



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA E FARMACOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**João Fhilype Andrade Souto Maior**

**MODIFICAÇÃO ESTRUTURAL E CARACTERIZAÇÃO  
DE POLISSACARÍDEO NO DESENVOLVIMENTO DE  
MATERIAIS PARA LIBERAÇÃO MODIFICADA DE  
FÁRMACOS.**

MARINGÁ

2007

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

**João Fhilype Andrade Souto Maior**

**MODIFICAÇÃO ESTRUTURAL E CARACTERIZAÇÃO  
DE POLISSACARÍDEO NO DESENVOLVIMENTO DE  
MATERIAIS PARA LIBERAÇÃO MODIFICADA DE  
FÁRMACOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - Área de Concentração: Produtos Naturais e Sintéticos Biologicamente Ativos, da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: **Prof. Dr. Osvaldo Albuquerque  
Cavalcanti**

MARINGÁ  
2007

## **DEDICATÓRIA**

*Dedico sempre, e nunca em excesso, a meus pais, Joel e Valéria, pessoas cujos ensinamentos e companhia são indispensáveis, apesar da distância geográfica.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus que tem dado a mim todas as coisas, visíveis e invisíveis.

Essa Dissertação de Mestrado não poderia ter sido escrita sem o apoio entusiástico de meus pais, Joel e Valéria, e meu irmão, Fred. Gostaria de agradecê-los pela atenção, o estímulo, a confiança e o investimento. Essas pessoas sempre foram muito importantes em cada etapa da minha vida. Agradeço profundamente tudo que conseguiram me transmitir.

Ao meu orientador, Professor Osvaldo Albuquerque Cavalcanti pela forma como me acolheu e atendeu, pela forma entusiástica com que participou e orientou durante a realização deste trabalho. Pelas oportunidades, pela confiança que me foi depositada, pelas longas e divertidas conversas. Também gostaria de agradecê-lo pela reafirmação de conceitos importantes que obtive de meus pais, como humildade, caráter e honestidade, que terei a honra de um dia poder transmitir aos meus filhos;

Agradeço ao Adriano pela forma como me recebeu e me atendeu, pelas conversas, sugestões e troca de idéias fundamentais ao desenvolvimento deste trabalho, pela pró-atividade ímpar que fui testemunha, pela companhia agradável e divertida acompanhada sempre de um *cafezinho* extraordinário que dividimos com os demais, nos bons e maus momentos durante os dias no laboratório, enfim, pela grande amizade;

Ao Professor Edvani/ao Departamento de Química pelas amostras de reagentes e utilização de equipamentos que foram fundamentais à realização deste trabalho;

Aos amigos e colegas do laboratório 4 - DFF, Douglas, Luciana e Gleykson pela companhia e trocas de idéias, em especial à Liliane pela sua companhia, empenho, troca de idéias e contribuições que ajudaram à realização deste trabalho;

Aos amigos e colegas do laboratório 18 - DQI, Mateus, à dupla Eliz & Thaís, Guilherme, Silvinha, Juliana, Laís, Milena, Ana Paula, Alexandre, Marquinhos e o casal Adonilson e

Lucina pela companhia, pela ajuda, troca de idéias e pelas conversas divertidas que tornaram gratificante o dia-a-dia no laboratório;

Aos Professores Edgardo e Anita pelas conversas agradáveis, pela paciência, gentileza e atenção com que me receberam em sua sala e pela participação no Curso de Excel para Química, durante a Semana de Química 2006;

Aos colegas da disciplina Métodos Térmicos e Análises, oferecida pelo professor Edgardo que tive o privilégio de participar como ouvinte. Gostaria de agradecê-los pela participação, companhia e troca de idéias durante as aulas e fora delas, em especial à Marcela;

Às secretárias do Departamento de Farmácia, em especial à Helena, pela atenção, presteza, eficiência e principalmente à paciência com que me atendeu;

Aos técnicos-auxiliares do laboratório 4 - DFF, Paulo Castanho e Lucivana Garcia pela ambiente amigável proporcionado;

Aos técnicos do DQI/UEM pela realização das análises de FT-IR, DSC e TGA indispensáveis à realização deste trabalho;

Às secretárias do COMUT pela atenção e eficiência durante o rastreamento de artigos de grande ajuda à realização deste trabalho.

## INTRODUÇÃO

Desenvolver novos materiais destinados à fabricação/obtenção de sistemas para liberação modificada de fármacos, qualificados como dispositivos sítios-alvo-específicos, constitui campo atrativo e de extremo desafio à pesquisa acadêmica, voltada à aplicação no campo industrial farmacêutico. Estes sistemas objetivam quebrar os longos esquemas posológicos inerentes aos tratamentos convencionais, reduzindo efeitos colaterais e aumentando a resposta terapêutica das substâncias farmacologicamente ativas, garantindo um melhor gerenciamento na liberação do fármaco. Neste contexto merecem destaque aqueles sistemas destinados às regiões distais do trato gastrointestinal (TGI), mais especificamente ao ambiente colônico.

A região colônica abriga mais de 500 tipos de espécies bacterianas (BAZZOCCHI et al., 2002, OLIVEIRA & CAVALCANTI, 2007 e ZARONI, 2006). As atividades fisiológicas presentes nesta região, como tempo de trânsito intestinal lento associado a pH próximo do neutro, baixa atividade enzimática e a presença de substratos como nutrientes bacterianos faz com que o habitat colônico seja amplamente diversificado, único e complexo (YANG et al., 2002, SINHA et al., 2003, FRIEND, 2005 e ORLU et al., 2006).

Muitos polissacarídeos têm sido sugeridos na geração de novos materiais destinados ao desenvolvimento de sistemas terapêuticos. Considerando as vastíssimas habilidades dos polissacarídeos incluindo, prioritariamente, a biodegradabilidade específica no ambiente colônico tem justificado sua atrativa aplicação como carreadores de fármacos, incentivando a pesquisa e desenvolvimento de novos sistemas terapêuticos para liberação modificada destinados a administração oral (CAVALCANTI *et al.*, 2002, 2005; BUNHAK *et al.*, 2007 a, b;).

Os polissacarídeos são resistentes à passagem pela porção superior do trato gastrointestinal, apresentando, porém, biodegradabilidade exclusiva no ambiente colônico pela microflora anaeróbica ali residente (SINHA et al., 2001, FRIEND, 2005). Entretanto, a maior limitação encontrada para utilização de muitos polissacarídeos biodegradáveis, no desenvolvimento de novos sistemas para liberação modificada, é a sua alta solubilidade em meio aquoso e sua baixa propriedade em formar filmes.

A limitação apresentada pelos polissacarídeos candidatos à excipiente farmacotécnico poderá contribuir para uma liberação prematura e indesejada do princípio ativo no segmento proximal do trato gastrointestinal (TGI), quando estes

materiais estão envolvidos como carreadores de fármacos. Uma alternativa para reduzir a elevada solubilidade consiste em modificá-los quimicamente sem comprometer a sua biodegradabilidade frente à microflora colônica (SINHA *et al.*, 2003 e FRIEND, 2005).

Conforme a literatura, implementar novos materiais que envolvam os polímeros sintéticos consagrados na aplicação industrial farmacêutica com os polímeros naturais e/ou modificados quimicamente, constitui ferramenta promissora capaz de desencadear forte sinergismo ao desenvolvimento de novos sistemas terapêuticos (CAVALCANTI *et al.*, 2002; GABAS & CAVALCANTI, 2003; FREITAS & CAVALCANTI, 2004; ROSINA, BARONI & CAVALCANTI, 2004; CODAGNONE *et al.*, 2004; LAMIN *et al.*, 2006; REIS *et al.*, 2003 e 2006; OLIVEIRA & CAVALCANTI, 2007).

Alguns polímeros acrílicos filmogênicos são reconhecidamente eficazes quanto as suas habilidades de favorecerem um direcionamento dos fármacos às regiões específicas do trato gastrointestinal. Entre estes, destacam-se aqueles cuja solubilidade é pH dependente (ex.: Eudragit<sup>®</sup>S 100, Eudragit<sup>®</sup>L 100, mais recentemente Eudragit<sup>®</sup>FS 30D, amplamente usados no revestimento). Entretanto, alguns quadros patológicos do trato gastrointestinal podem favorecer alterações consideráveis das faixas normais do pH fisiológico. Exemplo bastante ilustrativo refere-se aos pacientes portadores de colite ulcerativa, onde o pH colônico atinge valores de  $\pm 4,7$ . Assim, propostas de formulações visando a liberação em faixas de pH alcalino, revestidas com esses polímeros pH dependentes poderão apresentar elevadas limitações terapêuticas.

A associação de polímeros sintéticos aos polissacarídeos naturais e/ou modificados quimicamente representa desafio de aplicação no desenvolvimento de novos materiais voltados à produção de formas dotadas de elevado grau de sítio-alvo-especificidade (CAVALCANTI *et al.*, 2002; GABAS & CAVALCANTI, 2003; FREITAS & CAVALCANTI, 2004; ROSINA, BARONI & CAVALCANTI, 2004; CODAGNONE *et al.*, 2004; LAMIN *et al.*, 2006; OLIVEIRA & CAVALCANTI, 2007; BUNHAK *et al.*, 2007 a, b).

Para promover a modificação estrutural de polissacarídeos, tem sido sugerido o trimetafosfato trisódico (TMFT). O TMFT é um agente reticulante eficiente aplicado na indústria alimentícia e não apresenta toxicidade humana (LACK *et al.*, 2004). O TMFT reage com os grupos hidroxilas dos polissacarídeos ligando covalentemente as cadeias poliméricas, deixando os grupos carboxílicos de alguns polissacarídeos livres para futuras modificações. Essa reação de reticulação promove a diminuição da solubilidade dos polissacarídeos, uma vez que, o número de hidroxilas livres para interagir com a

água fica reduzido (GLIKO-KABIR *et al.*, 2000; DULONG *et al.*, 2004; LACK *et al.*, 2004 e CAVALCANTI *et al.*, 2005).

Outra técnica bastante utilizada com sucesso é a modificação de oligopolissacarídeos (dextrana, inulina, galactomanana e goma arábica) através da reação com metacrilato de glicidila (GMA). Objetivo desta reação de modificação é a introdução de grupos vinílicos na estrutura dos polissacarídeos. Estes grupos vinílicos posteriormente reagem via radicais livres gerando retículos entre as cadeias poliméricas, produzindo os hidrogéis de polissacarídeos (DIJK-WOLTHUIS *et al.*, 1995; VERVOOT *et al.*, 1997; REIS *et al.*, 2003 e 2006).

O polissacarídeo pectina, quando reticulado, gera material insolúvel, mas que intumescce em meio aquoso. No entanto, a reticulação poderá comprometer a habilidade filmogênica. Visando melhorar a propriedade filmogênica, propusemos neste trabalho associar este polissacarídeo reticulado (Pect-TMFT e Pect-GMA) à dispersão aquosa do polímero sintético Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D, de acordo com metodologias presentes em literatura para obtenção de filmes isolados potencialmente adequados para aplicação no revestimento de sistemas sólidos orais destinados à liberação modificada, especialmente, às regiões distais do TGI (CAVALCANTI *et al.*, 2002; CHOURASIA & JAIN, 2003; LIU *et al.*, 2003; CODAGNONE *et al.*, 2004 e BUNHAK *et al.*, 2007 a, b).

Essa associação pode ser benéfica por garantir maior reprodutibilidade com relação à cinética de liberação sítio-específica, uma vez que a pectina constitui substrato específico para ser totalmente degradada pelas enzimas secretadas pela microflora presente na região colônica (principalmente *Bacterioides*, *Bifidobacterium* e *Eubacterium*) (DONGOWSKI *et al.*, 2002 e CHOURASIA & JAIN, 2003).

Vale salientar que a expectativa mais promissora deste trabalho recai na possibilidade da aplicação de muitas moléculas que apresentam elevada limitação para administração oral, uma vez que, não suportam as exigências fisiológicas do ambiente inóspito do trato gastrintestinal (variações de pH, enzimas digestivas, sais biliares). A liberação específica e conseqüente absorção de fármacos como a insulina, endorfinas (e seus análogos), hormônios contraceptivos, calcitonina, hormônios de crescimento, vacinas orais entre outros, no ambiente colônico parece estabelecer excelentes perspectivas tanto para terapias locais, assim como, sistêmicas (SINHA *et al.*, 2001, 2003 e 2005; LIU *et al.*, 2003; IRACHE *et al.*, 2005; DUPUIS *et al.*, 2006; ORLU *et al.*, 2006 e IBEKWE *et al.*, 2006).

# Síntese e Caracterização do Polissacarídeo Pectina Reticulado por Metacrilatação na Formação de Filmes Isolados

João Philype Andrade Souto Maior<sup>1</sup>, Adriano Valim Reis<sup>2</sup>, Osvaldo Albuquerque Cavalcanti<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Aluno do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas - UEM. <sup>2</sup>Aluno do Programa de Pós-graduação em Química - UEM. <sup>3</sup> Professor do Departamento de Farmácia e Farmacologia. Universidade Estadual de Maringá, Avenida Colombo 5790, Anexo Bloco P0 2 (Laboratório de Tecnologia Farmacêutica), Maringá-PR, Brasil, CEP: 87020-900.

**RESUMO** – Neste trabalho a pectina de baixa metoxilação foi modificada quimicamente pela reação com Metacrilato de Glicidila (GMA), obtendo-se material com reduzida hidrossolubilidade. Após caracterização físico-química por análises de *FT-IR*, *DSC* e *TGA*, a pectina metacrilatada (Pect-GMA) foi reticulada com Persulfato de sódio (PS) a 50 °C por 24 e 48 horas em presença/ou não de dispersão aquosa de polimetacrilato (Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D) para obtenção de filmes isolados pelo processo “*casting*” em placa de Teflon<sup>®</sup>. Os filmes foram obtidos fazendo-se variar as concentrações de Pect-GMA, Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D e do PS (2 % p/v). Os filmes isolados foram caracterizados pela determinação da permeabilidade ao vapor d’água (TVA), pelo índice de intumescimento ( $I_{eq}$  %) em fluidos de simulação gástrica (FSG) e intestinal (FSI) e por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os filmes avaliados apresentaram pH-dependência. Isto pode ser atribuído à presença de grupos ionizáveis na Pect-GMA. O maior  $I_{eq}$  % observado em pH= 6,8 quando comparado ao pH= 1,2 foi evidenciado pela porosidade observada nas micrografias dos filmes liofilizados em FSI. Assim, filmes constituídos com Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D, polímero tempo dependente, contendo a Pect-GMA, poderão resultar no sinergismo de ação favorecendo a biodegradabilidade específica da película em região distais do trato gastrointestinal (TGI) por enzimas produzidas pela microflora colônica, possibilitando uma cinética de liberação modificada de fármacos.

## Unitermos:

- Pectina Metacrilatada;
- Filmes isolados;
- Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D;
- Liberação modificada.

## INTRODUÇÃO

Atualmente muitas moléculas terapêuticamente promissoras e disponíveis pelas indústrias farmacêuticas e de biotecnologia (insulina, endorfinas e seus análogos, hormônios contraceptivos, calcitonina, hormônios de crescimento, vacinas orais, etc) apresentam elevada limitação para administração oral. Entretanto, estas entidades químicas potencialmente aptas e extremamente necessárias ao mercado, não suportam as exigências fisiológicas do ambiente inóspito do trato gastrointestinal (variações de pH, enzimas digestivas, sais biliares) (IRACHE et al., 2005; DUPUIS et al., 2006; ORLU et al., 2006; IBEKWE et al., 2006).

Nesse contexto, tem merecido destaque o recurso da aplicação da tecnologia de revestimento na concepção prioritariamente de sistemas reservatórios. Os materiais e equipamentos disponibilizados ao processo constituem constante desafio para formuladores e uma promissora fonte de solução dos propósitos terapêuticos relacionados aos fármacos. O propósito maior destes esforços está centrado na aplicação de materiais poliméricos voltados ao desenvolvimento de sistemas cada vez mais eficientes para veiculação e liberação modificada de fármacos, dotados de elevado grau de sítio-especificidade (BUNHAK et al., 2007 a). Além disso, estes sistemas podem ser extremamente úteis quando se deseja retardar a liberação/absorção do princípio ativo em casos de patologias que apresentam um ritmo circadiano noturno (aplicação da cronofarmacologia), como asma noturna, angina pectoris e artrite (ORLU et al., 2006, IBEKWE et al., 2006 e MASTIHOLIMATH et al., 2006).

Pesquisas recentes têm sugerido o desenvolvimento de novos materiais para revestimento farmacêuticos constituídos por polímeros naturais associados a polímeros sintéticos (dispersão aquosa) já consagrados pela indústria farmacêutica (Surelease<sup>®</sup>, Aquacoat<sup>®</sup>, ECD<sup>®</sup> e polímeros acrílicos, tais como Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D, NE 30 D, RL 30 D e FS 30 D). Esses polímeros de base aquosa apresentam como vantagem evitar a utilização de solventes orgânicos, minimizando a complexidade dos processos e instalações industriais, promovendo a extinção dos riscos de explosões e danos ao meio ambiente e operadores (SINHA et al., 2003; IBEKWE et al., 2006 e BUNHAK, et al., 2007 a, b). Além disso, estes materiais garantem ausência de toxicidade nas formulações farmacêuticas, respeitando as boas práticas de fabricação e as emergentes leis ambientais.

Dispersões aquosas de Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D têm sido largamente usada em aplicações industriais, e amplamente investigada no desenvolvimento de novos materiais destinados às formulações de novos sistemas orais para liberação modificada (controlada e sustentada). Estes polímeros disponíveis em forma aquosa apresentam potencial espectro de aplicação no revestimento de péletes, micropartículas, nanopartículas, além das formas farmacêuticas sólidas clássicas (PEETERS & KINGET, 1993; OLIVEIRA & CAVALCANTI, 2007 e BUNHAK, et al., 2007 a).

Além de oferecer proteção contra fatores externos, como luz, ar e umidade (garantindo estabilidade às formas farmacêuticas), revestimentos baseados em copolímeros de metacrilatos, a exemplo do Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D, permitem perfis de liberação com baixa permeabilidade, e difusão controlada de fármacos (PETEREIT & WEISBROD, 1999 e AKHGARI et al., 2006).

