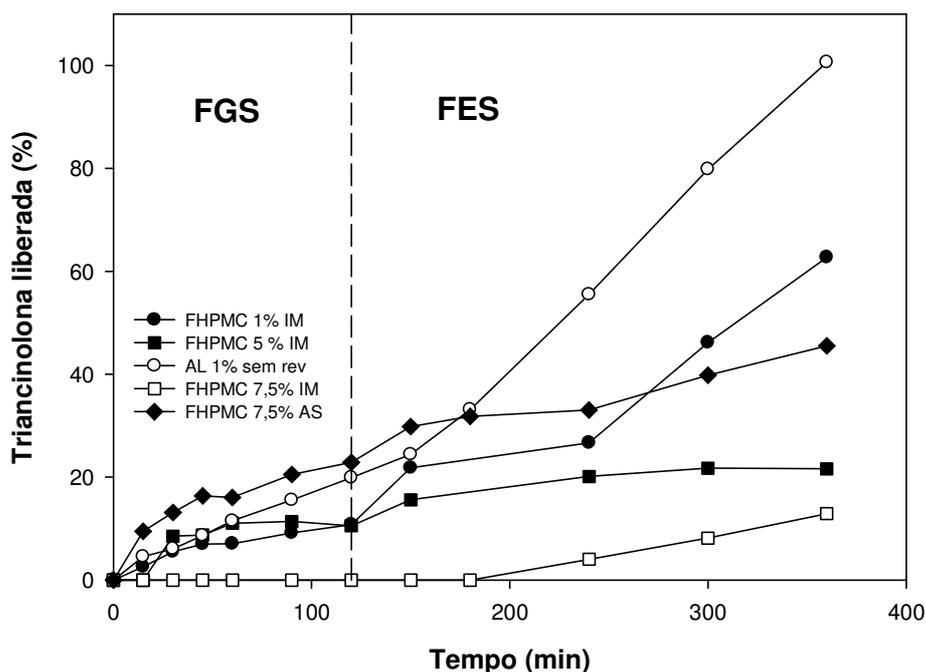


Figura 60 - Perfil de liberação da TC incorporada em partículas de AL:QS, revestidas com FHPMC em diferentes concentrações, preparadas pelos métodos de aspersão (AS) e imersão (IM), comparando com o lote AL 1% sem revestimento em meio gástrico e entérico simulados. FGS: fluido gástrico simulado; FES: fluido entérico simulado.

De acordo com o gráfico (Figura 61), observa-se que o lote revestido com ACT apresentou menor taxa de liberação do fármaco, quando comparado com o lote controle, não dependente da concentração do polímero, pois o ACT com menor concentração apresentou um maior controle na liberação do fármaco. Porém, esse resultado não corresponde com os resultados obtidos no ensaio de intumescimento, no qual o ACT com menor concentração obteve um maior índice de intumescimento

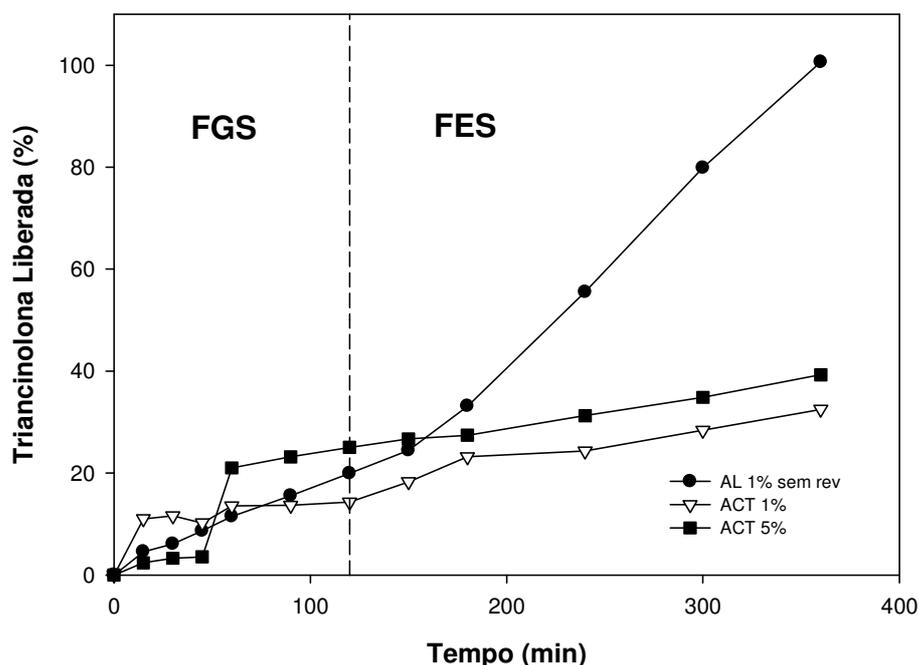


Figura 61 - Perfil de liberação da TC incorporada em SM de AL:QS, revestidos com ACT em diferentes concentrações pelos métodos imersão e aspersão, comparando com o lote AL 1% sem revestimento em meio gástrico e entérico simulados. FGS: fluido gástrico simulado; FES: fluido entérico simulado.

Comparando a taxa de liberação dos sistemas revestidos com FHPMC e ACT, observou-se que as partículas revestidas por FHPMC apresentaram um maior controle na liberação do fármaco. Este comportamento pode estar relacionado com a funcionalidade específica do FHPMC, na aplicação farmacêutica, que é controlar a liberação de fármacos. Além disso, segundo Meehan (2006) e Rowe; Sheskey e Qwen (2007) o que determina a resistência do filme de revestimento do polímero FHPMC é a sua MM, ou seja, quanto maior a MM maior é a resistência do filme, conseqüentemente o controle na liberação do fármaco desses sistemas é maior. Os valores de MM do polímero FHPMC segundo Rowe; Sheskey e Qwen (2007) podem variar de 78000-132000. A MM do polímero FHPMC utilizado nesse trabalho foi de 84000.

Além disso, assim como a HPMC, o polímero FHPMC diferente do ACT possui a capacidade de após o processo de hidratação do sistema, intumescer e formar uma camada gelatinosa na superfície das partículas, funcionando como uma barreira a liberação do fármaco, controlando a penetração de água e a velocidade de liberação do fármaco. A velocidade de penetração de água no sistema matricial condiciona o modo de liberação do fármaco. Em concentrações

muito elevadas, como é o caso das partículas revestidas com FHPMC 7,5 %, as cadeias lineares do polímero formam um emaranhado, originando uma camada gelatinosa bastante consistente (LOPES; LOBO; COSTA, 2005).

O perfil de liberação das partículas revestidas com EU, comparando os métodos de revestimento IM e AS, (Figura 62) mostra que as partículas de EU preparadas por AS, ao contrário dos demais lotes preparados por este método, apresentaram um maior controle na taxa de liberação do fármaco. Neste caso, o tempo de revestimento e a quantidade de aspensão polimérica sob as partículas podem ter influenciado o resultado. Assim como os demais lotes, as partículas revestidas obtiveram um maior controle na taxa de liberação do fármaco, quando comparado com o lote controle.

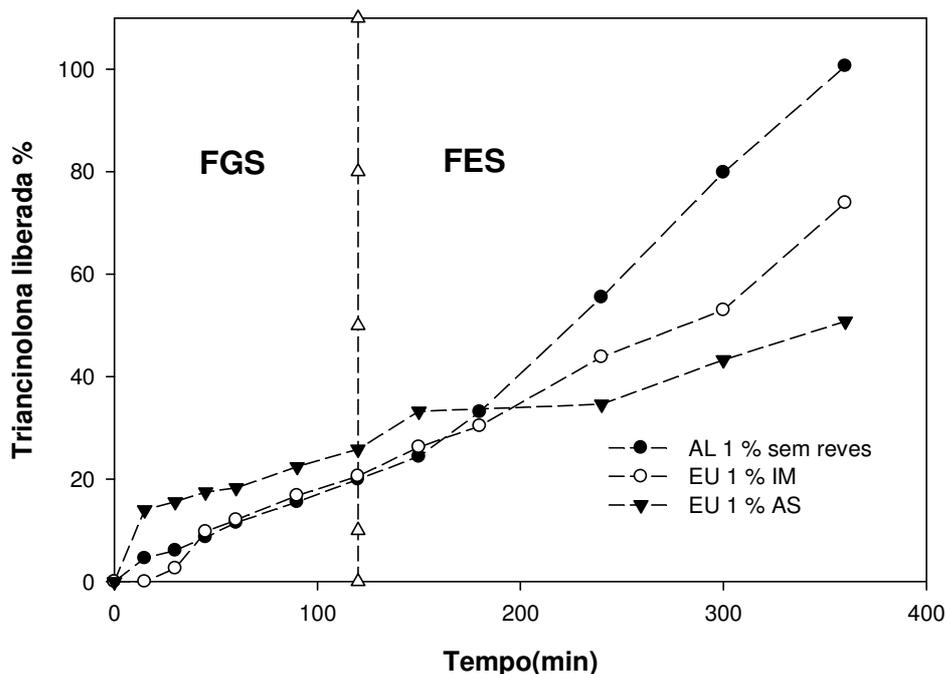


Figura 62 - Perfil de liberação da TC incorporada em SM de AL:QS, revestidos com EU pelos métodos imersão e aspensão, comparando com o lote AL 1% sem revestimento em meio gástrico e entérico simulados. FGS: fluido gástrico simulado; FES: fluido entérico simulado.