O crescente interesse pela utilização de polímeros naturais hidrofílicos como carreadores de fármacos pode ser justificado pela sua grande disponibilidade na natureza (plantas, microorganismos, animais, algas), proporcionando baixo custo de aquisição. Estes materiais apresentam ampla variedade de estruturas e propriedades, alta estabilidade, boa propriedade geleificante, biocompatibilidade, atoxicidade e facilidade de modificação química e/ou bioquímica. Além disso, são resistentes à passagem pela porção superior do trato gastrointestinal, apresentando, porém, biodegradabilidade pela exclusiva microflora anaeróbica residente no ambiente colônico (SINHA et al., 2001; FRIEND, 2005 e ORLU et al, 2006).

Encontrada em diversas espécies vegetais, principalmente nas células da parede celular, a pectina é responsável pela manutenção da estrutura e sustentação das plantas. Esse polissacarídeo apresenta-se predominantemente como um polímero linear constituído quimicamente por monômeros de ácido D-galacturônico em ligações  $\alpha$ -(1-4), ocasionalmente interrompidos por monômeros de L-rhaminose em ligações  $\alpha$ -(1-2). Porém, outros monômeros também podem fazer parte das cadeias laterais, como os açúcares neutros D-galactose, L-arabinose, D-xilose, L-ramnose, L-fucose e traços de 2-O-metilfucose (PÉREZ et al., 2000; PÉREZ et al., 2003; SILVA & BRAGA, 2004). Além disso, a pectina apresenta elevado peso molecular, podendo variar entre 50.000 a 180.000 g/mol. Dependendo do grau de substituição dos grupos carboxila presentes nos monômeros de ácido D-galacturônico, por grupos metoxila (-OCH<sub>3</sub>), a pectina pode ser classificada como de alta metoxilação / esterificação (acima de 50%) e de baixa (abaixo de 50%). Desse modo, a pectina pode ser descrita em termos de uma estrutura

“canônica” por apresentar estrutura química bastante heterogênea e complexa (PÉREZ et al., 2000; PÉREZ et al., 2003; CHOURASIA & JAIN, 2003).

Porém, o maior desafio encontrado na utilização da pectina para o desenvolvimento de revestimentos farmacêuticos é vencer a sua solubilidade em meio aquoso e sua limitada propriedade em formar filmes, o que poderá contribuir para uma liberação prematura e indesejada do princípio ativo quando este polissacarídeo constituir o suporte do sistema. Uma alternativa para reduzir a elevada solubilidade dos polissacarídeos, é modificá-los quimicamente, sem, entretanto, comprometer a sua biodegradabilidade pela microflora colônica (SINHA et al., 2003; FRIEND, 2005).

Neste trabalho propusemos a modificação química da pectina através de reação com metacrilato de glicidila (GMA). Objetivo desta reação de modificação é a introdução de grupos vinílicos na estrutura do polissacarídeo. Estes grupos vinílicos posteriormente reagem via radicais livres gerando retículos entre as cadeias poliméricas, produzindo hidrogéis de polissacarídeos (DIJK-WOLTHUIS et al., 1995; VERVOOT et al., 1997; REIS et al., 2003 e 2006).

Posteriormente, baseando-se em dados disponíveis em literatura recente, foi possível propor a utilização da pectina metacrilatada (Pect-GMA), com hidrossolubilidade reduzida, para o desenvolvimento de filmes isolados com potencial uso farmacêutico em associação com polimetacrilato Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D (em dispersão aquosa) (CAVALCANTI et al., 2002; LIU et al., 2003; CODAGNONE et al., 2004; BUNHAK, et al., 2007 a, b). Essa associação objetivou melhorar a propriedade filmogênica do novo material, assim como, garantir maior perspectiva de aplicação para liberação sítio – específica. A pectina modificada quimicamente deverá ser totalmente degradada pelas enzimas secretadas pela microflora presente na região colônica (principalmente *Bacterioides*, *Bifidobacterium* e *Eubacterium*) disponibilizando o fármaco exclusivamente no seu local de ação (DONGOWSKI et al., 2002; CHOURASIA & JAIN, 2003).

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Materiais**

Pectina-USP Spectrum<sup>®</sup> (CAS 9000-69-5), Metacrilato de Glicidila (GMA, Acros Organics<sup>®</sup>) e Persulfato de Sódio (Sigma Aldrich<sup>®</sup>), Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D

(copolímero acrilato-metacrilato com grupos amônio quaternário USP/NF/Degussa Pharma/Alemanha) cedidos gentilmente pela empresa Almapal (São Paulo/SP); fluídos de simulação gástrico (FSG, pH=1,2) e intestinal (FSI, pH=6,8), segundo USP (28<sup>a</sup>); Aparelho de Banho-Maria (modelo: Julabo VL 4); Liofilizador (Martin Christ<sup>®</sup>, modelo: Alpha 1-1/DL); Espectrofotômetro UV-Vis (Shimadzu, UV mini 1240); Agitadores magnéticos (Tecnal<sup>®</sup> modelo: TE-085/1); Balança Analítica (Gehaka<sup>®</sup>, modelo: AG200); Bomba de vácuo; Placa de Teflon<sup>®</sup>; Micrômetro (Mitutoyo<sup>®</sup>); Tesoura cirúrgica (HVS cirúrgica<sup>®</sup>, modelo: Íris); Dessecadores (com sílica gel); Cúpulas de permeabilidade (*Payne permeability cup*, Braive Intriments, Liège, Bélgica); demais reagentes de grau analítico.

### Modificação do Polissacarídeo com Metacrilato de Glicidila (GMA)

Seguindo metodologias propostas por Dijk-Wolthuis et al., 1995, Vervoot et al., 1997 e Reis et al., 2003 e 2006, inicialmente foi preparada uma dispersão aquosa a 2,5 % do polissacarídeo (Pectina-USP Spectrum<sup>®</sup>, 6,7 % metoxilação). Após completa solubilização do polissacarídeo, o GMA (4,8 ml) foi adicionado à solução (com pH = 3,5), a qual foi mantida sob agitação mecânica por 24 horas à temperatura de 50 °C, conforme Figura 1. Decorrido o tempo de reação, foi adicionado à solução, etanol para precipitação da pectina modificada. Após filtração, a pectina modificada foi levada para um liofilizador. O material obtido foi triturado e armazenado em dessecadores para posterior realização da caracterização físico-química e obtenção de filmes isolados.

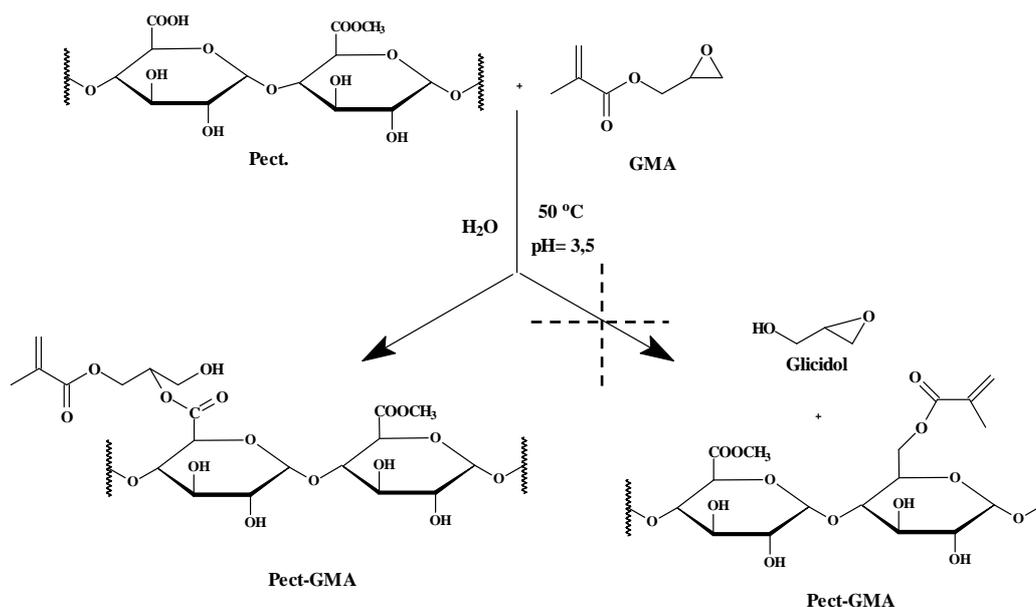


Figura 1 - Representação esquemática da reação entre a pectina e GMA (adaptado de Reis et al., 2006).

Embora não seja possível observar no espectro de *FT-IR*, podemos sugerir que a adição do GMA à pectina em meio aquoso ácido (pH= 1,2) ocorre através da abertura do anel epóxido do GMA, sem a formação do glicidol, o qual é proveniente de reação de transesterificação quando em solvente aprótico e em pH alcalino, segundo observações realizadas por Li et al. (2003) e Reis et al. (2006).

### **Espectroscopia de Infra-vermelho (*FT-IR*)**

Amostras do polissacarídeo natural e modificado foram analisadas por Espectroscopia de Infravermelho (Espectrômetro *FT-IR*-BOMEN-MB-100-Michelson<sup>®</sup>), visando caracterizar preliminarmente a provável modificação estrutural ocorrida. Para a obtenção dos espectros de absorção, na região de 4000 e 400  $\text{cm}^{-1}$ , as amostras foram preparadas pela técnica de pastilhas de brometo de potássio (KBr) contendo 1% da amostra.

### **Análise térmica (*DSC* e *TGA*)**

As análises por Calorimetria Diferencial de Varredura (*Differential scanning calorimetry* - *DSC*) foram realizadas num calorímetro Shimadzu DSC-50. Aproximadamente 6 mg da amostra (pectina puras e modificadas), foram submetidas à atmosfera com fluxo de nitrogênio a 50 mL/min. A faixa de temperatura da análise foi de 0-500 °C numa velocidade de aquecimento de 10 °C/min. O aparelho foi calibrado com os padrões de Índio e Zinco.

Na análise Termogravimétrica (*TGA*) foi usado aparelho Shimadzu<sup>®</sup> TGA-50 na qual se usou amostras de 6 mg. A faixa de temperatura da análise ficou entre 25-1000 °C com fluxo de nitrogênio e velocidade de aquecimento de 50 mL/min e 10 °C/min, respectivamente. Até o momento da realização das análises, todas as amostras foram devidamente acondicionadas em frascos contendo sílica gel desidratada (110 °C/1h).

### **Obtenção de Filmes com Pectina Metacrilatada (Pect-GMA)**

Pect-GMA foi reticulada com Persulfato de sódio (PS) a 50 °C por 24 e 48 hs em presença/ou não de dispersão aquosa de polimetacrilato (Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D) para obtenção de filmes isolados pelo processo “*casting*” em placa de Teflon<sup>®</sup>, conforme Figura 2.

Diferentes quantidades de Pect-GMA foram adicionadas em soluções de PS (0,01M e 0,001M), conforme **Tabela I**, e deixadas sob agitação magnética por um período de aproximadamente 2 horas em temperatura ambiente ( $TA=25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2.0$ ).

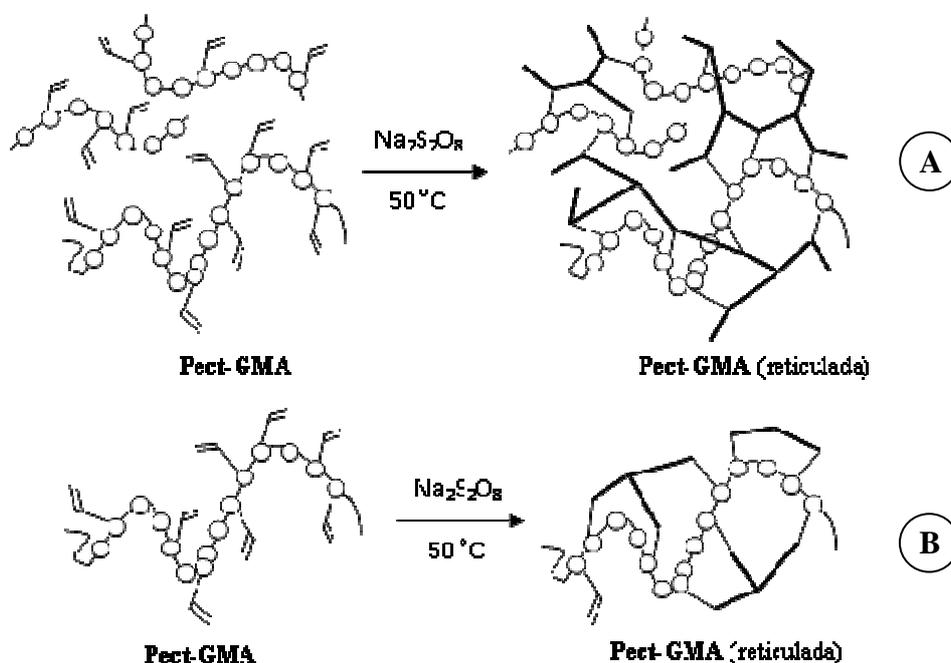


Figura 2 - Representação esquemática da reticulação da Pect-GMA. Em **A**, ligações intramoleculares e em **B**, ligações intramoleculares e intermoleculares (adaptado de FRANSSEN et al., 1999).

Após esse período de tempo, quantidades variáveis de Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D foram adicionadas, de modo que a massa polimérica final na solução correspondesse sempre a 2 % (p/v). Essa mistura foi mantida sob agitação magnética por mais 1 hora em TA. Durante esse período de homogeneização, foi utilizada bomba de vácuo visando evitar à incorporação de ar e formação de bolhas as misturas poliméricas.

Após o período para completa homogeneização das diferentes misturas, amostras de 10 ml, de cada solução, foram vertidas em placa de Teflon<sup>®</sup>, a qual foi conduzida à estufa, nivelada e mantida a  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  (temperatura mínima para ocorrer a reticulação e para a formação dos filmes) por períodos de 24 e 48 horas.

**Tabela I** - Proporção dos filmes Padrões (100:00 Pect-GMA) e (Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D: Pect-GMA).

<b>Composição dos filmes Padrões (100:00 Pect-GMA)</b>		
<b>Filme</b>	<b>Tempo de Secagem</b>	<b>Concentração Persulfato de sódio</b>
n1	24 h	0,01 M
n2	24 h	0,001 M
n3	48 h	0,01 M
n4	48 h	0,001 M

<b>Composição dos filmes com Diferentes Composições (Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D: Pect-GMA)</b>		
<b>Filme</b>	<b>Tempo de Secagem</b>	<b>Concentração Persulfato de sódio</b>
n1 (90:10)	48 h	0,01 M
n2 (70:30)	48 h	0,01 M
n3 (90:10)	48 h	0,001 M
n4 (70:30)	48 h	0,001 M
n5 (90:10)	24 h	0,01 M
n6 (70:30)	24 h	0,01 M
n7 (90:10)	24 h	0,001 M
n8 (70:30)	24 h	0,001 M

### **Caracterização morfológica macroscópica dos filmes**

É de fundamental importância a verificação das características morfológicas macroscópicas dos filmes, especialmente no tocante à presença de bolhas de ar e/ou rachaduras, uma vez que a integridade dos filmes garantirá a reprodutibilidade e execução das demais análises realizadas neste trabalho, em especial, os ensaios de permeabilidade. As espessuras dos filmes foram determinadas utilizando Micrômetro (Mitutoyo<sup>®</sup>) a partir de 5 pontos escolhidos aleatoriamente na superfície para cada filme. Em seguida, os filmes selecionados foram armazenados em dessecador (contendo sílica gel) até o momento dos outros ensaios (CAVALCANTI et al., 2002; CODAGNONE et al., 2004; OLIVEIRA & CAVALCANTI, 2007 e BUNHAK et al., 2007 *a, b*).

### **Estudo de Permeabilidade / Transmissão de Vapor d'água (TVA)**

A determinação da Transmissão de vapor d'água constitui método simples e de fácil execução para avaliar preliminarmente a permeabilidade através de filmes poliméricos quando comparado aos tradicionais métodos de difusão. Sendo capaz de

fornecer informação valiosa sobre a capacidade de proteção de diversos materiais (papéis, plástico, embalagens, etc...) contra a umidade do meio ambiente, inclusive dos materiais poliméricos envolvidos na tecnologia de revestimento farmacêutico durante a estocagem (AKHGARI et al., 2006 e BUNHAK et al., 2007 a).

O estudo de Transmissão de Vapor d'água (TVA) foi desenvolvido de acordo com o método "B" da ASTM (*American Society for Testing and Material*) designado E96-66, usando cúpulas de permeabilidade (modelo "Payne permeability cup", Bélgica), conforme Figura 3. Os filmes candidatos à investigação (com área de 10 cm<sup>2</sup>) foram fixados às cúpulas individualmente, nas quais havia sido colocada água destilada (10 ml). O conjunto (n=3; cúpula + água destilada + amostra filme) foi então pesado no tempo zero e armazenado em dessecador contendo sílica-gel desidratada. O dessecador foi deixado à temperatura e umidade ambientes. As cúpulas de cada filme foram pesadas (em triplicata) nos intervalos de tempo: 0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas. A cada intervalo de 24 horas, a amostra de sílica-gel foi trocada por outra desidratada (110 °C/1h).

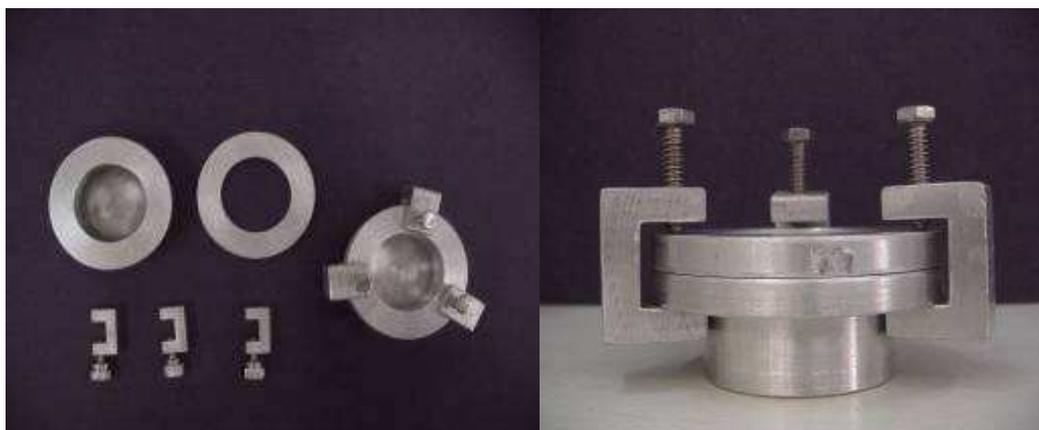


Figura 3 - Cúpulas de permeabilidade (modelo "Payne permeability cup", Bélgica), desenvolvido de acordo com o método "B" da ASTM, E96-66.

As perdas de massa das cúpulas nos respectivos intervalos de tempo foram registrados e aplicados na equação 1, sendo esta utilizada para calcular a taxa de transmissão de vapor d'água transportada através dos filmes. O cálculo da TVA foi padronizado para um período de 24 h.

$$TVA = \frac{g \times 24}{t \times a} \quad (1)$$

Onde “g” é a perda de massa, “t” é o tempo medido em horas onde houve perda de massa, e “a” é a área do filme (CAVALCANTI et al., 2002; BUNHAK et al., 2007 a, b; CAVALCANTI et al., 2005; OLIVEIRA & CAVALCANTI 2007 e LAMIM et al., 2006).

### **Determinação dos Índices de Intumescimento no Equilíbrio ( $I_{eq}$ %)**

O conhecimento do grau de hidrofiliicidade dos filmes isolados quando em contato com os fluidos fisiológicos constitui uma característica imprescindível, fenômeno que deverá garantir o acesso das enzimas bacterianas existentes na porção distal do TGI. Além disso, a avaliação do índice de intumescimento pode representar o primeiro passo para a elaboração de um modelo matemático capaz de prever a cinética de liberação (MULHBACHER et al., 2004).

Os filmes nas suas variadas associações foram cuidadosamente cortados com tesoura cirúrgica (modelo *Professional F/1*) em aproximadamente 1,0 cm<sup>2</sup>, sendo, em seguida, distribuídos no interior de placas de Petri devidamente identificadas.

Posteriormente, as placas de Petri foram colocadas em estufa a 50 °C, por 10 horas, atingindo perda total da umidade. Após este intervalo de tempo, as placas foram retiradas e mantidas em dessecadores (com sílica gel) até realização do experimento de hidratação.

Fluídos de simulação do TGI foram produzidos conforme a 28<sup>a</sup> Farmacopéia dos Estados Unidos (*USP XXVIII*). As amostras secas das diferentes associações foram inicialmente pesadas em balança analítica e imediatamente imersas em recipientes contendo Fluido de Simulação Gástrica (FSG, pH 1,2) e Fluido de Simulação Intestinal (FSI, pH 6,8), sem a presença de enzimas digestivas, à temperatura de 37 °C. As amostras foram removidas dos meios de simulação após tempo de imersão (1 hora) com auxílio de pinça e cuidadosamente enxugadas entre duas folhas de papel de filtro e repesadas. O mesmo procedimento foi adotado para todas as outras amostras, sempre em triplicata.

O índice de intumescimento no equilíbrio ( $I_{eq}$  %) é um parâmetro que relaciona a massa de fluido absorvida (neste caso FSG ou FSI) a partir do filme pela massa de filme seco. Considera-se o intumescimento no equilíbrio quando a variação da massa do filme intumescido em função do tempo for zero. Para o cálculo do  $I_{eq}$  % foi utilizada a equação 2:

$$I_{eq} (\%) = \frac{M_i - M_s}{M_s} \times 100 \quad (2)$$

Onde  $M_i$  é a massa da membrana intumescida no equilíbrio e  $M_s$  a massa do filme seco. A determinação do  $I_{eq}$  % foi realizada seguindo procedimentos semelhantes aos estabelecidos em literatura por Cavalcanti et al., 2002, Codagnone et al., 2004, Bunhak et al., 2007 a, b, Oliveira e Cavalcanti, 2007 e Akhgari et al., 2006.

### **Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Amostras dos filmes isolados, secos e/ou imersos em FSG (pH= 1,2) e FSI (pH= 6,8), foram congeladas com nitrogênio líquido após realização dos ensaios de intumescimento ( $I_{eq}$  %) e liofilizadas à -55 °C (Liofilizador Martin Christ<sup>®</sup>, Alpha 1-1/DL) por 6 horas na tentativa de preservar suas características morfológicas em ambas as condições.

Micrografias dos filmes isolados foram obtidas através do Microscópio Eletrônico de Varredura (Shimadzu modelo SS-550 – Superscan), operado em 12 keV. Todas as micrografias foram obtidas das superfícies de fratura recobertas com ouro. Até o momento da realização das análises, todas as amostras foram devidamente acondicionadas em frascos contendo sílica gel desidratada (110 °C/1h).

### **Análise estatística**

Análises estatísticas foram usadas para determinar o nível de significância existente entre os valores obtidos em ensaios de determinação do índice de intumescimento, assim como da transmissão de vapor d'água para as diferentes associações, envolvendo os filmes com Pect-GMA. Estas análises foram realizadas com ajuda do programa *GraphPad Prism*<sup>®</sup> (versão 2.01, 1996). Os diferentes resultados referentes aos coeficientes de  $I_{eq}$  % e TVA, obtidos nas diferentes circunstâncias (meio de simulação do TGI), foram inicialmente avaliados usando análise de variância (ANOVA), sendo os resultados considerados significativos quando  $p < 0,05$ . Quando o conjunto desses valores forneceu parâmetros significativos, realizamos a aplicação das médias dos dados obtidos no teste de múltipla comparação de Tukey, visando comparar

o papel das diferentes composições poliméricas. Também sendo considerados significativos os valores registrados para  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Espectroscopia de Infra-vermelho (*FT-IR*)

Na Figura 3 são visualizados os espectros da pectina (Spectrum<sup>®</sup>, de baixa metoxilação) e pectina modificada com GMA (Pect-GMA). A presença de duas bandas no espectro de Pect-GMA caracteriza a modificação química da pectina com GMA, da seguinte forma: a primeira banda, em  $1657\text{ cm}^{-1}$ , foi atribuída a vibrações ( $\text{C}=\text{C}$ ) dos grupos vinílicos oriundos do GMA.

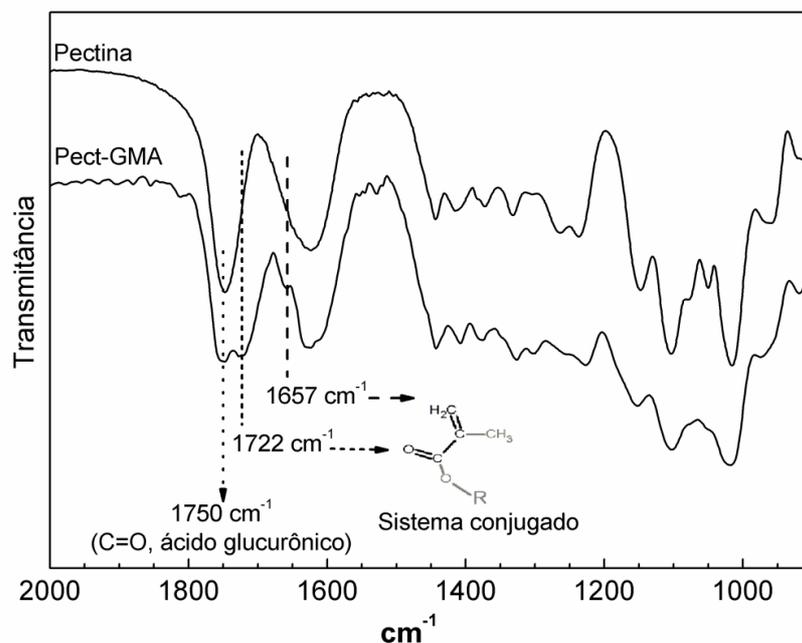


Figura 3 - Espectro de *FT-IR* da pectina Spectrum<sup>®</sup> (baixa metoxilação) e da Pect-GMA. Os picos em  $1657$  e  $1722\text{ cm}^{-1}$  caracterizam a modificação química da pectina.

A segunda banda, na região de  $1722\text{ cm}^{-1}$  no espectro da Pect-GMA, foi atribuída à deformação axial de  $\text{C}=\text{O}$  de grupos éster conjugado, também oriundo do GMA. Nossos resultados encontram conformidade com trabalhos realizados por Reis et al. (2003 e 2006), quando investigaram a modificação química da galactomanana e da goma arábica com GMA.

## **Análise térmica (DSC e TGA)**

Comparando o comportamento da Pect-GMA com a pectina natural (baixa metoxilação) a partir dos resultados de *DSC*, conforme a Figura 4 pode-se observar que o pico endotérmico de desidratação da pectina modificada (60 – 150 °C) diminui bruscamente de intensidade e desloca-se para temperaturas mais baixas quando comparada com a pectina natural. Esse resultado sugere que a pectina modificada com GMA apresenta menor quantidade de grupos carboxílicos disponíveis para interagir com moléculas de água porque a incorporação do GMA diminui a hidrofilicidade da pectina. Estas evidências encontram amparo em resultados similares obtidos em trabalhos realizados por Zohuriaan e Shokrolahi (2004), os quais avaliaram o comportamento térmico de gomas naturais e modificadas.

Além disso, os resultados analisados no termograma da Figura 4 foi possível observar a presença de picos exotérmicos do produto modificado (Pect-GMA) e da pectina natural em temperaturas mais elevadas (235 °C e 241 °C, respectivamente). Segundo trabalhos realizados por Zohuriaan e Shokrolahi (2004) avaliando termograma atribuído a metilcelulose, em geral, temperaturas elevadas como as registradas estão associadas à desidratação, despolimerização e pirólise devido à evolução de H<sub>2</sub>O, CO e CH<sub>4</sub>. Porém, em polissacarídeos que possuem em sua constituição grupos funcionais como ácido carboxílico, a exemplo da pectina natural e Pect-GMA, a geração de CO<sub>2</sub> provavelmente está relacionada com as transições térmicas observadas. Nossos resultados estão em concordância com resultados observados por Zohuriaan e Shokrolahi (2004) quando investigaram as gomas xantana, tragacanta e alginato de sódio. Também foi possível observar que as energias liberadas (as quais são diretamente proporcionais à área sob os picos) atribuídas às transições exotérmicas, observadas para a pectina modificada (Pect-GMA, 234 J/g), em relação à pectina natural (219 J/g), aumentaram provavelmente devido à modificação estrutural realizada.

Zohuriaan e Shokrolahi (2004) e Iijima et al. (2000) atribuem que a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) não pôde ser registrada em termogramas semelhantes, provavelmente devido à interferência da curva endotérmica atribuída à presença de umidade.

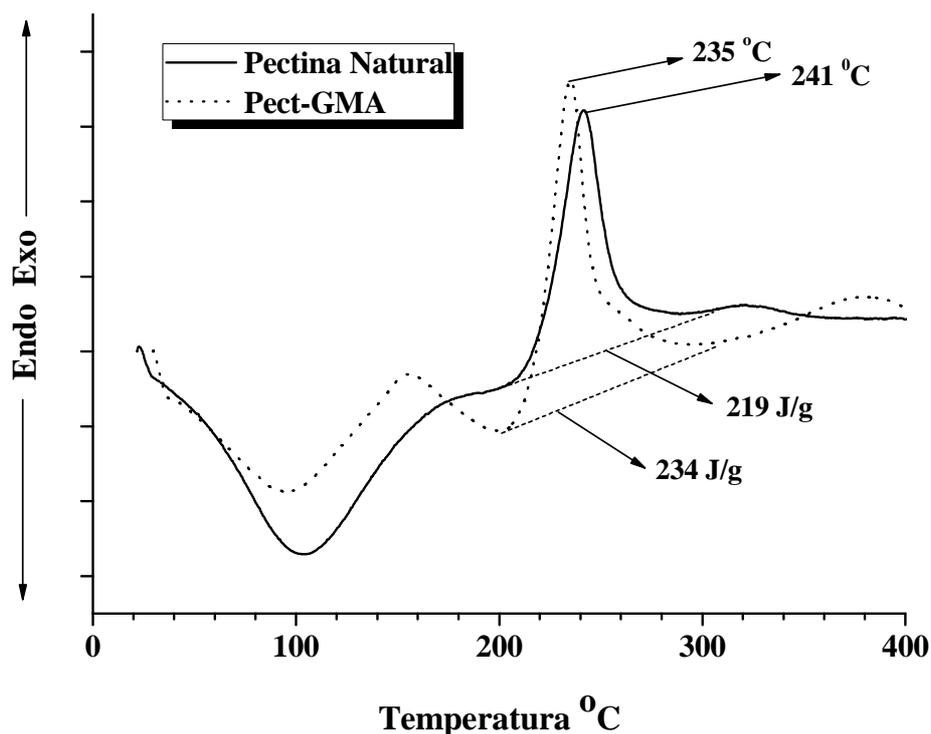


Figura 4 - Gráfico de DSC mostrando picos endotérmicos relacionados à desolvatação de água e picos exotérmicos relacionados à decomposição térmica da pectina natural (Spectrum<sup>®</sup>) e modificada (Pect-GMA), sugerindo a provável ocorrência de modificação da pectina com GMA.

Os resultados obtidos por *DSC* (Figura 4), sugerem ocorrência da modificação química, ou seja, obtenção da pectina metacrilatada (Pect-GMA). Essa modificação no comportamento térmico da pectina sugere a obtenção de material com menor teor de grupos carboxílicos que a pectina natural (os quais estão associados à sua solubilidade em água).

Avaliando a Figura 5 foi possível observar e comparar o comportamento térmico da amostra de pectina pura em relação ao da pectina modificada com GMA. Neste termograma, a perda de massa inicial foi observada entre 0 °C e 200 °C, para as amostras de pectina natural e modificada, sendo atribuída a dessorção de umidade da estrutura do polissacarídeo. O mesmo comportamento pôde ser observado em trabalho anteriormente realizado por Zohuriaan e Shokrolahi, (2004) quando analisaram polissacarídeos naturais e modificados.

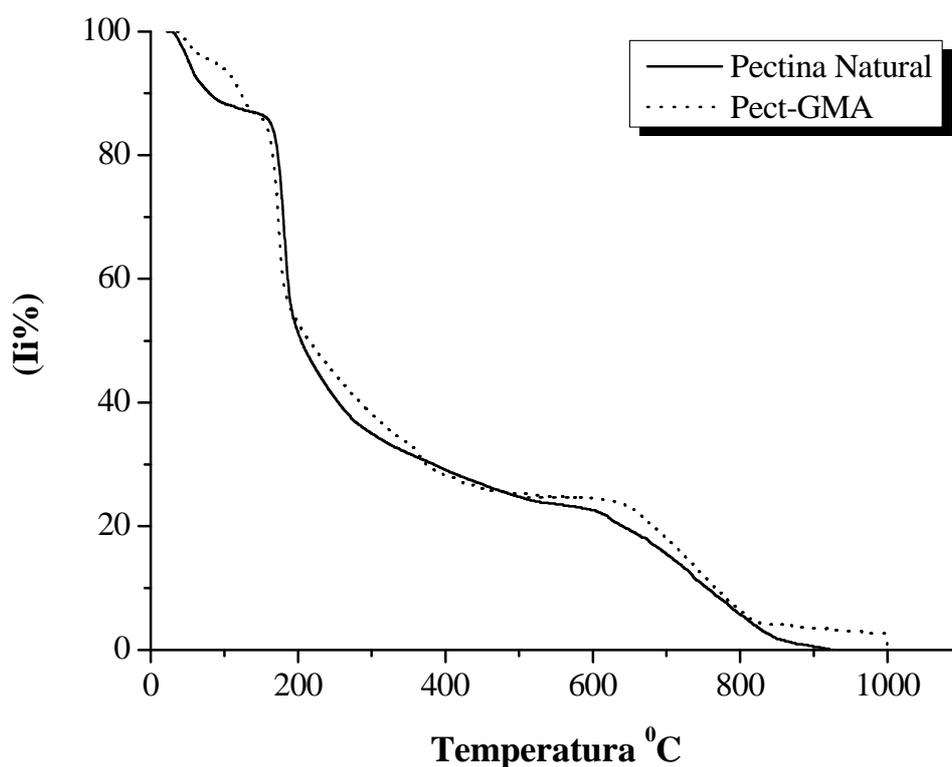


Figura 5 - Gráfico de TGA comparando a perda de massa e a estabilidade térmica entre a pectina modificada (Pect-GMA) e a pectina natural (Spectrum<sup>®</sup>), sugerindo provável ocorrência de modificação química estrutural da pectina com o GMA.

A derivada do TGA (*DTG*) das duas pectinas, na Figura 6, mostra que a temperatura da etapa principal de foi de aproximadamente 181 °C para pectina natural e 173 °C para a modificada (Pect-GMA). Além disso, diferentemente da pectina natural, na Figura 6 é possível observar outra curva em aproximadamente 121 °C atribuída à decomposição térmica da Pect-GMA. Estes eventos sugerem que a Pect-GMA apresenta menor estabilidade térmica quando comparada à pectina natural.