A figura 63 apresenta o perfil de liberação dos lotes revestidos com EC. Pode-se observar que as partículas apresentaram nos primeiros 45 minutos um período de latência. Este comportamento provavelmente está relacionado com as características específicas do polímero de revestimento, pois a EC é constituída de uma matriz insolúvel e inerte. A dissolução do fármaco dessas matrizes ocorre após a penetração do líquido de dissolução nos poros do sistema matricial, seguindo-se a etapa de difusão lenta do fármaco dissolvido através de canais presentes na membrana polimérica. O que confere a velocidade de liberação do fármaco a partir desse sistema é a penetração do líquido de dissolução na matriz e difusão subsequente (LOPES; LOBO; COSTA, 2005).

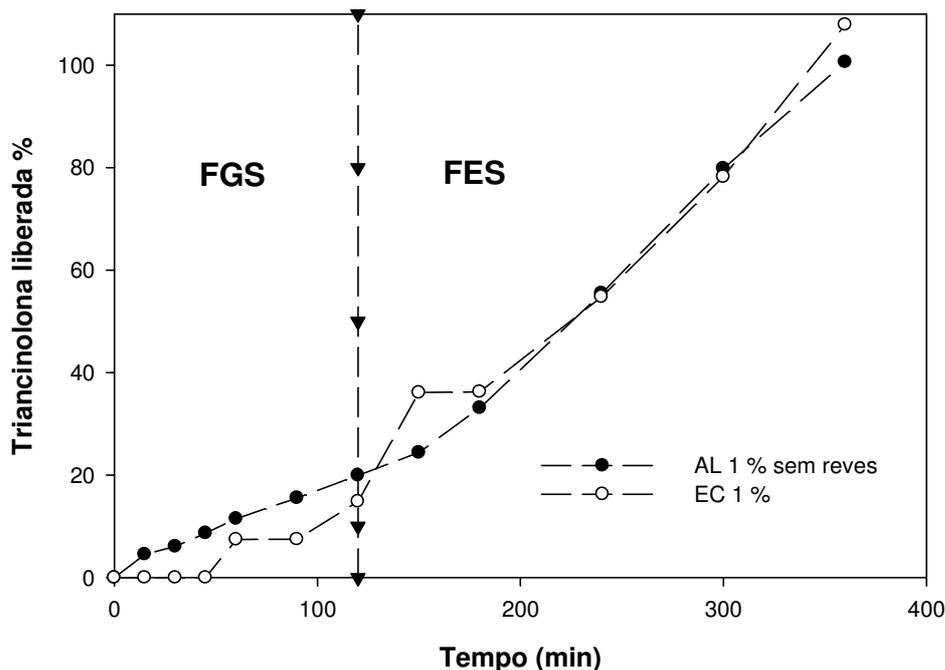


Figura 63 - Perfil de liberação da TC incorporada em SM de AL:QS, revestidos com EC pelo método imersão, comparando com o lote AL 1% sem revestimento em meio gástrico e entérico simulados. FGS: fluido gástrico simulado; FES: fluido entérico simulado.

5.5.4.2 ENSAIO DE LIBERAÇÃO DO FÁRMACO EM MEIO COLÔNICO SIMULADO:

O teste de dissolução utilizado para analisar o perfil de liberação de TC em meio colônico, subsequente ao ensaio de liberação em meios gástrico e entérico simulados, foi realizado pelo método de suspensões de fezes humanas. Segundo Yang (2008), inicialmente existem quatro meios utilizados para avaliar sistemas de liberação cólon específico *in vitro*, que incluem meio entérico simulado convencional (tampão fosfato 0,01 M), conteúdo fecal de ratos, conteúdo fecal humano e sistemas de culturas multi-fases. Fluidos com conteúdo fecal de animais, principalmente ratos, vem sendo muito utilizado para investigar a fermentação de polissacarídeos.

O ensaio consistiu em preparar uma suspensão de conteúdo fecal a 5 % em solução tampão 0,01 N em pH 6,8 em meio anaeróbio. As amostras utilizadas para tal ensaio foram os SM que obtiveram os melhores resultados nos ensaios de liberação em meios gástrico e entérico, FHPMC 7,5 % e EU 1%.

Devido a composição complexa do fluido colônico simulado, a triancinolona foi quantificada por CLAE usando como fase móvel solução tampão 0,01 N contendo 5% de conteúdo fecal pH 6,8. A Figura 64 apresenta a curva analítica do

fármaco quantificado por CLAE. O método apresentou linearidade na faixa de 10 a 100 µg/mL.

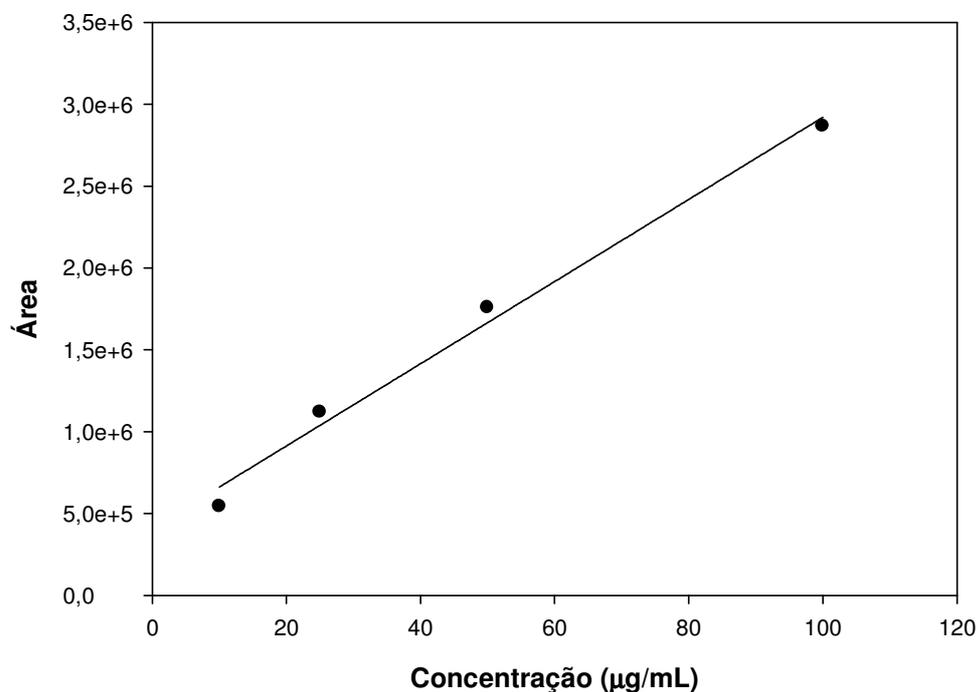


Figura 64 – Curva analítica de TC, em meio colônico pH 6,8, por CLAE. Fase móvel: Tampão acetato de sódio pH 4,8; tempo de retenção: 5,1 min; coluna de fase reversa C₁₈; fluxo de 1mL/min e temperatura de 35 °C.

Equação da reta: $Y = 25096x + 41080$

$$r^2 = 0,989$$

As figuras 65 e 66 apresentam os cromatogramas do meio colônico sem fármaco e da solução de TC em meio colônico. Com as condições usadas na quantificação por CLAE, foi obtida a separação do fármaco de outras substâncias presentes na amostra.