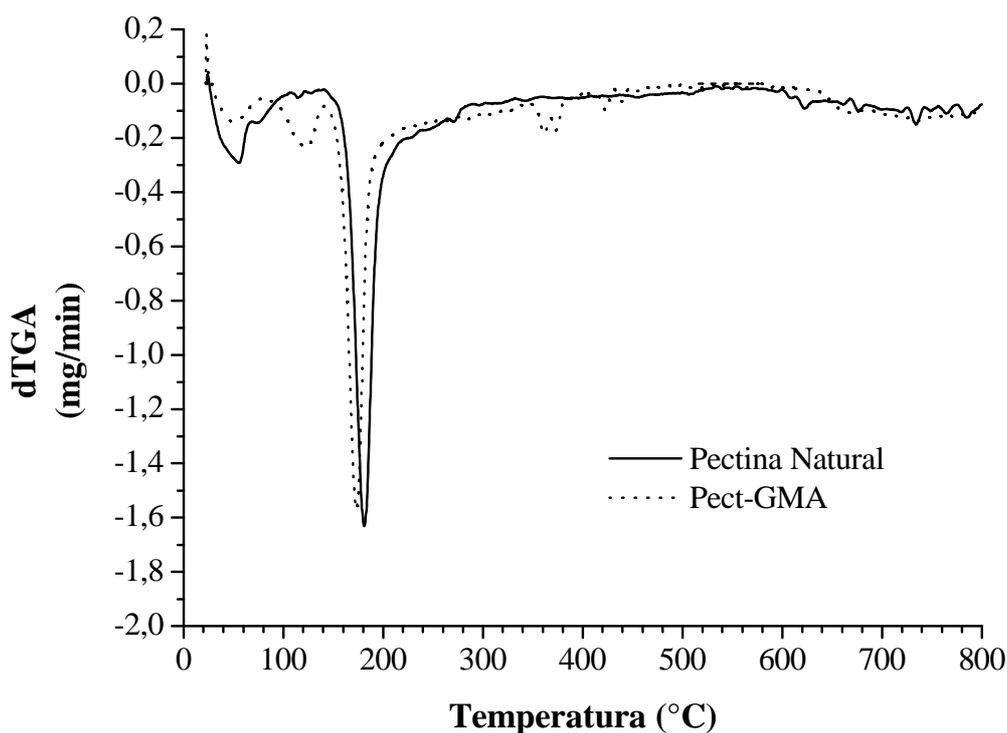


Figura 6 - Gráfico de DTG comparando as principais temperaturas de decomposição térmica entre a pectina natural (Spectrum<sup>®</sup>) e a pectina modificada (Pect-GMA).

### Características macroscópicas dos filmes

Após avaliação morfológica macroscópica conforme transcrito na **Tabela II**, encontramos os resultados das características das composições poliméricas propostas. Os filmes isolados apresentaram características de transparência e flexibilidade adequadas aos ensaios. Entretanto, vale salientar, conforme registrado na **Tabela II**, que a flexibilidade de alguns filmes foi reduzida. Esta característica está provavelmente relacionada à presença do polimetacrilato envolvido na formulação dos filmes, uma vez que essa redução de flexibilidade não foi observada para os filmes isolados padrões (100: 00 Pect-GMA), independentemente da variação da concentração de PS e do tempo de secagem aplicado na formação dos filmes. Podemos também sugerir que o aumento da concentração da pectina modificada (Pect-GMA) nas composições obtidas parece não ter induzido originação variações em suas características macroscópicas, relativas à transparência, além da flexibilidade, conforme registrado na **Tabela II**.

**Tabela II** - Principais características macroscópicas observadas nos diferentes filmes Padrões (100:00 Pect-GMA) e nos filmes com diferentes composições (Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D: Pect-GMA).

<b>Composição dos filmes Padrões (100:00 Pect-GMA)</b>						
<b>Tempo Secagem</b>	<b>Concentração [PS]</b>	<b>Separação de Fase</b>	<b>Presença Rachadura</b>	<b>Bolha de Ar</b>	<b>Transparência</b>	<b>Flexibilidade</b>
24h	0,01 M	0	0	0	+++	+++
24h	0,001 M	0	0	0	+++	+++
48h	0,01 M	0	0	0	+++	+++
48h	0,001 M	0	0	0	+++	+++

<b>Composição dos filmes em diferentes associações (Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D: Pect-GMA)</b>						
<b>Tempo Secagem</b>	<b>Concentração [PS] &amp; Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D: Pect-GMA</b>	<b>Separação de Fase</b>	<b>Presença Rachadura</b>	<b>Bolha de Ar</b>	<b>Transparência</b>	<b>Flexibilidade</b>
n.1 (48 h)	[0,01 M] 90:10	0	0	0	+++	++
n.2 (48 h)	[0,01M] 70:30	0	0	0	+++	++
n.3 (48 h)	[0,001M] 90:10	0	0	0	+++	++
n.4 (48 h)	[0,001M] 70:30	0	0	0	+++	++
n.5 (24 h)	[0,01 M] 90:10	0	0	0	+++	++
n.6 (24 h)	[0,01 M] 70:30	0	0	0	+++	++
n.7 (24 h)	[0,001M] 90:10	0	0	0	+++	++
n.8 (24 h)	[0,001M] 70:30	0	0	0	+++	++

0: Não observada alteração; +: Levemente presente; ++: Mediamente presente; +++: Fortemente presente

Interessante observar, conforme a **Tabela III**, que o único aumento de espessura registrado foi em relação aos filmes padrões, estando este provavelmente relacionado ao aumento no tempo de secagem, de 24 horas para 48 horas. Nos resultados da **Tabela III**, não foram observadas variações dos valores das espessuras dos filmes obtidos (Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D: Pect-GMA) quando comparados entre si, e em relação aos padrões (Pect-GMA 100:00), independentemente do aumento da concentração de PS, do polissacarídeo modificado e do tempo de secagem. Podemos sugerir como interpretação a este evento, ter havido influência sobre o processo de coalescência durante a formação dos filmes, refletindo em um maior entrelaçamento das cadeias poliméricas e,

conseqüentemente, reduzindo a espessura dos filmes padrões obtidos, os quais foram submetidos a um tempo maior de secagem (48 horas).

**Tabela III** - Valores das médias das espessuras dos filmes obtidos, Padrões (100:00 Pect-GMA) e dos filmes com diferentes composições (Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D: Pect-GMA), (n=5).

<b>Composição dos filmes Padrões (100:00 Pect-GMA)</b>			
<b>Tempo de Secagem</b>	<b>Concentração de [PS]</b>	<b>Espessuras (mm)</b>	<b>Desvio padrão</b>
24h	0,01 M	0,1140	± 0,0213
24h	0,001 M	0,1167	± 0,0150
48h	0,01 M	0,0633	± 0,0082
48h	0,001 M	0,0633	± 0,0135

<b>Composição dos filmes em diferentes associações (Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D: Pect-GMA)</b>			
<b>Tempo de Secagem</b>	<b>Concentração [PS] e Associações</b>	<b>Espessuras (mm)</b>	<b>Desvio padrão</b>
n.1 (48 h)	[0,01 M]	0,0580	± 0,0101
	90:10		
n.2 (48 h)	[0,01M]	0,0747	± 0,0083
	70:30		
n.3 (48 h)	[0,001M]	0,0853	± 0,0203
	90:10		
n.4 (48 h)	[0,001M]	0,0687	± 0,0130
	70:30		
n.5 (24 h)	[0,01 M]	0,0507	± 0,0088
	90:10		
n.6 (24 h)	[0,01 M]	0,0587	± 0,0119
	70:30		
n.7 (24 h)	[0,001M]	0,0787	± 0,0113
	90:10		
n.8 (24 h)	[0,001M]	0,0700	± 0,0181
	70:30		

A partir da metodologia utilizada conforme registrado na **Tabela II**, a análise das características macroscópicas evidenciou homogeneidade na distribuição dos componentes das diferentes composições propostas para fabricação dos filmes, caracterizando adequada e compatível dispersão entre os constituintes.

## **Estudo de Permeabilidade / Transmissão de Vapor d'água (TVA)**

Conforme podemos observar na Figura 7 e 8, os valores de permeação ao vapor d'água dos filmes padrões (100:00 Pect-GMA) foram influenciados pelo tempo de secagem e grau de reticulação dos filmes isolados. Entretanto, o conjunto desses valores após análise de variância (ANOVA) não apresentaram resultados estatisticamente significativos ( $p < 0,05$ ), evidenciando que a variação da concentração do PS, assim como, os fatores acima mencionados não influenciaram significativamente a permeabilidade.

Estes resultados sugerem que provavelmente pode ter havido influência do processo de coalescência durante a formação dos filmes, refletindo em um maior entrelaçamento das cadeias poliméricas conforme anteriormente discutido, e naturalmente afetando a permeabilidade.

Avaliando as composições envolvendo a Pect-GMA associada ao polimetacrilato Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D também foi possível observar, conforme a Figura 9 e 10 e Tabela IV, que o aumento do tempo de secagem, influenciou as taxas de TVA, ficando estas aumentadas. Entretanto, observamos que a maior concentração de PS, reduziu a permeabilidade, provavelmente em decorrência de uma maior reticulação proporcionada pela geração de radicais livres, os quais são responsáveis pelo ataque às ligações duplas dos grupamentos vinílicos presentes na Pect-GMA (REIS et al., 2003 e 2006 e VERVORT et al., 1998). Apesar das diferenças observadas, o conjunto desses valores não apresentou resultados estatisticamente significativos ( $p < 0,05$ ), após análise de variância (ANOVA).

Outra observação importante foi que o aumento da concentração da Pect-GMA registrou menores taxas de TVA, conforme Tabela IV e Figura 10. Nossos resultados apresentaram comportamentos diferentes dos trabalhos realizados por Bunhak et al. (2007, a e b), os quais trabalhando com a incorporação do sulfato de condroitina natural ou reticulado, na formação de filmes isolados de Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D ou etilcelulose (Surelease<sup>®</sup>) observaram aumento na permeabilidade, dependente e proporcional ao aumento da concentração do polissacarídeo. Na mesma perspectiva Codagnone et al. (2004), investigando a formação de filmes isolados de Surelease<sup>®</sup> associados à goma guar fosfatada, constataram um aumento da taxa de transmissão de vapor d'água proporcional e dependente do aumento da concentração do polissacarídeo incorporado.

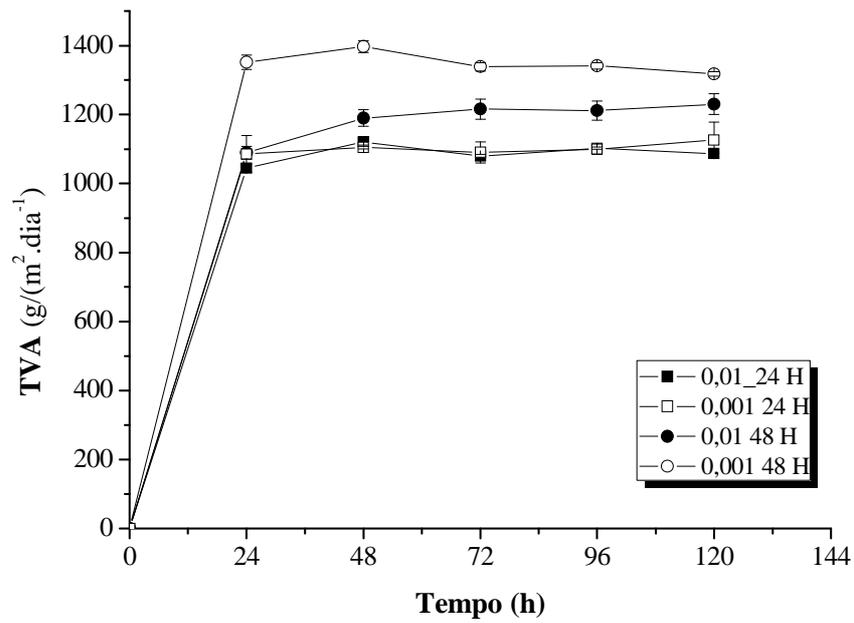


Figura 7 - Gráficos da Transmissão de Vapor d'água ( $TVA = g/(m^2 \cdot dia^{-1})$ ) dos filmes Controles de Pect-GMA 100:00 (concentrações de persulfato de sódio: 0,01M e 0,001M e tempos de secagem: 24 e 48 horas, (n = 3).

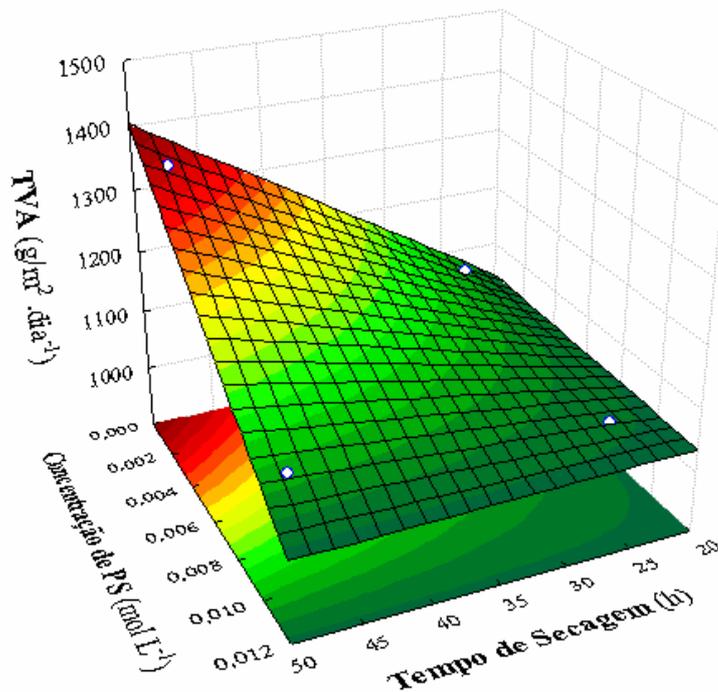


Figura 8 – Gráfico do planejamento fatorial  $2^2$  da Transmissão de Vapor d'água ( $TVA = g/(m^2 \cdot dia^{-1})$ ) dos filmes 90:05:05, 85:10:05 e 80:15:05 (RS 30 D + Pect-TMFT -A e -E + Bioecolians® (n = 3).

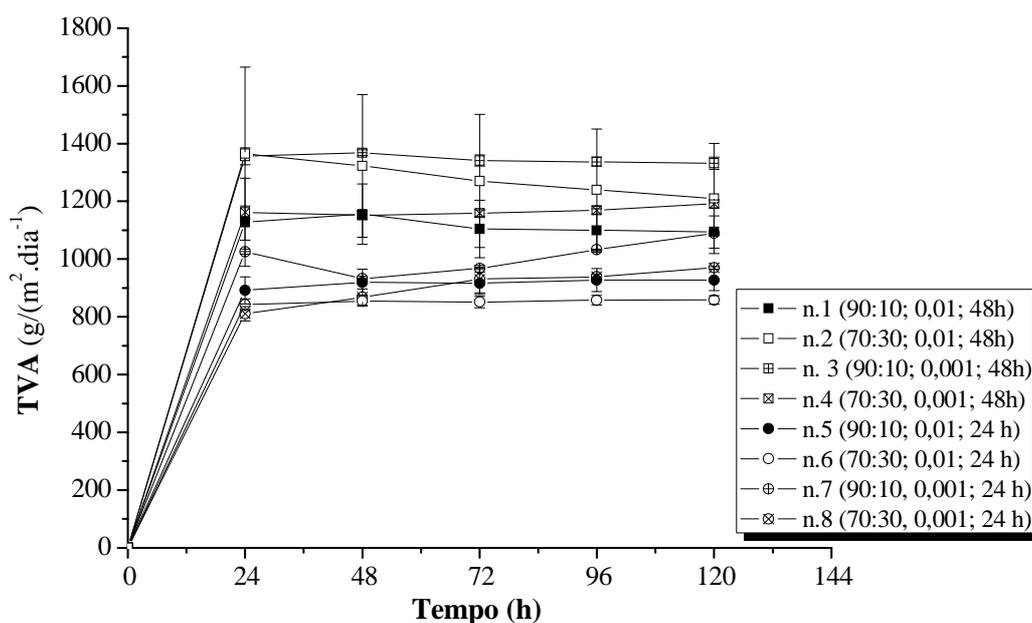


Figura 9 - Transmissão de Vapor d'água ( $TVA = g/(m^2.dia^{-1})$ ) dos filmes constituídos por Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D: Pect-GMA em diferentes associações, codificados como n.1, n.2, n.3, n.4, n.5, n.6, n.7 e n.8, ( $n = 3$ ).

**Tabela IV** - Transmissão de Vapor d'água ( $TVA = g/(m^2.dia^{-1})$ ) dos filmes Controles Pect-GMA 100:00 (concentrações de persulfato de sódio: 0,01M e 0,001M e tempos de secagem: 24 e 48 horas, ( $n = 3$ )).

Associação polimérica Eudragit <sup>®</sup> RS 30 D: Pect-GMA	Valores perda de massa (g/120 h)	TVA ( $g/m^2$ 24 h)
n.1 (90:10, [0,01 PS], 48 h)	5,4693 ( $\pm 0,279$ )	1093,8533
n.2 70:30, [0,01 PS], 48 h)	6,0492 ( $\pm 0,952$ )	1209,8333
n.3 (90:10, [0,001 PS], 48 h)	6,6599 ( $\pm 0,107$ )	1331,9867
n.4 (70:30, [0,001 PS], 48 h)	5,9546 ( $\pm 0,068$ )	1190,9200
n.5 (90:10, [0,01 PS], 24 h)	4,6387 ( $\pm 0,183$ )	927,7400
n.6 (70:30, [0,01 PS], 24 h)	4,2904 ( $\pm 0,072$ )	858,0867
n.7 (90:10, [0,001 PS], 24 h)	5,4449 ( $\pm 0,024$ )	1088,9733
n.8 (70:30, [0,001 PS], 24 h)	4,8465 ( $\pm 0,025$ )	969,3000

Avaliando os fenômenos observados em nosso estudo e comparando-os com os disponíveis na literatura científica, poderemos sugerir que o aumento da pectina modificada (30 %) nos filmes, proporcionou maior número de interações iônicas entre os grupos carboxílicos da pectina (livres de substituição pelo GMA) com os grupos amônio quaternários do Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D. Esta interação provocou um maior entrelaçamento entre as cadeias poliméricas e, conseqüentemente, menores taxas de TVA (permeabilidade). Semdé e colaboradores (1998) durante avaliação de filmes

contendo Eudragit® RS 30 D associado à pectina de baixa metoxilação e pectinato de cálcio sugeriram interpretação semelhante desses fenômenos.

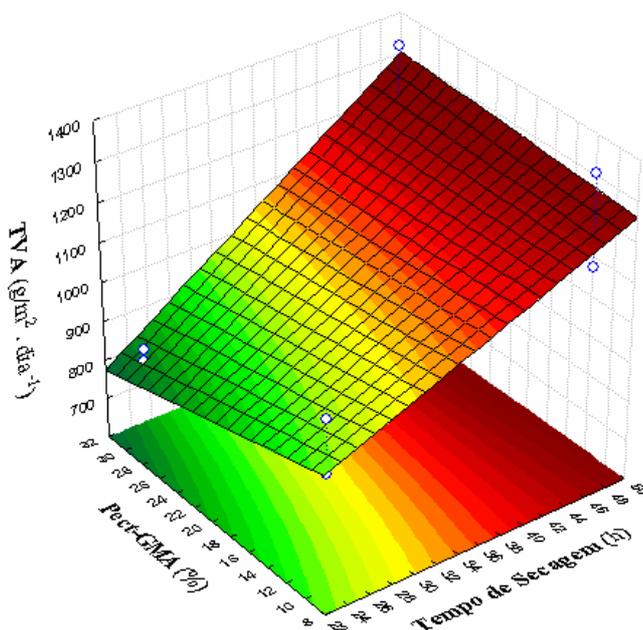


Figura 10 – Gráfico do planejamento fatorial  $2^3$  da Transmissão de Vapor d'água (TVA =  $\text{g}/(\text{m}^2 \cdot \text{dia}^{-1})$ ) dos filmes constituídos por Eudragit® RS 30 D: Pect-GMA em diferentes associações, codificados como n.1, n.2, n.3, n.4, n.5, n.6, n.7 e n.8, ( $n = 3$ ).

Além da hipótese acima mencionada, poderemos sugerir que a pectina metacrilatada adicionada em maior concentração, reduziu a porção hidrofílica dos filmes (devido à incorporação de GMA). Esta habilidade da Pect-GMA pode ter interferido no transporte de moléculas através da superfície dos filmes, refletindo em menores taxas de TVA.

#### Determinação do Índice de Intumescimento no Equilíbrio ( $I_{eq}$ %)

A partir dos resultados obtidos com a realização do ensaio de TVA, o filme isolado n.º. 6, constituído por Eudragit® RS 30 D e Pect-GMA (70: 30, 0,01 M de PS e 24 hs de secagem), foi selecionado para o ensaio de determinação do índice de intumescimento em FSG e FSI, uma vez que apresentou menor taxa de transmissão aos vapores d'água quando comparado com os demais.

O índice de intumescimento foi aplicado para determinar o grau de hidratação do filme isolado obtido, conforme a Figura 9. A análise estatística (ANOVA) sobre o

conjunto dos dados gerados no experimento realizado, registrou diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os ensaios realizados em FSG (pH = 1,2) e FSI (pH = 6,8).

Observando-se o gráfico da Figura 9 foi possível constatar que o aumento dos valores de hidratação do filme isolado está diretamente relacionado ao aumento de pH dos meios de simulação FSG e FSI. Esta condição pode ser atribuída pelo fato de que o meio de simulação FSG possui um pH menor (1,2) e isto interfere de forma significativa na hidratação do polissacarídeo metacrilatado, o qual possui uma característica aniônica devido à presença de grupos ácido carboxílicos (livres de substituição pelo GMA). Segundo relatam Mulhbacher et al. (2004), com o aumento do pH espera-se que o intumescimento de polímeros aniônicos, a exemplo da pectina metacrilatada, aumente.

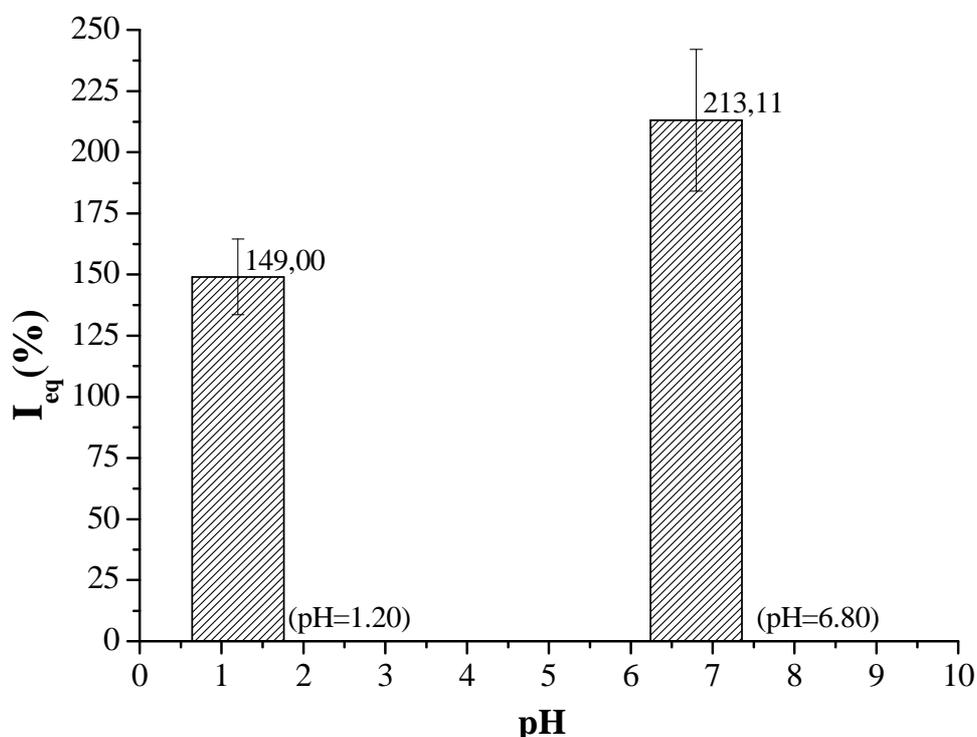


Figura 9 - Representação gráfica do índice de intumescimento no equilíbrio ( $I_{eq}$  %), após 1 hora. Avaliação da hidratação do filme nº. 6 constituído por Eudragit® RS 30 D: Pect-GMA (70: 30, 0,01 M de PS e 24 hs de secagem) nos fluídos de simulação gástrica (FSG) e intestinal (FSI), (n=3).

Assim, como observado nesse trabalho, de modo semelhante em nossos resultados, em FSG a hidratação dos filmes contendo pectina metacrilatada foi menor, devido ao pH ácido, o que causa um maior entrelaçamento da malha polimérica, diminuindo conseqüentemente, a absorção de água. Todavia de modo contrário, nas

condições onde aplicamos o FSI, a faixa de pH aumentada provocou expansão da malha polimérica, gerando conseqüentemente uma maior hidratação durante a execução do experimento.

Estes resultados sugerem que a presença da Pect-GMA confere uma característica pH-dependente ao filme isolado obtido, impedindo a liberação prematura de fármacos em regiões superiores do TGI. Porém, quando em contato com fluídos biológicos com pH próximo do neutro (característico de regiões distais do TGI), a membrana apresenta ótima capacidade de hidratação, facilitando a liberação de fármacos.

Além disso, a presença da pectina possibilita a vulnerabilidade da membrana por enzimas produzidas pela microflora colônica, tornando-o potencialmente capacitado para o desenvolvimento de revestimento para sistemas sólidos orais com cinética de liberação modificada de fármacos.

Porém, ensaios posteriores de colo-especificidade *in vitro* e/ou *vivo*, poderão elucidar a efetiva aplicação deste novo material.

### **Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Observando-se as micrografias obtidas das amostras dos filmes após realização do ensaio de  $I_{eq}$  %, conforme a Figura 10 é possível observar mudanças em suas características morfológicas quando comparadas com a amostra do filme seco.

Quando submetido ao FSG (pH= 1,2) foi possível observar uma superfície bastante heterogênea com a presença marcante da Pect-GMA entre regiões ricas de Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D (Figura 10 B). De modo contrário, quando em pH= 6,8 (FSI), o filme passou a apresentar falha em determinadas regiões (Figura 10 A), provavelmente devido ao maior relaxamento entre as cadeias poliméricas, conforme anteriormente discutido. A partir desta observação foi possível sugerir que esse fenômeno está relacionado à maior hidratação da película durante o ensaio de ( $I_{eq}$  %) em FSI, conforme a Figura 9.

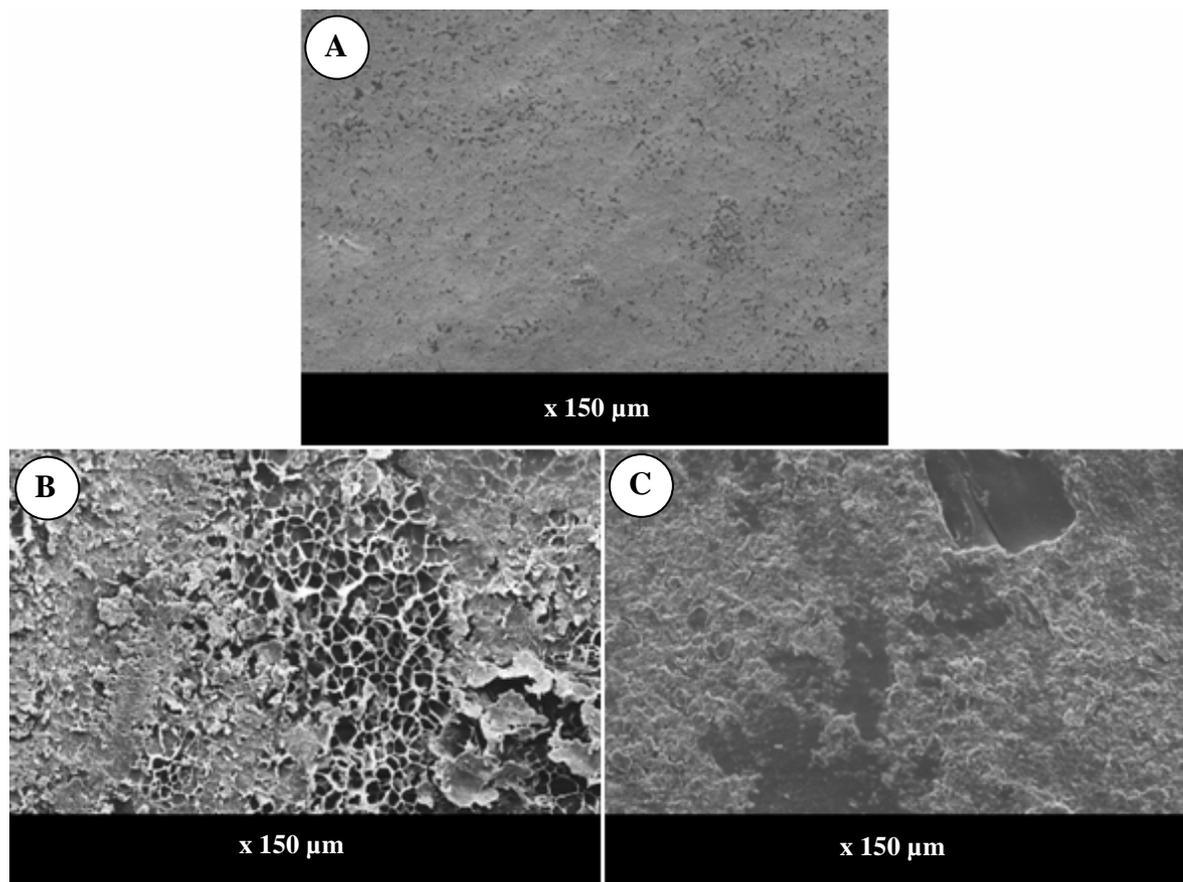


Figura 10 – Micrografias obtidas por meio de MEV do filme de Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D: Pect-GMA (70: 30, 0,01 M de PS e 24 hs de secagem) em: (A): amostra seca; (B): pH= 1,2 e (C): pH= 6,8.

## CONCLUSÃO

Os nossos resultados sugerem que as metodologias aplicadas neste estudo relativas à modificação/reticulação da pectina (de baixa metoxilação) permitiram a geração de novo material (Pect-GMA) com solubilidade reduzida, adequado ao desenvolvimento de filmes isolados a partir da associação com o polimetacrilato Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D.

O filme isolado formado com a Pect-GMA associada ao Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D gerou material com potencial farmacotécnico, detentor de habilidades atrativas ao desenvolvimento de novos sistemas para administração oral de fármacos. Quando aplicado como revestimento farmacêutico este material poderá impedir a liberação prematura do fármaco em região proximal do TGI além de garantir o efetivo controle na liberação sítio-alvo-específica de fármacos, devido à perspectiva de degradação específica da película por enzimas produzidas pela microflora colônica. Porém, ensaios

posteriores de cólon-especificidade *in vitro* e/ou *vivo*, poderão elucidar a efetiva aplicação deste novo material.

## ABSTRACT

### **Synthesis and Characterization of Pectin Polysaccharide Crosslinked by Methacrylate Reaction in the Free Films Formation**

In this work the low methoxyl pectin was chemically modified by reaction with glycidyl methacrylate (GMA), obtaining material with lower hydrosolubility. After physiochemical characterization by analyses of FT-IR, DSC and TGA, the methacrylated/modified pectin (Pect-GMA) was crosslinked with sodium persulphate (SP) at 50 °C for 24 and 48 hs in presence or not of aqueous dispersion polymethacrylate (Eudragit® RS 30 D) for obtaining free films by the "casting" process in Teflon® plate. The films were obtained making vary the rates of Pect-GMA, Eudragit® RS 30 D and of the PS (2 % p/v). The free films were characterized by the determination of water vapour transmission (WVT), by the swelling index ( $I_i$  %) in fluids of gastric simulation (FGS) and intestinal (FIS) and by scanning electron microscopy (SEM). The appraised films presented pH-dependence. This can be attributed due to the presence of ionized groups in Pect-GMA. Largest  $I_{eq}$  % was observed at pH = 6.8 when compared to the pH = 1.2, this was related due to the porosity observed in the micrographs of the lyophilized films in FSI. In that way, films with Eudragit® RS 30 D, time dependent polymer, with Pect-GMA, it can be result one action synergic that can favour the specific biodegradation of the film in distal part of the gastrointestinal tract (GIT) by enzymes produced by the colonic microflora, making possible modified release kinetics of drugs.

#### **Uniterms:**

- Methacrylated pectin
- Free films
- Eudragit® RS 30 D
- Modified release

## AGRADECIMENTOS

À empresa Almapal (São Paulo/SP) pelas amostras dos produtos Eudragit® RS 30 D - Degussa/Alemanha e ao Grupo de Materiais Poliméricos e Compósitos (GMPC) do Departamento de Química - UEM pelas amostras de Pectina-USP Spectrum® (CAS 9000-69-5), Metacrilato de Glicidila (GMA, Acros Organics®) e Persulfato de Sódio (Sigma Aldrich®). Projeto Institucional PPG-UEM, processo 144/2006.

## REFERÊNCIAS

- AKHGARI, A.; FARAHMAND, F.; GAREKANI, H. A.; SADEGHI, F.; VANDAMME, T. F. Permeability and swelling studies on free films containing inulin in combination with different polymethacrylates aimed for colonic drug delivery. **Eur. J. Pharm. Sci.**, Amsterdam, v. 28, n. 4, p. 307-314, Mar. 2006.
- BUNHAK, E. J.; MENDES, E. S.; PEREIRA, N. C.; CAVALCANTI, O. A. Influência do Sulfato de Condroitina na Formação de Filmes Isolados de Polimetacrilato: Avaliação do Índice de Intumescimento e Permeabilidade ao Vapor d'água. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 312-317, Mar./Apr. 2007, *a*.
- BUNHAK, E. J.; MENDES, E. S.; PEREIRA, N. C.; CAVALCANTI, O. A. Influência do Sulfato de Condroitina na Formação de Filmes Isolados de Etilcelulose. Avaliação das Características de Hidratação e Permeabilidade. **Latin American Journal of Pharmacy**, La Plata, v. 26, n. 1, p. 89-95, Jan. 2007, *b*.
- CAVALCANTI, O. A.; MOOTER, G. V. Den; CARAMICO-SOARES, I.; KINGET, R. Polysaccharides as Excipients for Colon-Specific Coatings. Permeability and Swelling Properties of Casted Films. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, New York, v. 28, n.2, p. 157-164, Mar. 2002.
- CAVALCANTI, O. A.; SILVA, C. C.; PINEDA, E. A. G.; HECHENLEITNER, A. A. W. Synthesis and Characterization of Phosphated Crosslinked Chondroitin Sulfate: Potential Ingredient for Specific Drug Delivery. **Acta Farm. Bonaerense**, La Plata, v. 24, n. 2, p. 1-5, Apr. 2005.
- CHOURASIA, M. K.; JAIN, S. K. Pharmaceutical approaches to colon targeted drug delivery systems. **J. Pharm. Sci.**, Amsterdam, v. 6, n. 1, p. 33-66, Feb. 2003.
- CODAGNONE, A. F.; HECHENLEITNER, A. A. W.; PINEDA, E. A. G.; CAVALCANTI, O. A. Goma Guar Fosfatada: Potencial Excipiente no Desenvolvimento de Filmes Isolados de Etilcelulose. **Acta Farm. Bonaerense**, La Plata, v. 23, n. 4, p. 448-52, Oct. 2004.
- DIJK-WOLTHUIS, W. N. E. van, Franssen, H. Talsma, M. J. van Steenberg J. J. Kettenes-van den Bosch e W. E. Henninkt. Synthesis, Characterization, and

- Polymerization of Glycidyl Methacrylate Derivatized Dextran. **Macromolecules**, London, v. 28, n.18, p. 6317-6322, 1995.
- DONGOWSKI, G.; LORENZ, A. and PROLL, J. The Degree of Methylation Influences the Degradation of Pectin in the Intestinal Tract of Rats and In Vitro. **J. Nutr.**, Pennsylvania, v. 132, n.7, p.1935-1944, 2002.
- DUPUIS, G.; CHAMBIN, O.; GENELOT, C.; CHAMPION, D. and POURCELOT, Y. Colonic Drug delivery: Influence of cross-linking Agent on Pectin Beads properties and Role of the Shell Capsule type. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, New York, 32, n. 7, p. 847-855, Aug. 2006.
- FRANSSEN, O.; OOIJEN, R. D. van; BOER, D. de; MAES, R. A. A.; HENNINK, W. E. Enzymatic Degradation of Cross-Linked Dextrans. **Macromolecules**, London, v. 32, n. 9, p. 2896-2902, Feb. 1999.
- FRIEND, D. R. New oral delivery systems for treatment of inflammatory bowel disease. **Adv. Drug Deliver. Rev.**, Amsterdam, v.57, n. 2, p. 247-265, Aug. 2005.
- 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. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v. 308, p. 52-60, Feb. 2006.
- IRACHE, J. M., HUICI, M., KONECNY, M., ESPUELAS, S., CAMPANERO, M. A.,e ARBOS, P. Bioadhesive Properties of Gantrez Nanoparticles. **Molecules**, Basel, v. 10, n. 1, p. 126-145, Jan. 2005.
- LAMIM, R.; FREITAS, R. A. de; RUDEK, E. I.; WILHELM, H. M.; CAVALCANTI, O. A.; BRESOLIN, T. M. B. Films of chitosan and *N*-carboxymethylchitosan. Part II: Effect of plasticizers on their physiochemical properties. **Polym. Int.**, London, 55, n. 8, p. 970-977, Aug. 2006.
- LI, Q.; WANG, D.; ELISSEEFF, J. H. Heterogeneous-Phase Reaction of Glycidyl Methacrylate and Chondroitin Sulfate: Mechanism of Ring-Opening Transesterification Competition. **Macromolecules**, London, v.36, n. 7, p. 2556-2562, Nov. 2003.
- LIU, L.; FISHMANA, M. L.; KOSTB, J.; HICKS, K. B. Pectin-based systems for colon-specific drug delivery via oral route. **Biomaterials**, Amsterdam, v.24, n. 19, p. 3333-3343, Aug. 2003.
- MASTIHOLIMATH, V. S.; DANDAGI, P. M.; S. JAIN, S.; GADAD, A. P.; KULKARNI, A. R. Time and pH dependent colon specific, pulsatile delivery of theophylline for nocturnal asthma. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v. 328, n. 1, p. 49-56, 2007.
- MULHBACHER, J.; ISPAS-SZABO, P.; MATEESCU, M. A. Cross-linked high amylose starch derivatives for drug release II. Swelling properties and mechanistic study. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v. 278, n. 2, p. 231-238, 2004.