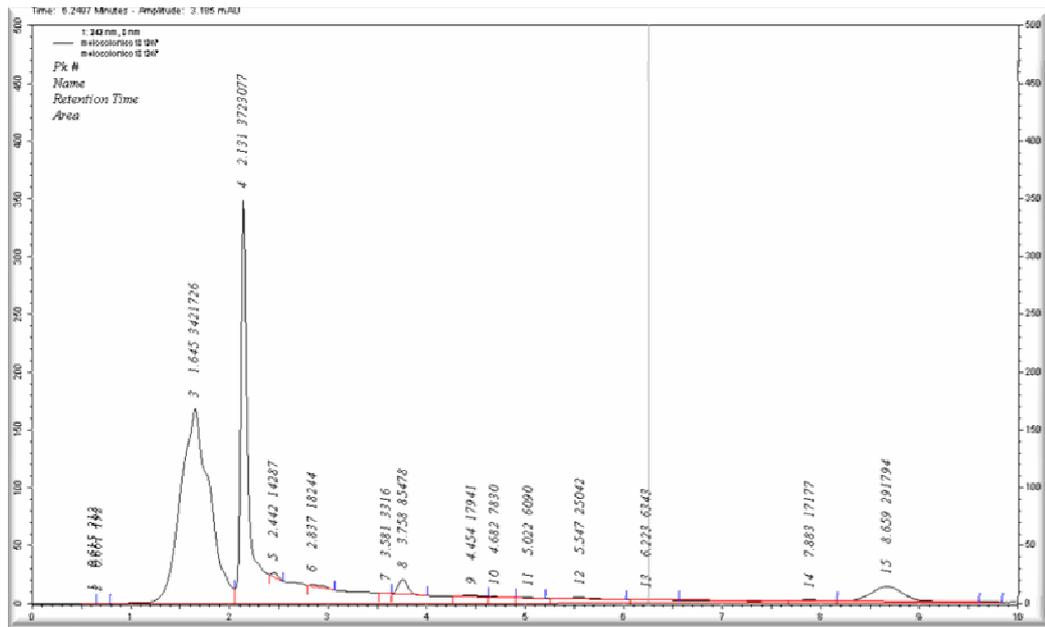


Figura 65 – Cromatograma do meio colônico simulado sem fármaco em CLAE. Fase móvel: Tampão acetato de sódio pH 4,8; tempo de retenção: 5,1 min; coluna de fase reversa C₁₈; fluxo de 1mL/min e temperatura de 35 °C.

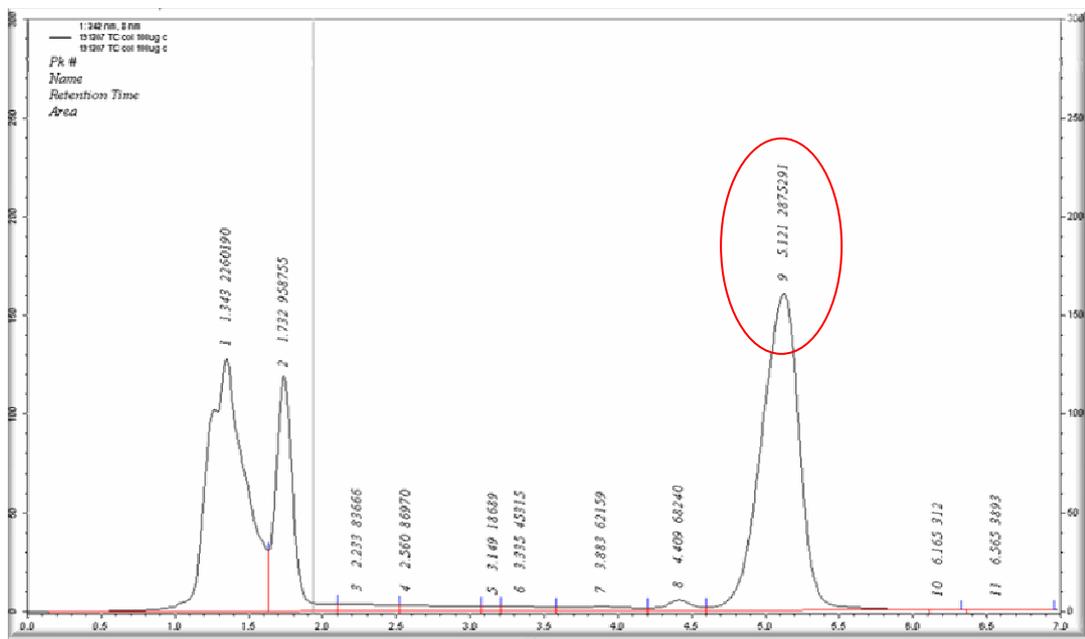


Figura 66 – Cromatograma do meio colônico simulado contendo TC 100 ug/mL de TC em CLAE. Fase móvel: Tampão acetato de sódio pH 4,8; tempo de retenção: 5,1 min; coluna de fase reversa C₁₈; fluxo de 1mL/min e temperatura de 35 °C.

A Figura 67 apresenta a liberação do fármaco dos sistemas no fluido colônico simulado, após a liberação nos meios ácidos e entéricos simulados. Os SM revestidos com FHPMC por imersão liberaram, aproximadamente cerca de 38% após 24 h em meio colônico simulado. Este comportamento provavelmente está relacionado com a dissolução do revestimento, intumescimento e degradação dos sistemas. As partículas revestidas com o mesmo polímero pelo método de aspersão liberaram aproximadamente 76 % do fármaco ao final do ensaio.

Os sistemas revestidos com Eudragit apresentaram maior proporção de fármaco liberado ao final do ensaio. Foi observada liberação de maior quantidade de fármaco das partículas revestidas por imersão do que as revestidas por aspersão.

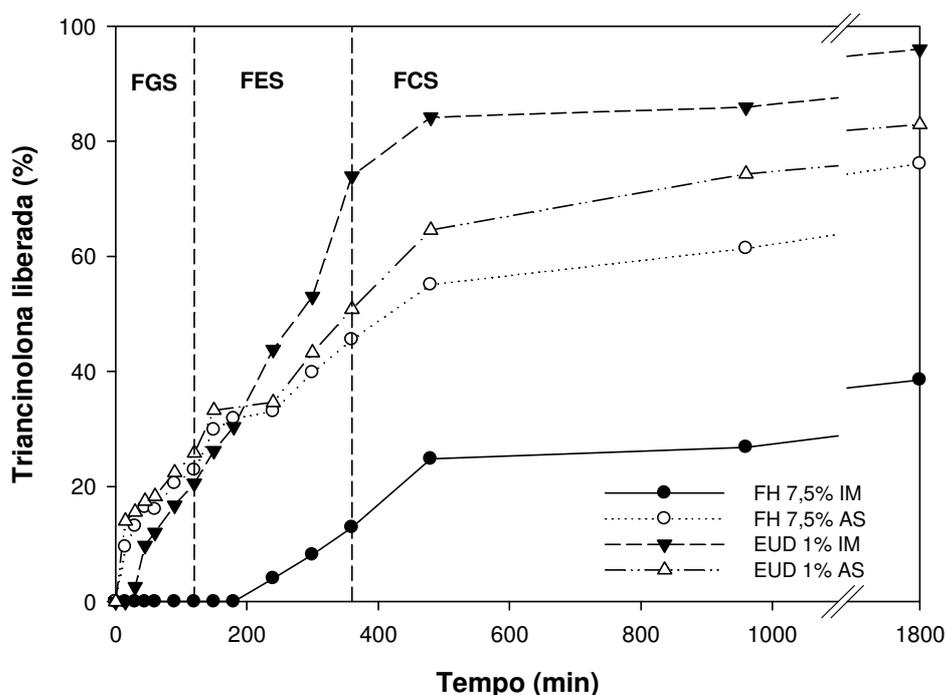


Figura 67 – Perfil de liberação da triancinolona dos SM de AL:QS, revestidos com diferentes polímeros, nos fluidos gástrico (FGS), entérico (FES) e colônico simulados (FCS).

A liberação em meio colônico ocorreu em uma velocidade menor do que as observadas nos meios gástricos e entéricos simulados. O perfil de liberação em meio colônico seguiu a cinética de ordem zero com constantes de $1,08 \cdot 10^{-2}$, $1,61 \cdot 10^{-2}$, $9,3 \cdot 10^{-3}$ e $1,35 \cdot 10^{-2}$ para os SM FHPMC IM, FHPMC AS, EU IM e EU AS, respectivamente. Embora, somente as partículas de EU IM tenham liberado praticamente todo o fármaco, os demais lotes também apresentaram uma baixa

constante de liberação, sendo o lote de FHPMC IM o que apresentou menor constante e menor quantidade de fármaco liberado após 30 h de análise.