- OLIVEIRA, F. M. de. & CAVALCANTI, O. A. Pré-Bióticos na Formação de filmes isolados de Eudragit<sup>®</sup> RS30D. Avaliação das propriedades de intumescimento e permeabilidade. **Lat. Am. J. Pharm.**, La Plata, v. 26 (3): 325-31, 2007.
- ORLU, M.; CEVHER, E.; ARAMAN, A. Design and evaluation of colon specific drug delivery system containing flurbiprofen microsponges. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v. 318, n. 1-2, p. 103-117, Aug. 2006.
- PEETERS, R. and KINGET, R. Film-forming polymers for colonic drug delivery: I. Synthesis and physical and chemical properties of methyl derivatives of Eudragit S. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v. 94, n. 1-3, p. 125-134, 1993.
- PÉREZ, S.; MAZEAU, K.; PENHOAT, C. H. du. The three-dimensional structures of the pectic polysaccharides. **Plant Physiol. Bioch.**, Amsterdam, v. 38, n. 1-2, p. 37-55, Jan. 2000.
- PÉREZ, S.; RODRÍGUEZ-CARVAJAL, M. A.; DOCO, T. A complex plant cell wall polysaccharide: rhamnogalacturonan II. A structure in quest of a function. **Biochimie**, Amsterdam, v. 85, n. 1-2, p.109-121, Jan./ Feb. 2003.
- PETEREIT, Hans-Ulrich; WEISBROD, W. Formulation and process considerations affecting the stability of solid dosage forms formulated with methacrylate copolymers. **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, Amsterdam, v. 47, n. 1, p. 15-25, Jan. 1999.
- REIS, A. V.; CAVALCANTI, O. A.; RUBIRA, A. F.; MUNIZ, E. C. Synthesis and characterization of hydrogels formed from a glycidyl methacrylate derivative of galactomannan. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v. 267, n 1-2, p. 13-25, 2003.
- REIS, A.V.; GUILHERME, M. R.; CAVALCANTI, O. A.; RUBIRA, A. F.; MUNIZ, E. C. Synthesis and characterization of pH-responsive hydrogels based on chemically modified Arabic gum polysaccharide. **Polymer**, Amsterdam, v. 47, n.6, p. 1-7, 2006.
- SEMDE, R.; AMIGHI, K.; PIERRE, D.; DEVLEESCHOUWER, M. J.; MOES, A. J. Leaching of pectin from mixed pectin: insoluble polymer films intended for colonic drug delivery. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v. 174, n. 1-2, p. 233-241. Nov. 1998.
- SILVA, C. A. DA e BRAGA, M. R. Liberação e atividade de moléculas indutoras de fitoalexinas em rubiáceas tropicais: influência da metilesterificação de pectinas. **Rev. Brás. Bot.**, São Paulo, v.27, n.2, p. 379-393, 2004.
- SINHA, V.R.; KUMRIA, R. Microbially triggered drug delivery to the colon. **Eur. J. Pharm. Sci.**, Amsterdam, v.18, n. 1 p. 3-18, Jan. 2003.
- SINHA, V.R.; KUMRIA, R. Polysaccharides in colon-specific drug delivery. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v. 224, n. 1-2, p. 19-38, Aug. 2001.
- VERVOORT, L., MOOTER, G. V. den; AUGUSTIJNS, P.; BUSSON, R.; TOPPET, S.; KINGET, R. Inulin Hydrogels as Carriers for Colonic Drug Targeting: I.

Synthesis and Characterization of Methacrylated Inulin and Formation. **Pharm. Res.**, Heidelberg, v. 14, n. 12, p. 1730-1737, 1997.

VERVOORT, L.; VINCKIER, I.; MOLDENAERS, P.; MOOTER, G. V. D.; AUGUSTIJNS, P.; KINGET, R. Inulin Hydrogels as Carriers for Colonic Drug Targeting. Rheological Characterization of the Hydrogel Formation and the Hydrogel Network. **J. Pharm. Sci.**, Amsterdam, v. 88, n. 2, p. 209-214, Feb. 1998.

ZOHURIAAN, M. J. and SHOKROLAHI, F. Thermal studies on natural and modified gums. **Polym. Test.**, Amsterdam, v. 23, n.5, p. 575-579, 2004.

# Preparação e Caracterização Físico-química da Pectina Reticulada por Fosfatação: potencial excipiente para liberação modificada de fármacos

João Philype Andrade Souto Maior<sup>1</sup>, Adriano Valim Reis<sup>2</sup>, Liliane Neves Pedreiro<sup>3</sup>,  
Oswaldo Albuquerque Cavalcanti<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Aluno do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas - UEM. <sup>2</sup>Aluno do Programa de Pós-graduação em Química - UEM. <sup>3</sup>Aluna do Curso de graduação em Farmácia - UEM. <sup>4</sup>Professor do Departamento de Farmácia e Farmacologia. Universidade Estadual de Maringá, Avenida Colombo 5790, Anexo Bloco P0 2 (Laboratório de Tecnologia Farmacêutica), Maringá-PR, Brasil, CEP: 87020-900.

**RESUMO** - Neste trabalho a pectina foi modificada quimicamente com diferentes quantidades de Trimetafosfato Trisódico (TMFT) em meio aquoso alcalino, obtendo-se material com reduzida hidrossolubilidade. A caracterização físico-química deste novo material foi realizada por análises de *FT-IR*, *DSC* e *TGA*. Pectina fosfatada (Pect-TMFT, **A** e **E**) juntamente com o  $\alpha$ -Gluco-oligossacarídeo (Bioecolians<sup>®</sup>) foram incorporados à dispersão aquosa de polimetacrilato (Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D) para obtenção de filmes isolados pelo processo “*casting*” (50 °C) em placa de Teflon<sup>®</sup>. As dispersões foram obtidas nas seguintes concentrações (Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D: Pect-TMFT: Bioecolians<sup>®</sup>): 90: 05: 05, 85: 10: 05, 80: 15: 05 e 100:00:00 como controle, (4 % p/v). Citrato de trietila (*TEC*) foi utilizado como plastificante (20 % da massa do polimetacrilato). Os filmes isolados foram caracterizados pela determinação da permeabilidade ao vapor d’água (TVA), pelo índice de intumescimento (I<sub>i</sub> %) em fluídos de simulação gástrica (FSG) e intestinal (FSI) e por microscopia eletrônica de varredura (MEV). O aumento do polissacarídeo modificado e do Bioecolians<sup>®</sup> nos filmes favoreceram a permeabilidade ao vapor d’água. Porém, quando em FSI (pH= 6,8) os filmes apresentaram diminuição do I<sub>i</sub> %, provavelmente devido à migração do oligo- e polissacarídeo para o meio, conforme pode ser observado pela presença de poros nas micrografias dos filmes liofilizados em FSI. Os filmes obtidos poderão impedir a liberação prematura do fármaco em FSG (pH= 1,2) quando aplicado como revestimento de sistemas sólidos orais. Além disso, a presença da Pect-TMFT e do Bioecolians<sup>®</sup>, poderão favorecer a degradação específica da película por enzimas produzidas pela microflora colônica, possibilitando uma cinética de liberação modificada de fármacos.

## Unitermos:

- Pectina fosfatada;
- Filmes isolados;
- $\alpha$ -Gluco-oligossacarídeo;
- Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D;
- Liberação modificada.

## INTRODUÇÃO

As formas farmacêuticas convencionais orais, em geral, são ineficazes em garantir estabilidade, proteção da mucosa gástrica, assim como disponibilizar o fármaco em regiões específicas do trato gastrintestinal (TGI). Estes sistemas desencadeiam uma liberação aleatória e/ou absorção prematura do princípio ativo, possibilitando inclusive a degradação de fármacos na porção proximal do TGI (ORLU *et al.*, 2006). Ademais, a administração oral de peptídeos e proteínas originados na indústria farmacêutica e biotecnologia depara com elevada restrição quando atingem o TGI, onde as moléculas ativas geralmente sofrem quebra e/ou inativação, inviabilizando sua biodisponibilidade oral.

Sistemas de liberação sítio-alvo-específicos acenam com excelentes vantagens biofarmacêuticas e farmacocinéticas em relação às formas farmacêuticas convencionais, tais como: redução da dose requerida do fármaco a ser administrada; proteção do fármaco de uma eventual degradação; manutenção da biodisponibilidade capaz de evitar variações da dose administrada, minimizando possíveis efeitos colaterais; como também redução dos longos e inconvenientes esquemas posológicos, permitindo, desta forma, maior adesão ao tratamento pelo paciente e uma otimização dos efeitos farmacológicos (SINHA *et al.*, 2001; SINHA *et al.*, 2003).

Desencadear pesquisas voltadas à promissora perspectiva em veicular fármacos às regiões específicas do TGI constitui desafio capaz de permitir efetivo controle temporal e espacial, harmonizando efeitos terapêuticos de fármacos. Produtos destinados ao tratamento de patologias que afetam a saúde humana e animal encontram, neste contexto, elevada expectativa para administração via oral. Genes, oligonucleotídeos e vacinas, baseados em proteínas e polipeptídios representam categoria de substâncias que apresentam restrições, como elevada susceptibilidade a enzimas digestivas gástricas (proteolíticas), baixa absorção aliada à capacidade limitada para atravessar a barreira do epitélio intestinal (AHMED *et al.*, 2002; LIU *et al.*, 2003; IRACHE *et al.*, 2005; DUPUIS *et al.*, 2006).

Apesar de algumas propostas já terem sido desenvolvidas nos últimos 15 anos nesse sentido, o desenvolvimento de novos sistemas terapêuticos sítio-alvo-específicos ainda permanece como desafio a ser superado pelos pesquisadores de P&D e inovação das indústrias e de instituições acadêmicas (BUNHAK *et al.*, 2007 a; AKHGARI *et al.*, 2006).

A apresentação em base aquosa de polímeros (Surelease<sup>®</sup>, Aquacoat<sup>®</sup>, ECD<sup>®</sup> e polímeros acrílicos, tais como Eudragit<sup>®</sup> NE 30 D, RS 30 D, RL 30 D e FS 30 D) tem sido objeto de escolha para aplicação industrial. Estas apresentações versáteis para formulação de formas farmacêuticas sólidas orais apresentam como maior vantagem, evitar a utilização de solventes orgânicos e a complexidade das instalações industriais requeridas e respectivos riscos de danos ao meio ambiente causados pelos resíduos do processo (SINHA *et al.*, 2003; IBEKWE *et al.*, 2006; BUNHAK, *et al.*, 2007 a, b). Além disso, garantem a ausência de toxicidade nas formulações farmacêuticas, respeitando as boas práticas de fabricação e as emergentes leis ambientais.

Dispersão aquosa de Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D têm sido usada largamente em aplicações industriais, e amplamente investigada no desenvolvimento e formulações de novos sistemas orais para liberação modificada (controlada e sustentada) de fármacos, a partir do revestimento de péletes, micropartículas e preparação de matrizes (PEETERS & KINGET, 1993). Alguns polímeros acrílicos filmogênicos são reconhecidamente eficazes quanto as suas habilidades de favorecerem um direcionamento dos fármacos às regiões específicas do trato gastrointestinal. Entre estes, destacam-se àqueles cuja solubilidade é pH dependente (ex.: Eudragit<sup>®</sup>FS 30 D). Entretanto, alguns quadros patológicos do trato gastrointestinal podem favorecer alterações consideráveis das faixas normais do pH fisiológico. Exemplo bastante ilustrativo refere-se aos pacientes portadores de colite ulcerativa, onde o pH colônico atinge valores de  $\pm 4,7$ . Assim, propostas de formulações visando à liberação em faixas de pH alcalino, revestidas com esses polímeros pH dependentes poderão apresentar elevadas limitações terapêuticas (FRIEND, 2005).

Nesse contexto, a utilização de polissacarídeos naturais hidrofílicos não celulósicos, associado ao conhecimento das características fisiológicas e patológicas do trato gastrointestinal, em especial a presença de microflora abundante em regiões distais do TGI, têm despertado grande interesse nas pesquisas (SINHA *et al.*, 2003; FRIEND, 2005; DUPUIS *et al.*, 2006).

Representante desta categoria de polímeros naturais, a pectina encontrada em diversas espécies vegetais, principalmente nas células da parede celular, é responsável pela manutenção da estrutura e sustentação das plantas. Esse polissacarídeo apresenta-se predominantemente como um polímero linear constituído quimicamente por monômeros de ácido D-galacturônico em ligações  $\alpha$ -(1-4), ocasionalmente interrompidos por monômeros de L-rhaminose em ligações  $\alpha$ -(1-2). Porém, outros

monômeros também podem fazer parte das cadeias laterais, como os açúcares neutros D-galactose, L-arabinose, D-xilose, L-ramnose, L-fucose e traços de 2-O-metilfucose (PÉREZ *et al.*, 2000; PÉREZ *et al.*, 2003; SILVA & BRAGA, 2004). Além disso, apresenta elevado peso molecular, podendo variar entre 50.000 a 180.000 g/mol. Dependendo do grau de substituição dos grupos carboxila presentes nos monômeros de ácido D-galacturônico, por grupos metoxila (-OCH<sub>3</sub>), a pectina pode ser classificada como de alta metoxilação / esterificação (acima de 50%) e de baixa (abaixo de 50%). Desse modo, a pectina pode ser descrita em termos de uma estrutura “canônica” por apresentar estrutura química bastante heterogênea e complexa (PÉREZ *et al.*, 2000; PÉREZ *et al.*, 2003; CHOURASIA & JAIN, 2003).

Os polissacarídeos, inclusive a pectina, são resistentes à passagem pela porção superior do trato gastrointestinal, apresentando, porém, biodegradabilidade exclusiva no ambiente colônico pela microflora anaeróbica ali residente (SINHA *et al.*, 2001, FRIEND, 2005). Porém, o maior desafio encontrado para utilização da pectina para no desenvolvimento de revestimentos farmacêuticos é vencer a sua alta solubilidade em meio aquoso e sua baixa propriedade em formar filmes, o que pode contribuir para uma liberação prematura e indesejada do princípio ativo. Uma alternativa para reduzir a elevada solubilidade dos polissacarídeos é modificá-los quimicamente, resguardando a sua biodegradabilidade pela microflora colônica (SINHA *et al.*, 2003; FRIEND, 2005).

Neste trabalho propusemos a modificação química da pectina através de reação com trimetafosfato trisódico (TMFT). O TMFT é um agente reticulante eficiente aplicado na indústria alimentícia e não apresenta toxicidade humana (LACK *et al.*, 2004). O TMFT reage com os grupos hidroxilas dos polissacarídeos ligando-se as cadeias poliméricas, deixando os grupos carboxílicos de alguns polissacarídeos livres para futuras modificações. Essa reação de reticulação promove diminuição da solubilidade dos polissacarídeos, uma vez que, número de hidroxilas livres para interagir com a água fica reduzido (GLIKO-KABIR *et al.*, 2000; DULONG *et al.*, 2004; LACK *et al.*, 2004; CAVALCANTI *et al.*, 2005).

O material modificado quimicamente (Pect-TMFT) foi adicionado à dispersão aquosa do Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D (polímero tempo dependente/baixa permeabilidade) na fabricação de filmes isolados seguindo metodologias previstas na literatura (CAVALCANTI *et al.*, 2002; CHOURASIA & JAIN, 2003; LIU *et al.*, 2003; CODAGNONE *et al.*, 2004; BUNHAK *et al.*, 2007 a, b). Visando aperfeiçoar a especificidade do material formado (Pect-TMFT + Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D) frente à

microflora colônica, adicionamos a dispersão (previamente a coalescência polimérica) o pré-biótico  $\alpha$ -gluco-oligosacarídeo, comercialmente denominado Bioecolians<sup>®</sup> (Solabia, França). Esta proposta tem sua fundamentação em estudos anteriormente realizados por Siragusa *et al.*, (1988) e Oliveira & Cavalcanti (2007), estes autores buscaram dentro da perspectiva colo-específica, melhores habilidades dos materiais poliméricos formados. A pectina modificada aliada ao Bioecolians<sup>®</sup> deverão ser degradados pela microflora colônica principalmente pelos gêneros *Bacterioides*, *Bifidobacterium* e *Eubacterium* (DONGOWSKI *et al.*, 2002; CHOURASIA & JAIN, 2003).