Levando-se em consideração a velocidade de liberação da triancinolona e o tempo de residência da forma farmacêutica no cólon, a formulação FHPMC preparada pelo método de IM apresentou ser a forma farmacêutica mais promissora para o desenvolvimento de sistemas de liberação colônica. Uma vez que, a formulação FHPMC IM foi a que apresentou menor perfil de liberação do fármaco, nos meios gástrico e entérico simulados, sendo que nas primeiras 3 horas de ensaio observou-se retenção total do fármaco. Quanto ao tempo de residência no cólon, sabe-se que varia de 48 a 72 horas, neste caso o teste de dissolução do fármaco em meio colônico simulado foi de 24 horas, justificando o menor perfil de liberação da triancinolona observado nas formulações, inclusive na formulação FHPMC IM.

5.5.4.3 CINÉTICA PARA ANÁLISE DA LIBERAÇÃO IN VITRO:

A etapa de liberação do fármaco a partir de sistemas de matrizes hidrofílicas resulta da interação complexa entre a dissolução, intumescimento, a difusão e os mecanismos de erosão (LOPES; SOUZA; COSTA, 2005). A liberação do fármaco a partir de sistemas de liberação imediata e modificada tem sido descrita por várias teorias/modelos cinéticos, sendo f_t uma função de t (tempo) relacionada com a quantidade de fármaco liberado a partir do sistema terapêutico considerado. Existem vários modelos para representar os perfis de liberação dos fármacos, que incluem cinética de ordem zero, cinética de 1^a ordem, modelo de Higuchi, de Hixon Crowell, de Korsmeyer-Peppas, de Baker-Lonsdale, entre outros (COSTA, 2002).

Para a escolha do modelo adequado para estudar o fenômeno de dissolução/liberação de fármaco, o método mais empregado é o coeficiente de correlação (R), sendo que modelos em que o coeficiente de correlação corresponde a $R < 0,99$, o ajuste é considerado deficiente (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002).

O Quadro 08 apresenta os diferentes modelos aplicados no estudo da cinética de liberação da TC dos sistemas multiparticulados. O modelo Korsmeyer-Peppas parece ser o modelo mais adequado para representar os perfis de

liberação da TC dos SM, pois os coeficientes de correlação foram os mais próximos de 1.

Quadro 08- Aplicação dos diferentes modelos matemáticos nos SM para a análise da cinética de liberação da TC, aplicando o coeficiente de correlação (R).

LOTES	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO (R)					
	Korsmeyer-Peppas	Baker-Lonsdale	Hixon Crowell	Higuchi	Cinética Ordem Zero	Cinética 1ª Ordem
AL 1%	0,9959	0,8002	0,9334	0,8358	0,898	0,9123
AL 2,5%	0,9964	0,8320	0,9609	0,8501	0,9044	0,9518
AL 5%	0,9675	0,8608	0,9667	0,8755	0,9137	0,9642
ACT 1%	0,9694	0,9680	0,8314	0,9689	0,9544	0,8461
ACT 5%	0,9458	0,9357	0,8203	0,9987	0,9617	0,8897
FHPMC 1%	0,9849	0,8304	0,9634	0,8492	0,8843	0,9540
FHPMC 5%	0,9643	0,9988	0,8127	0,9641	0,9622	0,8573
FHPMC 7,5% IM	0,9905	0,6478	0,8208	0,6502	0,7252	0,8189
FHPMC 7,5% AS	0,9935	0,9968	0,8233	0,9982	0,9859	0,9189
EU 1% IM	0,9947	0,8022	0,9779	0,9462	0,9492	0,9691
EU 1% AS	0,9852	0,9830	0,8693	0,9849	0,9710	0,8906
EC 1%	0,9937	0,7626	0,7884	0,9499	0,9033	0,9372

O modelo de Korsmeyer-Peppas é utilizado para analisar a liberação de formas farmacêuticas poliméricas, quando o mecanismo de liberação não é bem conhecido ou quando possam estar envolvidos mais de um tipo de mecanismo de liberação (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002) aparentemente independentes: um devido ao transporte do fármaco (transporte Fickiano) e outro relacionado aos fenômenos de intumescimento e relaxamento da matriz (LOPES; SOUZA; COSTA, 2005).

Para os modelos derivados da equação Korsmeyer-Peppas (Quadro 03, item 3.4) é o valor de n que caracteriza o mecanismo de liberação do fármaco, dependendo da forma geométrica da partícula (Quadro 05, item 3.4) (LOPES; SOUZA; COSTA, 2005).

Baseado nisso, a Tabela 16 apresenta os valores de n obtidos dos sistemas.

Tabela 16 - Valores de n obtidos com aplicação dos dados do perfil de liberação do fármaco dos SM no modelo matemático de Korsmeyer-Peppas.

Lotes	Valores de n	Mecanismo de transporte
AL 1% SR	1,4569	Super Transporte Caso - II
AL 2,5% SR	1,4248	Super Transporte Caso - II
AL 5% SR	1,0371	Super Transporte Caso - II
FHPMC 1% IM	1,3886	Super Transporte Caso - II
FHPMC 5% IM	0,5153	Transporte Anômalo
FHPMC 7,5% IM	3,3037	Super Transporte Caso - II
FHPMC 7,5% AS	0,5164	Transporte Anômalo
ACT 1%	0,4764	Difusão Clássica
ACT 5%	0,5920	Transporte Anômalo
EC 1%	1,5971	Super Transporte Caso - II
EU 1% IM	1,1224	Super Transporte Caso - II
EU 1% AS	0,4848	Difusão Clássica

Segundo os valores do expoente de liberação (n) o mecanismo de transporte da TC pelos SM pode ser caracterizado por difusão clássica, transporte anômalo e super transporte caso II, sendo que o mecanismo que predominou foi o super transporte caso II, que é caracterizado por uma aceleração na penetração do solvente nos sistemas. A velocidade de difusão do solvente na matriz é muito maior do que o intumescimento sendo o fator determinante da liberação do fármaco pelos sistemas.

6 CONCLUSÕES

Os métodos de preparação empregados para a obtenção das partículas de AL:QS, com e sem revestimento, resultaram em partículas esféricas, com aspecto levemente achatado e com deformações do tipo cauda em alguns lotes. As partículas sem revestimento contendo o fármaco modelo (TC), tornaram-se visualmente maiores e mais esféricas quando comparadas as partículas revestidas, mantendo suas superfícies rugosas.

O emprego de nitrogênio líquido, no processo de congelamento e secagem das partículas com e sem revestimento, influenciou diretamente na morfologia das partículas, tornando as partículas mais esféricas.

Os diferentes métodos de revestimento influenciaram a homogeneidade e a rugosidade das partículas. O método por imersão apresentou maior homogeneidade de revestimento e aspecto mais esférico.

Em relação a granulometria, o aumento da concentração da dispersão polimérica levou ao aumento do tamanho médio das partículas sem fármaco, sendo que a incorporação do fármaco na forma suspensa na matriz polimérica levou a redução do tamanho médio dos SMs. Os lotes revestidos por imersão (IM) apresentaram tamanho médio de partícula inferior aos lotes revestidos por aspersão (AS) e aos lotes não revestidos.

Quanto à análise de intumescimento das partículas sem revestimento, o grau de intumescimento foi dependente do meio utilizado e da concentração dos polímeros AL e QS, apresentando um menor grau de intumescimento em meio gástrico simulado do que em meio entérico simulado.

Os sistemas revestidos apresentaram maior índice de intumescimento em relação às partículas não revestidas. As partículas revestidas pelo método de IM apresentaram um menor grau de intumescimento, quando comparadas com os lotes preparados pelo método de AS.

Na determinação do teor e eficiência de encapsulação, em geral, as formulações apresentaram uma baixa eficiência de encapsulação, com exceção do lote AL 2,5% preparado pelo M1, formação do complexo de AL:Ca:QS, simultaneamente, que apresentou eficiência de encapsulação de 97,20%.

Os estudos de liberação *in vitro*, em meio gástrico e entérico simulado, demonstraram que o perfil de liberação das partículas de AL:QS sem revestimento

foi dependente da concentração polimérica. O perfil de liberação das partículas de AL:QS em meio entérico simulado apresentou o fármaco sendo liberado mais rapidamente que em meio gástrico simulado.

As partículas com revestimento apresentaram menor taxa de liberação nas primeiras horas de ensaio. O lote revestido com FHPMC 7,5% preparado pelo método de IM apresentou menor taxa de liberação do fármaco, tanto em meio gástrico como entérico, apresentando, nos primeiros 180 min de ensaio, retenção total do fármaco no sistema.

O perfil de liberação das partículas revestidas com EU pelo método de aspersão, ao contrário dos demais lotes preparados por esse método, apresentou um maior controle na taxa de liberação do fármaco.

Na análise do perfil de liberação de TC em meio colônico simulado, a liberação do fármaco ocorreu em uma velocidade menor do que as observadas nos meios gástricos e entéricos simulados. Os sistemas revestidos com EU apresentaram maior proporção de fármaco liberado ao final do ensaio. A maior taxa de liberação do fármaco foi observada nas partículas revestidas por imersão.

Todos os lotes apresentaram uma baixa constante de liberação, sendo o lote de FHPMC IM o que apresentou menor constante e menor quantidade de fármaco liberado após 30 h de análise.

A formulação FHPMC preparada pelo método de IM apresentou ser a forma farmacêutica mais promissora para o desenvolvimento de sistemas de liberação colônica.

Quanto à cinética de liberação, o modelo Korsmeyer-Peppas foi o modelo mais adequado para representar os perfis de liberação da TC dos SM, cujo mecanismo de transporte pode ser caracterizado por difusão clássica, transporte anômalo e super transporte caso II.

Através da análise do conjunto dos resultados obtidos, no presente trabalho, os sistemas multiparticulados a base de AL e QS revestidos com polímeros gastro-resistentes e polímero insolúvel em água representam uma estratégia promissora para a obtenção de sistemas terapêuticos para a liberação do fármaco no cólon.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-FATTAH, W. I.; JIANG, T.; EL-BASSYOUNI, G. EI-T.; LAURENCIN, C. T. Synthesis, characterization of chitosans and fabrication of sintered chitosan microsphere matrices for bone tissue engineering. **Acta Biomaterial**, v. 3, p.503-514, 2007.
- ABDOU, E. S; NAGY, K. S. A; ELSABEE, M. Z. Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 1359–1367, 2008.
- ABREU, F. O. M. S; BIANCHINI, C; KIST, B. D. L. Influence of the composition and preparation method on the morphology and swelling behavior of alginate–chitosan hydrogels. **Carbohydrate Polymers** , 2008
- AGNES, E. J; ORTEGA, G. G. Modelos matemáticos e físico-química da difusão. **Caderno de Farmácia**, v. 19, n. 1, p. 9-19, 2003.
- AHN, S. J.; CHOI, K. H.; CHUN, K. M.; RYU, M. J.; JUNG, H. J. KIM, U. Y.; CHO, S. C. Release of triamcinolone acetonide from mucoadhesive polymer composed of chitosan and poly(acrylic acid) in vitro. **Biomaterials**, v. 23, p. 1411–1416, 2002.
- ALLEN, T. **Particle size measurement**. 5th ed. London: Chapman and Hall, 1997.
- AMICI, E.; TETRADIS-MERIS, G.; TORRES, P. C.; JOUSSE, F. Alginate gelation in microfluidic channels. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 97–104, 2008.
- ANAL, K. A.; STEVENS, F. W. Chitosan–alginate multilayer beads for controlled release of ampicillin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 290, p. 45–54, 2005.
- ANSEL, C. H.; POPOVICH, G. N.; ALLEN, JR., V.L. **Farmacotécnica: formas farmacêuticas & sistemas de liberação de fármacos**. 8. ed. Porto Alegre: Artemed, 2007.
- BRASIL. Resolução-RE n° 899, de maio de 2003. D.O.U. 02/06/2003.
- ARTURSSON, P.; LINDMARK, T.; DAVIS, S. S.; ILLUM, L. Effect of chitosan on the permeability of monolayers of intestinal epithelial cells (Caco-2). **Pharmaceutical Research**, v. 11, p. 1358-1361, 1994.
- ASHFORD, M. O trato gastrointestinal-fisiologia e absorção de fármacos. In: AULTON, E. M. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artemed, 2005. 299p.
- ASLANI, P.; KENNEDY, R. A. Studies on diffusion in alginate gels. I. Effect of cross linking with calcium or zinc ions on diffusion of acetaminophen. **Journal of Controlled Release**, v. 42, p. 75-82, 1996.

AZEVEDO, V. V. C.; CHAVES, S. A.; BEZERRA, D. C.; FOOK, L. M. V.; COSTA, A. C. F. M. Quitina e quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 2.3, p. 27-34, 2007.

BACHTSI, A. R.; KIPARISSIDES, C. Synthesis and release studies of oil, containing poly(vinyl alcohol) microcapsules prepared by coacervation. **Journal of Controlled Release**, v. 38, p. 49-58, 1996.

BAJPAI, S. K.; SHARMA, S. Investigation of swelling/degradation behaviour of alginate beads crosslinked with Ca²⁺ and Ba²⁺ ions. **Reactive & Functional Polymer**, v. 59, p. 129–140, 2004.

BAJPAI, K. S.; SAXENA, K. S.; SHARMA, S. Swelling behavior of barium ions crosslinked biopolymeric sodium alginate–carboxymethyl guar gum blend beads. **Reactive & Functional Polymers**, v. 66, p. 659–666, 2006.

BAJPAI, S. K.; TANKHIWALE, R. Investigation of water uptake behavior and stability of calcium alginate/chitosan bi-polymeric beads: Part-1. **Reactive & Functional Polymer**, v. 66, n. 6, p. 645-658, 2006.

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

BARROCAS, P. M. C.; SANTOS, D. F. G.; FERREIRA, D. C.; COELHO, P. M. B. S.; OLIVEIRA, R. C. S.; VEIGA, F. J. B. Sistemas farmacêuticos gastrorretentivos flutuantes. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 03, p. 325-334, 2007.

BAUER, K. H.; LEHMANN, K.; OSTERWALD, H. P.; ROTHGANG, G. **Coated pharmaceutical dosage forms: fundamentals, manufacturing, techniques, biopharmaceutical aspects, test methods and raw materials**. Stuttgart: Medpharm Scientific Publ, 1998.

BERGER, J.; REIST, M.; MAYER, J. M.; FELT, O.; PEPPAS, N. A.; GURNY, R. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications, **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 57, p. 19-34, 2004.

BOOBIS, A.; THOMAS, S.; RAWLINS, M.; WILKINS, M. In: DOLLERY, C. (Ed), **The Drugs**. Churchill Livingstone: Edinborough, 1999, p. 165

BRESOLIN, T. M. B.; RODRIGUES, C. A.; ANDREAZZA, I. F. I.; LUCINDA, R. M.; ANDREAZZA, R. C. S.; FREITAS, R. A.; MOURÃO, S. C. Sistemas de liberação de fármacos. In: BRESOLIN, B. M. T.; CECHINEL FILHO, V. **Ciências farmacêuticas: contribuição ao desenvolvimento de novos fármacos e medicamentos**. Itajaí: Univali, 2003. p. 192-214.

CAMPANA, S. P. F.; SIGNINI, R. Efeito de aditivos na desacetilação de quitina. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 11, n. 4, p. 169-173, 2001.

CERDEIRA, A. M.; GOUCHA, P.; ALMEIDA, A. J. Hydroxypropyl methylcellulose phthalate beads containing a model non-steroid anti-inflammatory drug. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 164, p. 147–154, 1998.

CHAMBIN, O.; DUPUIS, G. D.; CHAMPION.; VOILLEY, A.; POUCELOT, Y. Colon-specific drug delivery: Influence of solution reticulation properties upon pectin beads performance. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 321, p. 86-93, 2006.

CHAN, L. W.; JIN, Y.; HENG, P. W. S. Cross-linking mechanisms of calcium and zinc in production of alginate microspheres. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 242, p. 255-258, 2002.

COLLETT, J.; MORETON, C. Formas farmacêuticas perorais de liberação modificada. In: AULTON, E. M. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

COLOMBO, P; BETTINI, R; SANTI, P; PEPAS, N. A. Swellable matrices for controlled drug delivery: gel-layer behaviour, mechanisms and optimal performance. **PSTT** v. 3, N. 2000.

CORA, L. A.; ROMEIRO, F. G.; STELZER, M.; AMÉRICO, M. F.; OLIVEIRA, R. B.; BAFFA, O.; MIRANDA, J. R. A. AC biosusceptometry in the study of drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, p. 1223–1241, 2005.