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Materiais

Pectina Genu<sup>®</sup> tipo USP-B (cedida gentilmente pela CPKelco, Limeira/SP), previamente modificada com Trimetafosfato Trisódico (TMFT); Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D (copolímero acrilato-metacrilato com grupos amônio quaternário USP/NF/Degussa Pharma/Alemanha) e Citrato de trietila (TEC) (Morflex<sup>®</sup> – EUA) ambos cedidos gentilmente pela empresa Almapal (São Paulo/SP); Bioecolians<sup>®</sup> ( $\alpha$ -Gluco-oligosacarídeo - França) cedido pela Solabia (Maringá/PR); Fluido de Simulação Gástrica (FSG, pH= 1,2) e Fluido de Simulação Intestinal (FSI, pH= 6,8); Agitadores magnéticos (Tecnal<sup>®</sup> modelo: TE-085/1); Balança Analítica (Gehaka<sup>®</sup>, modelo: AG200); Bomba de vácuo; Placa de Teflon<sup>®</sup>; Micrômetro (Mitutoyo<sup>®</sup>); Tesoura cirúrgica (HVS cirúrgica<sup>®</sup>, modelo: Íris); Estufa; Dessecadores (com sílica gel); Cúpulas de permeabilidade (*Payne permeability cup*, Braive Intriments, Liège, Bélgica); demais reagentes de grau analítico.

### Modificação do Polissacarídeo com Trimetafosfato trisódico (TMFT)

O polissacarídeo (Pectina Genu<sup>®</sup> tipo USP-B, 72% metoxilação) foi reticulado com quantidades crescentes de TMFT, em meio aquoso baseificado (pH= 12) com solução de NaOH (2M) seguindo metodologias propostas por Gliko-Kabir *et al.* (2000), Dulong *et al.* (2004), Lack *et al.* (2004), Codagnone *et al.* (2004) e Cavalcanti *et al.* (2005), conforme as Figuras 1 e 2. Inicialmente cinco porções de 200 ml de uma dispersão a 2 % da pectina foram deixadas sob agitação magnética constante por duas horas, proporcionando homogeneização máxima da dispersão do polissacarídeo.

Durante esse período o pH foi monitorado e reajustado para 12 sempre que necessário. Após esta operação foram adicionados volumes crescentes (1, 2, 4, 12 e 20 ml) de uma solução de TMFT (10 %), e deixado sob agitação por mais uma hora à temperatura ambiente ( $25 \pm 2$  °C), reajustando o pH para 12, quando necessário. Transcorrido o intervalo de tempo previsto, as dispersões foram vertidas em placas de Petri e levadas para estufa a 50 °C até completa evaporação do solvente aquoso. Os produtos obtidos secos (A, B, C, D e E) foram colocados em Béqueres (500 ml) contendo uma mistura de água destilada: etanol (90:10). Após ajuste do pH do meio com gotas de HCl (0,01 M) até pH 7, foram deixados em repouso por um período de 48 horas, renovando a mistura após 24 horas (para retirada de qualquer substância que não participou da reação e que possa interferir na confecção de filmes) (REIS et al., 2006). Após esse processo, os produtos foram filtrados e secos em estufa a 50 °C, pulverizados em gral de porcelana, armazenados em dessecadores para posterior realização de análises, e obtenção de filmes isolados.

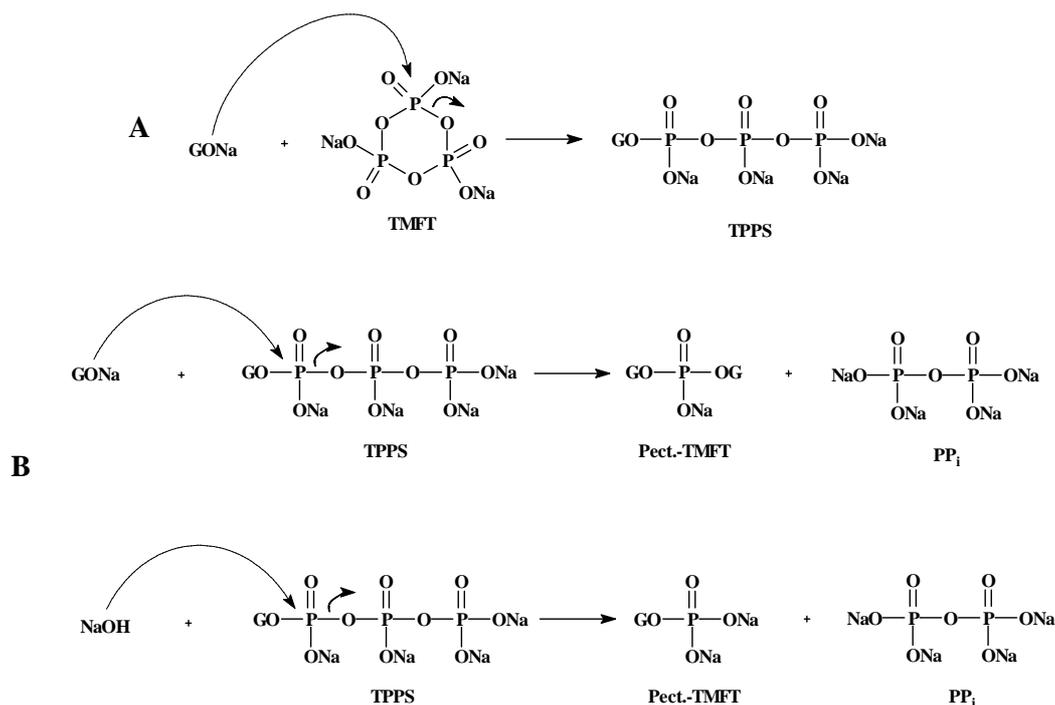


Figura 1 - Representação do mecanismo da reação da pectina com trimetafosfato trissódico (TMFT) em meio alcalino. Abertura do TMFT pelo ataque do alcoolato (GONa) com o enxerto de Tripolifosfato de sódio (TPPS) ao polissacarídeo (a), reticulação ou degradação de TPPS (adaptado de LACK et al, 2007).

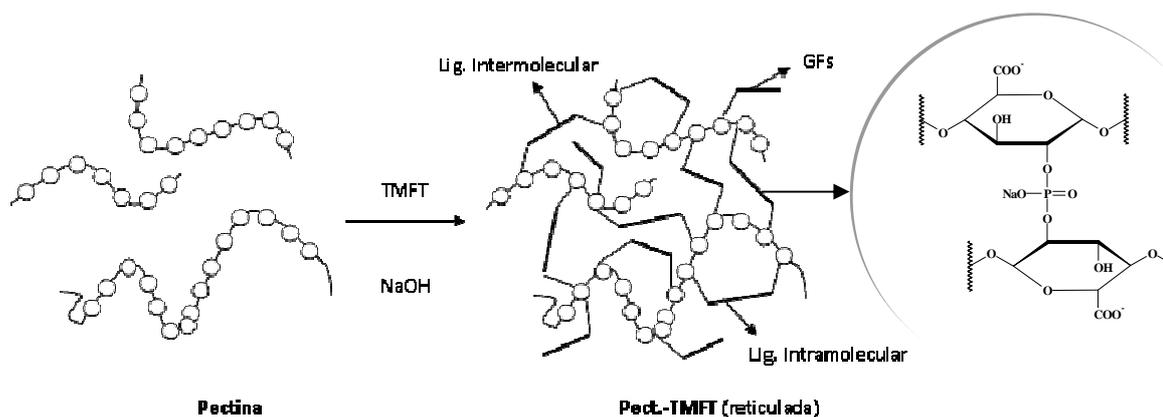


Figura 2 - Representação esquemática da reticulação da Pectina. Enxerto de grupamentos fosfatos (GFs) na cadeia do polissacarídeo e reticulação entre as cadeias poliméricas, com ligações intermoleculares e intramoleculares (adaptado de FRANSSEN et al., 1999).

### **Espectroscopia de Infra-vermelho (*FT-IR*)**

Amostras dos polissacarídeos natural e modificados foram analisadas por Espectroscopia de Infravermelho (Espectrômetro *FT-IR-BOMEN-MB-100-Michelson*<sup>®</sup>), visando caracterizar preliminarmente a provável modificação estrutural ocorrida. Para a obtenção dos espectros de absorção, na região de 4000 e 400  $\text{cm}^{-1}$ , as amostras foram preparadas pela técnica de pastilhas de brometo de potássio (KBr) contendo 1% da amostra.

### **Análise térmica (*DSC* e *TGA*)**

As análises Calorimétrica Diferencial de Varredura (*DSC*) foram realizadas num calorímetro Shimadzu DSC-50. Aproximadamente 6 mg da amostra (pectina puras e modificadas), foram submetidas à atmosfera com fluxo de nitrogênio a 50 mL/min. O aparelho foi calibrado com os padrões de Índio e Zinco. A faixa de temperatura da análise foi de 0-500 °C numa velocidade de aquecimento de 10 °C/min.

Na análise Termogravimétrica (*TGA*) foi usado aparelho Shimadzu<sup>®</sup> TGA-50 para analisar amostras de 6 mg. A faixa de temperatura da análise ficou entre 25-1000 °C com fluxo de nitrogênio e velocidade de aquecimento de 50 mL/min e 10 °C/min, respectivamente. Até o momento da realização das análises, todas as amostras foram devidamente acondicionadas em frascos contendo sílica gel desidratada (110 °C/1h).

## Obtenção de filmes isolados com pectina fosfatada (Pect-TMFT)

Os filmes foram preparados a partir de dispersões em base aquosa, utilizando método convencional para polímeros termoplásticos e termorrígidos, denominado evaporação ou “*casting process*” (moldagem por fusão), conforme formulações transcritas na Tabela I.

Inicialmente, os filmes isolados foram obtidos a partir de dispersões poliméricas preparadas em quatro diferentes concentrações, fazendo variar a concentração da Pect-TMFT **A** (2,44 % m/m de TMFT) e **E** (33,33% m/m de TMFT) e/ou Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D e/ou do  $\alpha$ -Glucosacarídeo (Bioecolians<sup>®</sup>), permanecendo sempre a massa polimérica final de 4 % (p/v). As proporções testadas foram (Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D: Pect-TMFT **A** e/ou **E**: Bioecolians<sup>®</sup>) 90: 05: 05, 85: 10: 05, 80: 15: 05 e 100: 0: 0, que corresponde à composição controle conforme Tabela I. O plastificante escolhido foi o Citrato de trietila (*TEC*), adicionado na concentração de 20 % em relação, exclusivamente, à massa do polimetacrilato (Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D).

As dispersões contendo inicialmente o Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D acrescidas do *TEC* (a 20 %) foram deixadas sob agitação magnética por um período de 30 minutos em temperatura ambiente ( $TA = 25 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2.0$ ). Após completa homogeneização das dispersões, seguindo as formulações sugeridas transcritas na Tabela I, quantidades variáveis das dispersões de Pect-TMFT e Bioecolians<sup>®</sup> foram adicionadas suavemente, sob agitação constante, às dispersões do polímero sintético, e mantidas sob agitação magnética por mais 60 minutos em temperatura ambiente (*TA*). Durante todo o processo de homogeneização foi utilizada bomba de vácuo visando evitar a incorporação de ar e formação de bolhas às misturas poliméricas.

**Tabela I** - Proporção dos componentes em filmes isolados (Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D, Pect-TMFT e Bioecolians<sup>®</sup>).

Eudragit <sup>®</sup> RS 30 D (%)	Pect-TMFT A e E (%)	Bioecolians <sup>®</sup> (%)	Citrato de trietila <i>TEC</i> (%)
100	0	0	20
90	5	5	20
85	10	5	20
80	15	5	20

Após completa homogeneização das diferentes dispersões, amostras de 10 ml, de cada dispersão, foram vertidas sobre os orifícios previamente demarcados na placa de

Teflon<sup>®</sup>. Esta placa foi então conduzida à estufa, nivelada e mantida a 50 °C (temperatura mínima para a formação dos filmes) por período de aproximadamente 15 horas até a formação dos filmes (CAVALCANTI *et al.*, 2002, CODAGNONE *et al.*, 2004, OLIVEIRA & CAVALCANTI, 2007 e BUNHAK *et al.*, 2007 *a, b*).

### **Caracterização morfológica macroscópica dos filmes**

É de fundamental importância a verificação das características morfológicas macroscópicas dos filmes, especialmente no tocante à presença de bolhas de ar e/ou rachaduras, uma vez que a integridade dos filmes garantirá a reprodutibilidade e execução das demais análises realizadas neste trabalho, em especial, os ensaios de permeabilidade. As espessuras dos filmes foram determinadas utilizando Micrômetro (Mitutoyo<sup>®</sup>) a partir de 5 pontos escolhidos aleatoriamente na superfície para cada filme. Em seguida, os filmes selecionados foram armazenados em dessecador (contendo sílica gel) até o momento dos outros ensaios (CAVALCANTI *et al.*, 2002, CODAGNONE *et al.*, 2004, OLIVEIRA & CAVALCANTI, 2007 e BUNHAK *et al.*, 2007 *a, b*).

### **Estudo de Permeabilidade / Transmissão de Vapor d'água (TVA)**

A determinação da Transmissão de vapor d'água constitui método simples e de fácil execução para avaliar a permeabilidade através de filmes poliméricos quando comparado aos tradicionais métodos de difusão. Sendo capaz de fornecer informação valiosa sobre a capacidade de proteção de diversos materiais (papéis, plástico, embalagens, etc...) contra a umidade do meio ambiente, inclusive dos materiais poliméricos envolvidos na tecnologia de revestimento farmacêutico durante a estocagem (AKHGARI *et al.*, 2006 e BUNHAK *et al.*, 2007 *a*).

Este estudo foi desenvolvido de acordo com o método “B” da *ASTM (American Society for Testing and Material)* designado E96-66, usando cúpulas de permeabilidade (modelo “*Payne permeability cup*”, Bélgica), conforme Figura 3. Os filmes candidatos à investigação (com área de 10 cm<sup>2</sup>) foram fixados às cúpulas individualmente, nas quais foram previamente preenchidas com água destilada (10 ml). O conjunto (cúpula + água destilada + amostra filme; n=3) foi pesado no tempo zero e armazenado em dessecador contendo sílica-gel desidratada. O dessecador foi deixado à temperatura e

umidade ambiente. As cúpulas de cada filme foram pesadas (em triplicatas) nos intervalos de tempo: 0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas. A cada intervalo de tempo pré-estabelecido, a amostra de sílica-gel foi trocada por outra desidratada (110 °C/1 h). Os pesos perdidos pelas cúpulas nos respectivos intervalos de tempo foram registrados e aplicados na equação (1), sendo esta utilizada para calcular a taxa de transmissão de vapor d'água transportada através dos filmes. A TVA foi padronizada para um período de 24 h.

$$TVA = \frac{g \times 24}{t \times a} \quad (1)$$

Onde “g” é a perda de massa, “t” é o tempo medido em horas onde houve perda de massa e “a” representa a área do filme (0,001 m<sup>2</sup>). Posteriormente, os valores percentuais das perdas dos pesos foram graficamente plotados *versus* os respectivos intervalos de tempo (CAVALCANTI *et al.*, 2002, BUNHAK *et al.*, 2007 a, b, CAVALCANTI *et al.*, 2005, OLIVEIRA & CAVALCANTI, 2007 e LAMIN *et al.*, 2006).

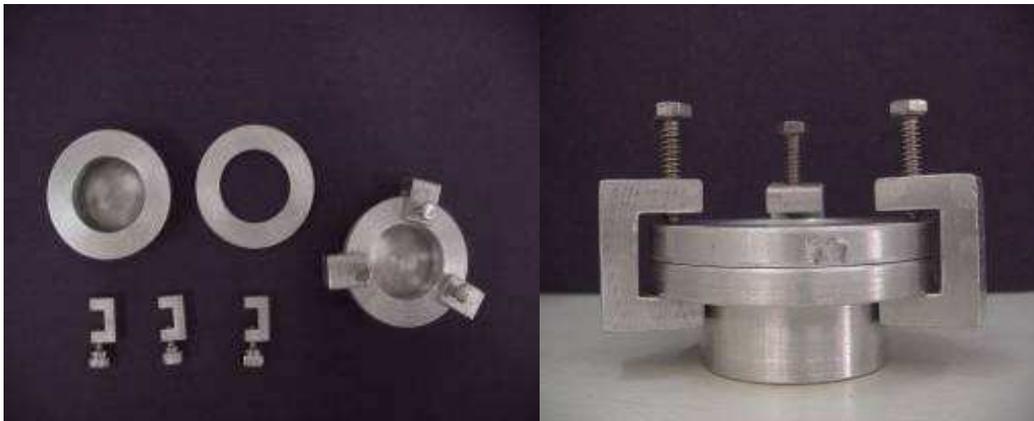


Figura 3 - Cúpulas de permeabilidade (modelo “Payne permeability cup”, Bélgica), desenvolvido de acordo com o método “B” da ASTM, E96-66.

### Determinação dos Índices de Intumescimento (I<sub>i</sub> %)

O conhecimento do grau de hidrofiliicidade dos filmes isolados quando em contato com os fluidos fisiológicos constitui uma característica imprescindível, fenômeno que deverá garantir o acesso das enzimas bacterianas existentes na porção distal do TGI. Além disso, a avaliação do índice de intumescimento pode representar o primeiro passo para a elaboração de um modelo matemático capaz de prever a cinética de liberação (MULHBACHER *et al.*, 2004).