COSTA, C. J. P. Avaliação *in vitro* da lioequivalência de formulações farmacêuticas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 2, abr./jun., 2002

CRCAREVSKA, M. S.; DODOV, M. G.; GORACINOVA, K. Chitosan coated Ca alginate microparticles loaded with budesonide for delivery to the inflamed colonic mucosa. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 68, p. 565-578, 2007.

DAMIANI, D.; KUPERMAN, H.; DICHTCHEKENIAN, V.; DELLA MANNA, T.; SETIAN, N. Título. **Pediatrics**, v. 1, p. 71-82, 2001.

DODANE, V.; VILIVALAM, D. V. Pharmaceutical applications of chitosan. **PSTT**, v. 1, n. 6, 1998.

DRAGET, K. I.; SKJAK-BRAEK, G.; SMIDSRØD, O. Alginate based new materials. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 21, p. 47-55, 1997.

DUARTE, A. R. C.; COSTA, M. S.; SIMPLÍCIO, A. L.; CARDOSO, M. M.; DUARTE, C. M. M. Preparation of controlled release microspheres using supercritical fluid technology for delivery of anti-inflammatory drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 308, p. 168–174, 2006.

DUMITRIU, S., CHORNET, E. Inclusion and release of proteins from polysaccharide based polyion complex. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 31, p. 223-246, 1998.

FERREIRA, A.O. **Desenvolvimento magistral de cápsulas gelatinosas duras de liberação entérica**. 2006 187f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.
FRANCHETTI, S. M. M.; MARCONATO, J. C. Polímeros biodegradáveis– uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 811-816, 2006.

FREIRE, A. C.; PODCZECK, F.; SOUSA, J.; VEIGA, F. Liberação específica de fármacos para administração no cólon por via oral. I - O cólon como local de liberação de fármacos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 3, p. 2006a.

FREIRE, A. C.; PODCZECK, F.; SOUSA, J.; VEIGA, F. Liberação específica de fármacos no cólon por via oral. II – Tipos de sistemas utilizados. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 3, p. 2006b.

FREITAS, O. Sistemas de liberação modificada de fármacos. In: CONGRESSO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE CASCAVEL, 02., 2006, Cascavel. **Anais...** Cascavel, 2006.

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

FRIEND, D. R. Drug delivery in advancing the treatment of inflammatory bowel disease. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, p. 215-216, 2005.

GANDHI, R.; KAUL, C. L.; PANCHAGNULA, R. Extrusion and spheronization in the development of oral controlled-release dosage forms. **Pharmaceutical Science and Technology Today**, v. 2, n. 4, p. 160-170, 1999.

GEORGE, M.; ABRAHAM, E. T. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan — a review. **Journal of Controlled Release**, v. 114, p. 1–14, 2006.

GOMBOTZ, W. R.; WEE, S. F. Protein release from alginate matrices. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 31, p. 267–285, 1998.

GONÇALVES, V. L.; LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V. T. Effect of crosslinking agents on chitosan microspheres in controlled release of diclofenac sodium. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 1, p. 6-12, 2005.

- GUPTA, K.C; JABRAIL, F. H. Effects of degree of deacetylation and cross-linking on physical characteristics, swelling and release behavior of chitosan microspheres. **Carbohydrate Polymers**, v. 66, p. 43-44, 2006.
- HARRIS, D.C. **Análise química quantitativa**. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2001. 862 p.
- HANAUER, S. B. Medical therapy of ulceratives colitis. **The Lancet**, v. 342, n. 8868, p. 412-417, 1993.
- HANAUER, S.B.; BAERT, F. Medical therapy for inflammatory bowel disease. **Med. Clin. North Am.**, v. 78, p. 1413-1426, 1994.
- HATEFI, A. A. A.; AMSDEN, B. B. Biodegradable injectable in situ forming drug delivery systems. **Journal of Controlled Release**, v. 80, p. 9-28, 2002.
- HAYNES Jr., R.C. Título. In: GOODMAN, L.S.; GILMAN, A.G. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 9. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 1996. p.951-969.
- HOGAN, J. Revestimento de comprimidos multiparticulados. In: AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2. ed. Artmed: Porto Alegre, 2005.
- HOOD, P. P.; COTTER, T. P.; COSTELLO J. F.; SAMPSON, A. P. Effect of intravenous corticosteroid on ex vivo leukotriene generation by blod leucocytes of normal and asthmatic patients. **Thorax**, v. 54, p. 1075-82, 1999.
- IBEKWE, V. C.; FADDA, H. M.; PARSONS, G. E.; BASIT, A. W. A comparative in vitro assessment of the drug release performance of pH-responsive polymers for ileo-colonic delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 308, p. 52–60, 2006.
- JIANG, X.; CHEN, L.; ZHONG, W. A new linear potentiometric titration method for the determination of deacetylation degree of chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 54, p. 457–463, 2003.
- JOHNSON, F. A.; CRAIG, D. Q.; MERCER, A. D. Characterization of the block structure and molecular weight of sodium alginates. **Journal Pharmacy and Pharmacology**, v. 49, p.639-643, 1997.
- JOSÉ, M. N.; SOUZA, C. M. L.; YOSHIDA, I. V. P.; FELISBERTI, M. I. Sínteses de redes a bases de PMDS e reticulantes dendríticos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIAS DOS MATERIAIS, 14., 2000, São Pedro. **Anais...** São Pedro, 2000, p. 46802-46808. Disponível em: <http://gppol.igmp.unicamp.br/Congressos/14CBECIMAT/TC401-004.pdf>. Acesso em 15 fevereiro 2008.
- KHAIROU, S. K.; AL-GETHAMI, M. W.; HASSAN, M. R. Kinetics and mechanism of sol–gel transformation between sodium alginate polyelectrolyte and some heavy divalent metal ions with formation of capillary structure polymembranes ionotropic gels. **Journal of Membrane Science**, v. 209, p. 445–456, 2002.

- KHAN, T. A.; PEH, K. K.; CH'NG, H. S. Reporting degree of deacetylation values of chitosan: the influence of analytical methods. **Journal Pharmacy and Pharmaceutical Science**, v. 5, p. 205-212, 2002.
- KIM, H.; PARK, J. H.; CHEONG, I. W.; KIM, J. H. Swelling and drug release behavior of tablets coated with aqueous hydroxypropyl methylcellulose phthalate (HPMCP) nanoparticles. **Journal of Controlled Release**, v. 89, p. 225–233, 2003.
- KIM, W-T.; CHUNG, H.; SHIN, II-S.; YAM, K. L.; CHUNG, D. Characterization of calcium alginate and chitosan-treated calcium alginate gel beads entrapping allyl isothiocyanate. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, p. 566–573, 2008.
- KNAUL, J. Z.; KASAAI, M. R.; BUI, V. T.; CREBER, K. A. M. Characterization of deacetylated chitosan and chitosan molecular weight review. **Canadian Journal of Chemistry**, v.76, p. 1699-1706, 1998.
- 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, **International Journal of Pharmaceutics**, v. 249, p. 165-174, 2002.
- KRISHNAIAH, Y. S. R.; SATYANARAYANA, S.; RAMA PRASAD, Y. V. Studies of guar gum compression-coated 5-aminosalicylic acid tablets for colon-specific drug delivery. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 25, n. 5, p. 651-657, 1999.
- KRUIF, C. G.; WEINBRECK, F.; VRIES, R. Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 9, p. 340–349, 2004.
- KUMAR, R. V. N. M. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive & Functional Polymers**, v. 46, p. 1-27, 2000.
- LAI, X.; SUNA C.; TIAN, H.; ZHAO, W.; GAO, L. Evaluation of poly(styrene-alt-maleic anhydride)–ethanol as enteric coating material. **International Journal of Pharmaceutics**, 2007.
- LAVERTU, M.; XIA, Z.; SERREQIA, N.; BERRADA, M.; RODRIGUES, A.; WANG, D.; BRUSHMANN, M. D.; GUPTA, A. A validated ¹H NMR method for the determination of the degree of deacetylation of chitosan. **Journal Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 32, p. 1149, 2003.
- LEE, J. M.; CHO, J. E.; KIMA, J. H.; CHO, H. K.; CHEONG, I. W. Poly(styrene/hydroxypropyl methylcellulose phthalate) latex particles prepared by resin-fortified emulsion polymerization. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**, v. 307, p. 35–44, 2007.
- LE HIR, A. **Noções de farmácia galênica**. 6. ed. São Paulo : Organização Andrei, 1997. p. 224-227.

LEOPOLD, C. S.; FRIEND, D. R. In vitro study for the assessment of poly(L-aspartic acid) as a drug carrier for colon-specific drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 126, p. 139-145, 1995.

LEOPOLD, C. S.; EIKELER, D. Eudragit® E as coating material for the pH-controlled drug release in the topical treatment of inflammatory bowel disease (IBD). **Journal of Drug Targeting**, v. 6, n. 2, p. 85-94, 1998.

LIMA, A. M. F.; ANDREAN, L.; SOLDI, V. Influência da adição de plastificante e do processo de reticulação na morfologia, absorção de água e propriedades mecânicas de filmes de alginato de sódio. **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 832-837, 2007.

LIU, L.; FISHMAN, L. M.; KOST, J.; HICKS, B. K. Pectin-based systems for colon-specific drug delivery via oral route. **Biomaterials**, v. 24, p. 3333-3343, 2003.

LIU, H.; WANG, C.; GAO, Q.; LIU, X.; TONG, Z. Fabrication of novel core-shell hybrid alginate hydrogel beads. **International Journal of Pharmaceutics**, 351, p. 104-112, 2007.

LÓPEZ, M. E. V.; REYES, L. N.; IGEA, S. A.; ESPINAR, F. J. O.; MÉNDEZ, J. B. Formulation of triamcinolone acetonide pellets suitable for coating and colon targeting. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 179, p. 229-235, 1999.

LOPES, M. C.; LOBO JOSÉ, S. M.; COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 41, n. 2, abr./jun., 2005.

LUCINDA, R.M. **Preparação e caracterização de micropartículas de quitosana-alginato**. 1999. 154f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, 1999.

LUCINDA-SILVA, R. M. **Sistemas multiparticulados a base de quitosana para liberação colônica de fármacos**. 2003. 215 f. Tese (doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2003.

LUCINDA-SILVA, R. M.; EVANGELISTA, C. R. Studies on the Formation of Complex Coacervates between and Alginate During Microparticles Preparation. **Acta Farmaceutica Bonoerense**, v. 24, n. 3, p. 366-370, 2005.

MAGILL, M. Microencapsulamento. **Cosmetics & Toiletries** (Edição em Português) 3, p. 54-57, 1991.

MALM, C. J.; EMERSON, J.; HIATT, G. D. Cellulose acetate phthalate as an enteric material. **J. Am. Pharm. Assoc. Scient. Ed.**, n. 40, p. 520-525, 1951.

MANADAS, R.; PINA, M. E.; VEIGA, F. A dissolução *in vitro* na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 4, out./dez., 2002.

MARTINDALE. In: PARFITT, K. (Ed.) *The Complete Drug Reference*, 32th ed. London: Pharmaceutical Press, 1999, p. 1050.

MEEHAN, E. Characterisation of hydroxypropylmethylcellulose phthalate (HPMCP) by GPC using a modified organic solvent. **Analytica Chimica Acta**, v. 557, p. 2–6, 2006.

MERCK Index: an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. 13th ed. Whitehouse Station: Merck Research Laboratories, 2001.

MIYAZAKI, S.; KUBO, W.; ATTWOOD, D. Oral sustained delivery of theophylline using in-situ gelation of sodium alginate. **Journal of Controlled Release**, v. 67, p. 275-280, 2000.

MORENO, R., MATOS, R., FEVEREIRO, T. Corticosteróides no doente com sépsis e choque séptico. **Revista portuguesa de medicina intensiva**, v 10, n. 2, 2001.

MOURA, M. R. L.; REYES, F. G. R. Interação fármaco-nutriente: uma revisão. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 2, p. 223-238, 2002.

MOUSTAFINE, R.I; KABANOVA, T.V; KEMENOVA, V.A; MOOTER, G. V. D. Characteristics of interpolyelectrolyte complexes of Eudragit E100 with Eudragit L100. **Journal of Controlled Release**, v. 103, p. 191–198, 2005.

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

OLIVEIRA, R. B.; LIMA, E. M. Polímeros na obtenção de sistemas de liberação de fármacos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 1, p. 29-35, 2006.

OLIVEIRA, F. M; CAVALCANTI, Pré-Bióticos na Formação de Filmes Isolados de Eudragit® RS 30 D. Avaliação das Propriedades de Intumescimento e Permeabilidade. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 3, p. 325-331, 2007.

ONEDA, F.; RE, M. I. The effect of formulation variables on the dissolution and physical properties of spray-dried microspheres containing organic salts. **Powder Technology**, v. 130, p. 377–384, 2003.

ORLU, M.; CEVHER, E.; ARAMAN, A. Design and evaluation of colon specific drug delivery system containing flurbiprofen microsponges. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 318, p.103–117, 2006.

PALMIERI, M. A.; FREEMAN, C.; KOTKOSKIE, L. A. Developmental toxicity study of aquacoat 1* ecd ethylcellulose aqueous dispersion administered orally to rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 38, p. 71-74, 2000.

PANIKKAR, R.; BRASCH, D. J. Biosynthetic implications of NMR analyses of alginate homo- and heteropolymers from New Zealand brown seaweeds. **Carbohydrate Research**, v. 300, p. 229-238, 1997.

PASPARAKIS, G.; BOUROPOULOS, N. G. Swelling studies and in vitro release of verapamil from calcium alginate and calcium alginate-chitosan beads. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 323, p. 34-42, 2006.

PENICHE, C.; HOWLAND, I.; CARRILLO, O.; ZALDIVAR, C.; ARGÜELLES-MONAL, W. Formation and stability of shark liver oil loaded chitosan/calcium alginate capsules. **Food Hydrocolloids**, v. 18, p. 865-871, 2004.

PIAO, Z-Z.; LEE, M-K.; LEE, B-J. Colonic release and reduced intestinal tissue damage of coated tablets containing naproxen inclusion complex. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 350, p. 205-211, 2008.

PODCZECK, F.; JONES, B. E. **Pharmaceutical Capsules**. 2. ed. London: Pharmaceutical Press, 2004. 272 p.

PONGJANYAKUL, T.; PUTTIPIATKHACHORN, S. Xanthan-alginate composite gel beads: Molecular interaction and in vitro characterization. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 331, p. 61-71, 2007.

PRASHANTH, K. V. H.; THARANATHAN, R. N. Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential dan overview. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, p. 117-131, 2007.

PUEHLER, I. Setting Standards for 50 Years. **Pharma Polymers News**. n. 10, p. 1-4, 2003.

QUIGLEY, E. M. M. Gastroduodenal motility. **Curr. Opin. Gastroen**, v. 18, p. 3-18, 2003.

RAJABI-SIAHBOOMI, A. R. An over view of current oral modified release technologies. **Business Briefing: Pharmateh**, p. 181-184, 2003.

RANG, P. H.; DALE, M. M.; RITTER, M. J.; MOORE, K. P. A hipófise e o córtex supra-renal. In: Editor. **Farmacologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. 471p.

RATHKE, T. D.; HUDSON, S. M. Determination of degree of N-deacetylation in chitin and chitosan as well as their monomer sugar ratios by near infrared spectroscopy. **Journal Polymer Science**, v.31, p.749-753, 1993.

RATHKE, T. D.; HUDSON, S. M. Review of chitin and chitosan as fiber and film formers. **Journal Macromolecul. Science - Review. Macromolecul. Chemical. Phys**, v. p.34, 375-437, 1994.

- REMUNAN-LÓPEZ, C.; BODMEIER, R. Effect of formulation and process variables on the formation of chitosan-gelatin coacervates. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 135, p. 63-72, 1996.
- RIJNIESE, A.; NIJKAMP, F. P.; KRANEVELD, A. D. Mast cells and nerves tickle in the tummy Implications for inflammatory bowel disease and irritable bowel syndrome. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 116, p. 207–235, 2007.
- RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress. In Polymer Science.**, v. 31, p. 603–632, 2006.
- RIOS, M. Polymers for Controlled Release: Formulation Follows Function. **Pharmaceutical Technology**, v. 29, n. 6, p. 42-51, jun. 2005.
- ROWE, R. C.; SHESKEY, P. P.; OWEN, S. C. **Handbook of pharmaceutical excipients**. 5. ed. London: Pharmaceutical Press, 2006. p. 145-147, 278-282, 354-357, 553-559.
- ROSINA, C. R.; BARONI, S.; CAVALCANTI, O. A. Avaliação das propriedades de intumescimento e permeabilidade de filmes isolados de polimetacrilato contendo polissacarídeo da raiz de Lótus (*Nelumbo nucifera*). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 3, jul./set., 2004.
- RUBINSTEIN, A. Approaches and opportunities in colon-specific drug delivery. **Critical reviews in therapeutic drug carrier systems**, v. 12, n. 2,3, p. 101-149, 1995.
- RUBINSTEIN, A. Colonic drug delivery. **Drug Discovery Today Technologies**, v. 2, 2005.
- SANTOS, A. B.; FERREIRA, V. P.; GROSSO, C. R. F. Microesferas – Uma Alternativa Viável. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 16, p. 26-30, 2000.
- SANTOS, J. E.; SOARES, J. P.; DOCKAL, E. R.; FILHO, S. P. C.; CAVALHEIRO, É. T. G. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 13, n. 4, p. 242-249, 2003.
- SARMENTO, B.; FERREIRA, D.; VEIGA, F.; RIBEIRO, A. Characterization of insulin-loaded alginate nanoparticles produced by ionotropic pre-gelation through DSC and FTIR studies. **Carbohydrate Polymers**, v. 66, p. 1-7, 2006.
- SCHMITT, C.; SANCHEZ, C.; DESOBRY-BANON, S.; HARDY, J. Structure and technofuntional properties of protein-polysaccharide complexes: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 38, p. 689–753, 1998.
- SEMDE, R. K.; DEVLEESCHOUWER, J. M.; MOËS, J. A. Studies of pectin HM:Eudragit® RL:Eudragit® NE film-coating formulations intended for colonic drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 197, p. 181–192, 2000.

- SHIMONO, N.; TAKATORI, T.; UEDA, M.; MORI, M.; HIGASHI, Y.; NAKAMURA, Y. Chitosan dispersed system for colon-specific drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 245, p. 45-54, 2002.
- SIEPMANN, F.; WAHLE, C.; LECLERCQ, B.; CARLIN, B.; SIEPMANN, J. pH-sensitive film coatings: Towards a better understanding and facilitated optimization. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 68, p. 2-10, 2008.
- SILVA, J. P. S.; FERREIRA, J. P. M. Microencapsulação: Técnicas e Aplicações. **Revista Portuguesa de Farmácia**, v. 48, p. 97-104, 1998.
- SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. **Identificação Espectrofotométrica de Compostos Orgânicos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994.
- SIMON, G. L.; GORBACH, S. L. Intestinal flora in health and disease. **Gastroenterology**, v. 86, p. 174-193, 1984.
- SINHÁ, R. V.; KUMRIA, R. Polysaccharides in colon-specific drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 224, p. 19-38, 2001.
- SINHÁ, R. V.; KUMRIA, R. Binders for colon specific drug delivery: an in vitro evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 249, p. 23-31, 2002.
- SINHÁ, V. R.; KUMRIA, R. Microbially triggered drug delivery to the colon. **European Journal Pharmacia. Science**, v. 18, p. 3-18, 2003.
- SINHA, V. R.; MITTAL, B. R.; BHUTANI, K. K.; KUMRIA, R. Colonic drug delivery of 5-fluorouracil: an in vitro evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 269, p. 101-108, 2004.
- SMIDSRØD, O. Solution properties of alginates. **Carbohydrate Research**, v.13, p. 359-372, 1970.
- SMITH, J.; WOOD, E.; DORNISH, M. Effect of chitosan on epithelial cell tight junctions. **Pharmaceutical Research**, v. 21, p. 43-49, 2004.
- SOUZA, V.; RÉ, M. I. Preparação de microcápsulas para preservação e liberação controlada da substância ativa pelo processo de coacervação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 8., Águas de São Pedro, 2000. **Anais...** Águas de São Pedro, 2000.
- SRIAMORNSAK, P.; KENNEDY, A. R. Development of polysaccharide gel coated pellets for oral administration. 2. Calcium alginate. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 29, p. 139-147, 2006.
- STEIN, R. B.; HANAUER, S.B. Medical therapy for inflammatory bowel disease. **Gastroenterology Clinics of North America**, v.28, p. 297-321, 1999.

- STRAUSS, G.; GIBSON S.M. Plant phenolics as cross-linkers of gelatin gels and gelatin-based coacervates for use as food ingredients. **Food Hydrocolloids**, v.18, p.81–89, 2004.
- SUN, Y.-M., HUANG, W.-F.; CHANG, C.-C. Spray-coated and solution-cast ethylcellulose pseudolatex membranes. **Journal of Membrane Science**, v. 157, p. 159-70, 1999.
- TACK, J. Gastric motor disorders. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 21, n. 4, p. 633–644, 2007.
- TAKAHASHI, T.; IMAI, M.; SUZUKI, I. Water permeability of chitosan membrane involved in deacetylation degree control. **Biochemical Engineering Journal**, v. 36, p. 43–48, 2007.
- TAN, S. C.; KOR, E.; TAN, T. K.; WONG, S. M. The degree of deacetylation of chitosan: advocating the first derivate UV-spectrophotometry meted of determination. **Talanta**, v. 45, p. 713-719, 1998.
- TAO, X.; SUN, X. J.; SU, J.; CHEN, J.-F.; ROA, W. Natural microshells of alginate chitosan: Unexpected stability and permeability. **Polymer**, v. 47, p. 6167-6171, 2006.
- THOMA, K.; BECHTOLD, K. **Cápsulas duras de gelatina com recobrimento entérico**. [s.l. s.n.]; 1992. 21 p. (Boletim Técnico da Capsugel).
- TØNNESEN, H. H.; KARLSEN, J. Alginate in drug delivery systems. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 28, p. 621-630, 2002.
- UNITED States Pharmacopoeia. 28. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2005. p. 2268-2269.
- VANDAMME, F. T. H.; LENOURRY, A.; CHARRUEAU, C.; CHAUMEIL, J.-C. The use polysaccharides to target drugs to the colon. **Carbohydrate Polymers**, v. 48, p. 219-231, 2002.
- WEIß, G.; KNOCH, A.; LAICHER, A.; STANISLAUS, F.; DANIELS, R. Simple coacervation of hydroxypropyl methylcellulose phthalate (HPMCP) I. Temperature and pH dependency of coacervate formation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 124, p. 87-96, 1995.
- WESKA, R. F; MOURA, J. M; BATISTA, L. M; RIZZI, J; PINTO, L. A. A. Optimization of deacetylation in the production of chitosan from shrimp wastes: Use of response surface methodology. **Journal of Food Engineering**, v. 80, p. 749-753, 2007.
- WITTAYA-AREEKUL, S.; KRUEENATE, J.; PRAHSARN, C. Preparation and in vitro evaluation of mucoadhesive properties of alginate/chitosan microparticles containing prednisolone. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 312, p. 113-118, 2006.

WIWATTANAPATAPEE, R.; LOMLIM, L.; SARAMUNEE, K. Dendrimers conjugates for colonic delivery of 5-aminosalicylic acid. **Journal of Controlled Release**, v. 88, p. 1-9, 2003.

XU, Y.; ZHAN, C.; FAN, L.; WANG, L.; ZHENG, H. Preparation of dual crosslinked alginate–chitosan blend gel beads and in vitro controlled release in oral site-specific drug delivery system. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 336, p. 329–337, 2007.

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

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

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

ZHANG, H.; ALSARRA, A. I.; NEAU, H. S. An in vitro evaluation of a chitosan containing multiparticulate system for macromolecule delivery to the colon. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 239, p. 197–205, 2002.

ZHANG, Y.; XUE, C.; XUE, Y.; GAO, R.; ZHANG, X. Determination of the degree of deacetylation of chitin and chitosan by X-ray powder diffraction. **Carbohydrate Research**, v. 340, p. 1914–1917, 2005.

ZOU, M.; OKAMOTO, H.; CHENG, G.; HAO, X.; SUN, J.; CUI, F.; DANJO, K. Synthesis and properties of polysaccharide prodrugs of 5-aminosalicylic acid as potential colon-specific delivery systems. **European Journal of Pharmaceutics**, v. 59, p. 155-160, 2005.

XU, Y.; ZHAN, C.; FAN, L.; WANG, L.; ZHENG, H. Preparation of dual crosslinked alginate–chitosan blend gel beads and in vitro controlled release in oral site-specific drug delivery system. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 336, p. 329–337, 2007.

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](#)