Amostras dos filmes representantes das associações foram minuciosamente cortados com tesoura cirúrgica (modelo *Professional F/I*) em aproximadamente 1,0 cm<sup>2</sup>, sendo, em seguida, distribuídos no interior de placas de Petri devidamente identificadas. Posteriormente, as placas de Petri foram colocadas em estufa a 50 °C, por aproximadamente 15 horas, atingindo perda total da umidade. Após este tempo, as placas foram retiradas e mantidas em dessecadores (com sílica gel) durante a realização do experimento propriamente dito.

As amostras secas das diferentes associações foram pesadas em balança analítica e imediatamente imersas em recipientes contendo Fluido de Simulação Gástrica (FSG, pH= 1,2) e Fluido de Simulação Intestinal (FSI, pH= 6,8), sem a presença de enzimas digestivas, e mantidas por diferentes intervalos de tempo à temperatura de 37 °C. Esses fluídos foram realizados segundo a 28<sup>a</sup> Farmacopéia dos Estados Unidos (*USP XXVIII*).

Cumpridos os intervalos de tempo pré-estabelecidos (1, 10, 30 e 60 minutos de imersão), as amostras foram removidas dos meios de simulação com auxílio de pinça e cuidadosamente enxugadas entre duas folhas de papel de filtro e repesadas. O mesmo procedimento foi adotado para todas as outras amostras em triplicatas.

Para o cálculo do Índice de Intumescimento (Ii%) foi utilizada a equação 2:

$$I_{eq} (\%) = \frac{M_i - M_s}{M_s} \times 100 \quad (2)$$

Onde “**M<sub>i</sub>**” é a massa da membrana após o intumescimento e “**M<sub>s</sub>**” é a massa da membrana seca (CAVALCANTI *et al.*, 2002, CODAGNONE *et al.*, 2004 e BUNHAK *et al.*, 2007 *a, b*, OLIVEIRA & CAVALCANTI, 2007 e AKHGARI *et al.*, 2006).

### **Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Amostras dos filmes isolados, secos e/ou imersos em FSG (pH= 1,2) e FSI (pH= 6,8), foram congeladas com nitrogênio líquido após realização dos ensaios de intumescimento (I<sub>i</sub> %) e liofilizadas à -55 °C (Liofilizador Martin Christ<sup>®</sup>, Alpha 1-1/DL) por 6 horas na tentativa de preservar suas características morfológicas em ambas as condições.

Micrografias dos filmes isolados foram obtidas através do Microscópio Eletrônico de Varredura (Shimadzu modelo SS-550 – Superscan), operado em 12 keV.

Todas as micrografias foram obtidas das superfícies de fratura recobertas com ouro. Até o momento da realização das análises, todas as amostras foram devidamente acondicionadas em frascos hermeticamente fechados contendo sílica gel desidratada.

### **Análise estatística**

Análises estatísticas foram usadas para determinar o nível de significância existente entre os valores obtidos em ensaios de determinação do índice de intumescimento, assim como da transmissão de vapor d'água para as diferentes associações dos filmes com Pect-TMFT. Estas análises foram realizadas com ajuda do programa *GraphPad Prism*<sup>®</sup> (versão 2.01, 1996). Os diferentes resultados referentes aos coeficientes de  $I_t$  % e TVA, obtidos nas diferentes circunstâncias (meio de simulação do TGI), foram inicialmente avaliados usando análise de variância (ANOVA), sendo os resultados considerados significativos quando  $p < 0,05$ . Quando o conjunto desses valores forneceu parâmetros significativos, realizamos a aplicação das médias dos dados obtidos no teste de múltipla comparação de Tukey, visando comparar o papel das diferentes composições poliméricas. Também sendo considerados significativos os valores registrados para  $p < 0,05$ . Os resultados obtidos em ensaio de TVA também foram tratados com o programa Statistica (versão 7.0, 2004), através da análise de superfície de resposta.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Espectroscopia de Infra-vermelho (FT-IR)**

Esta técnica permitiu analisar e comparar as ligações e grupos funcionais característicos da pectina natural (*USP*) e modificada com TMFT (Figura 4). No espectro da Pect-TMFT (A e E) foi possível observar uma diminuição significativa na intensidade da banda de estiramento característica dos grupamentos hidroxilas (**OH**) presente na região entre  $3660-3100\text{ cm}^{-1}$ , provavelmente devido à ligação desses grupos com o TMFT, diminuindo a quantidade de hidroxilas disponíveis para formar pontes de hidrogênio inter- e intra-molecular com os grupos carboxílicos. Além disso, foi possível observar o surgimento de absorções atribuídas à presença dos grupos fosfato na região de  $1327\text{ cm}^{-1}$  (**P=O**) e  $954\text{ cm}^{-1}$  (**P-O-C**). Outra observação pode ser feita em relação à ocorrência de um pico na região de  $1425\text{ cm}^{-1}$ , o qual está relacionado à formação de

ligação do tipo **C-O-P** entre o polissacarídeo e o TMFT. Esse pico não é visível no espectro de TMFT nem de Pect-*USP*. Porém foi visível nos demais espectros dos produtos reticulados (A e E), sugerindo a formação de pectina fosfatada. Cavalcanti et al., (2005) também observaram absorções semelhantes durante síntese e caracterização de sulfato de condroitina reticulada com TMFT.

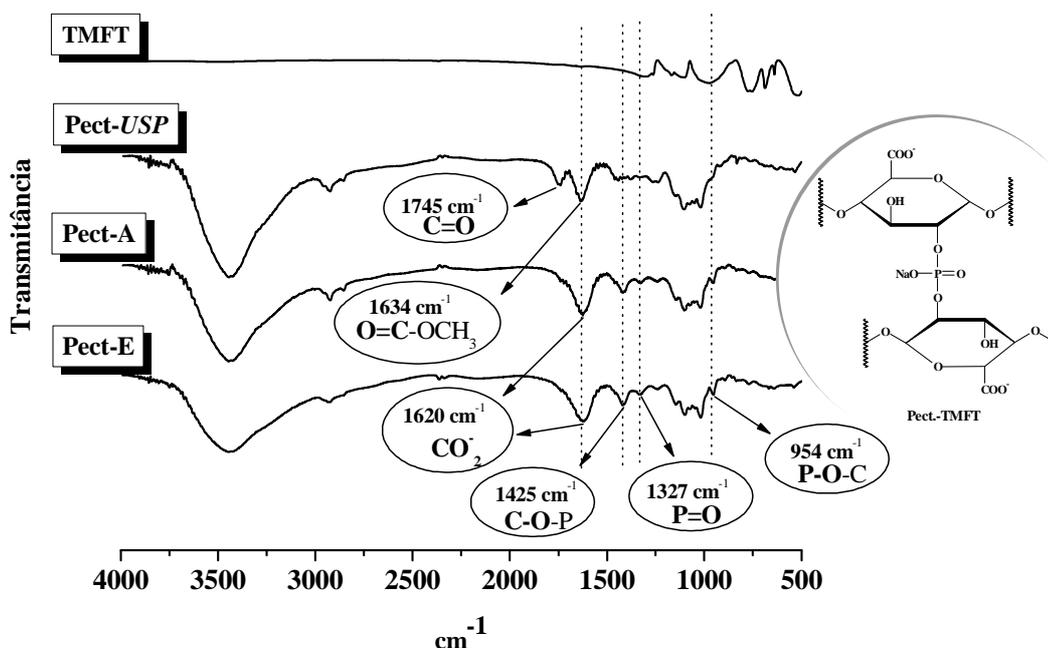


Figura 4 - Gráfico de *FT-IR* do TMFT, Pect-*USP*, Pect-A (2,44 % m/m TMFT) e Pect-E (33,33 % m/m TMFT). Amostras pulverizadas utilizando pastilhas de brometo de potássio (KBr) contendo 1 % da amostra.

Outra evidência da formação da Pect-TMFT pode ser observada pela presença de apenas um pico na região de  $1620\text{ cm}^{-1}$  atribuído aos grupos  $\text{CO}_2^-$  resultantes da neutralização com NaOH durante a reação, esta evidência tem sua fundamentação na observação similar realizada por Nurjaya e Wong (2005) quando investigaram *beads* de pectinato de cálcio. Diferentemente, a partir do espectro da Pect-*USP*, foi possível observar a presença de dois picos nas regiões de  $1745\text{ cm}^{-1}$  e  $1634\text{ cm}^{-1}$  referentes à presença da carbonila ( $\text{C=O}$ ) e principalmente de grupos carboxi éster ( $\text{O=C-OCH}_3$ ), respectivamente, caracterizando o polissacarídeo esterificado não submetido à hidrólise do éster (reação de saponificação) durante a fosfatação com TMFT em meio básico. Singthonga et al. (2004) trabalhando com pectina de baixa metoxilação extraída de *Cissampelos pareira*, também observaram espectros similares quando comparado com pectina de alta metoxilação (76,5 %).

### **Análise térmica (DSC e TGA)**

Comparando as curvas de *DSC* (Figura 5) das Pect-TMFT (A e E) com a pectina natural (*USP*) pode-se observar que à medida que a concentração de TMFT aumenta na reação de modificação da pectina, os picos endotérmicos relacionados à desidratação (80-100 °C), diminuem de intensidade e deslocam-se para temperaturas mais baixas (80 °C, para Pect-E). Esse resultado sugere que a Pect-TMFT apresenta menor quantidade de hidroxilas disponível para interagir com moléculas de água. Estas evidências encontram amparo em resultados similares obtidos em trabalhos realizados por Zohuriaan e Shokrolahi (2004), os quais avaliaram o comportamento térmico da goma modificada, assim como, as investigações de Cavalcanti et al. (2005) sobre sulfato de condroitina modificado.

Além disso, em nossos resultados, analisando o pico exotérmico de maior intensidade, devido à decomposição térmica, foi possível observar um deslocamento para temperaturas mais elevadas (254 °C e 260 °C) em relação à pectina natural (244 °C), além de um pico menor de decomposição em aproximadamente 202 °C, atribuído às pectinas modificadas (Figura 5).

Segundo trabalhos realizados por Zohuriaan e Shokrolahi (2004) avaliando a curva de *DSC* atribuída à metilcelulose, em geral, temperaturas acima de 200 °C como as registradas estão associadas à desidratação, despolimerização e pirólise devido à evolução de H<sub>2</sub>O, CO e CH<sub>4</sub>. Porém, polissacarídeos que possuem em sua constituição grupos funcionais como ácido carboxílico ou carboxilato, a exemplo da pectina natural e Pect-TMFT respectivamente, a geração de CO<sub>2</sub> provavelmente está relacionada com as transições térmicas observadas, em concordância com resultados observados por Zohuriaan e Shokrolahi (2004) quando investigaram as gomas xantana, tragacanta e alginato de sódio.

Zohuriaan e Shokrolahi (2004) e Iijima et al. (2000) atribuem que a temperatura de transição vítrea (*T<sub>g</sub>*) não pôde ser registrada em termogramas semelhantes, provavelmente devido à interferência da curva endotérmica atribuída à presença de umidade.

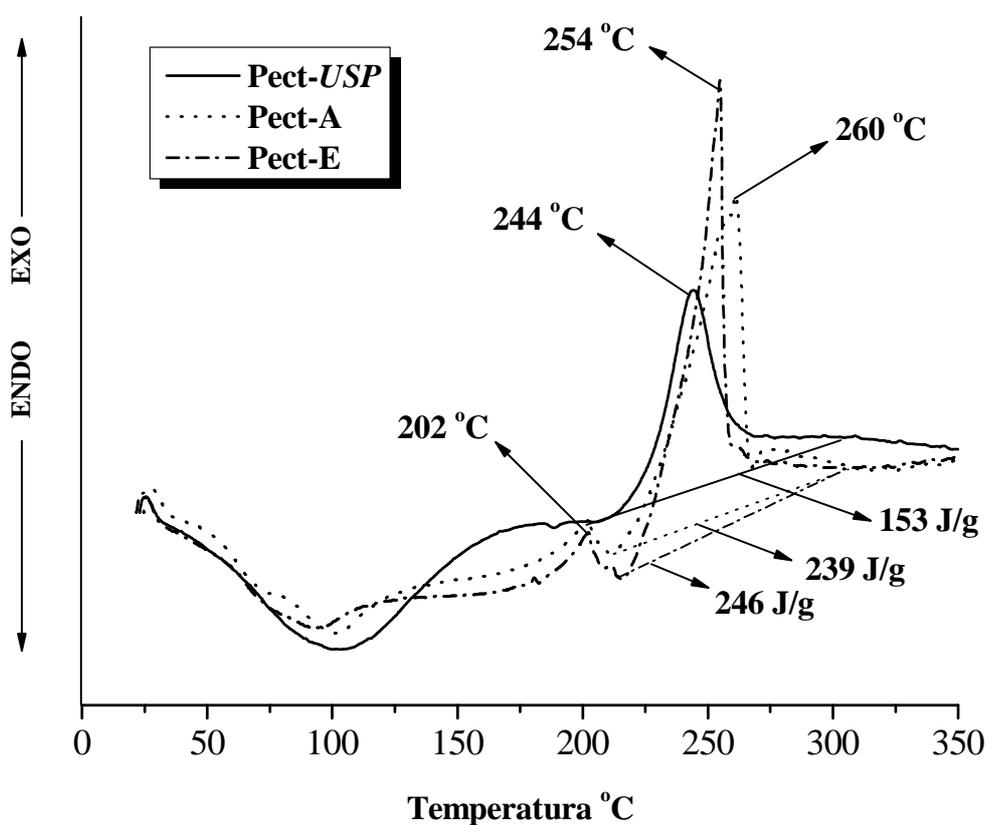


Figura 5 - Gráfico de DSC mostrando picos endotérmicos e exotérmicos da Pectina-*USP* e das pectinas modificadas: Pect-A (2,44 % m/m de TMFT) e Pect-E (33,33 % m/m de TMFT).

Também foi possível observar que as energias liberadas (as quais são diretamente proporcionais à área sob os picos) atribuídas às transições exotérmicas, observadas para as pectinas modificadas (A, 240 J/g e E, 247 J/g), em relação à pectina natural (154 J/g) e aumentam de acordo com o aumento da concentração do agente reticulante.

Nossos resultados (Figura 5) sugerem ocorrência da modificação, ou seja, fosfatação da pectina. Essa modificação estrutural da pectina gera material com reduzido número de hidroxilas, as quais estão associadas à sua alta solubilidade em água, a exemplo de outros trabalhos já realizados com o mesmo agente reticulante (GLIKO-KABIR et al., 2000, DULONG et al., 2004, LACK et al., 2004, CAVALCANTI et al., 2005).

Os resultados da análise de *TGA* são apresentados na Figura 6. A partir dessa análise foi possível observar e comparar o comportamento térmico da amostra de

pectina pura em relação ao das pectinas modificadas com TMFT (A e E). Nesse termograma, a perda de massa inicial observada entre 0 °C e 200 °C, para todas as amostras, é atribuída a dessorção de umidade da estrutura do polissacarídeo, o mesmo pôde ser observado em trabalho anteriormente realizado por Zohuriaan e Shokrolahi, (2004) quando analisaram polissacarídeos naturais e modificados. Porém, essa perda de massa é maior para a pectina natural do que para as Pect-TMFT -A e -E. Isto sugere que a pectina sofreu reticulação e, conseqüentemente, apresenta menor quantidade de grupos hidroxilas para interagir com moléculas de água. Diferenças significativas relacionadas ao aumento de concentração de TMFT entre as pectinas modificadas (A e E) não foram observadas em nenhum momento.

A principal decomposição dos polissacarídeos geralmente ocorre acima de 200 °C. De acordo com a curva de DTG (Figura 7), a temperatura do pico de decomposição térmica para a pectina *USP* foi de aproximadamente 219 °C e 224 °C para as modificadas. Foi possível observar também que as pectinas reticuladas (A e E) apresentam maior massa residual acima de 260 °C em relação à pectina natural, provavelmente relacionada a uma maior quantidade de resíduo pirolisado gerado pela fosfatação do polissacarídeo.

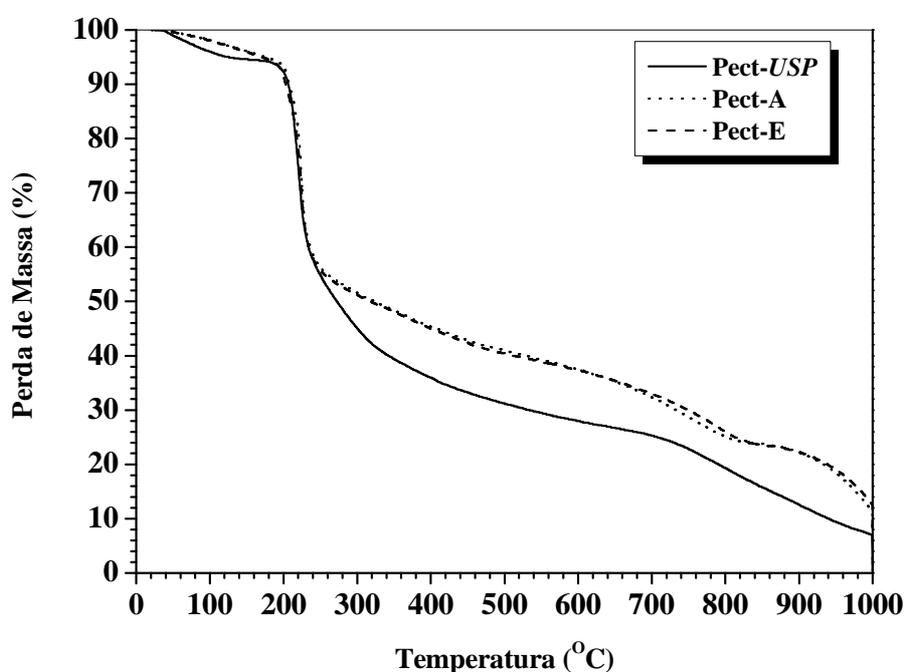


Figura 6 - Gráfico de TGA comparando a perda de massa e a estabilidade térmica entre as pectinas reticuladas (Pect-A e Pect-E) e a pectina natural (Pectina-USP), sugerindo provável ocorrência de reticulação da Pectina com o TMFT.

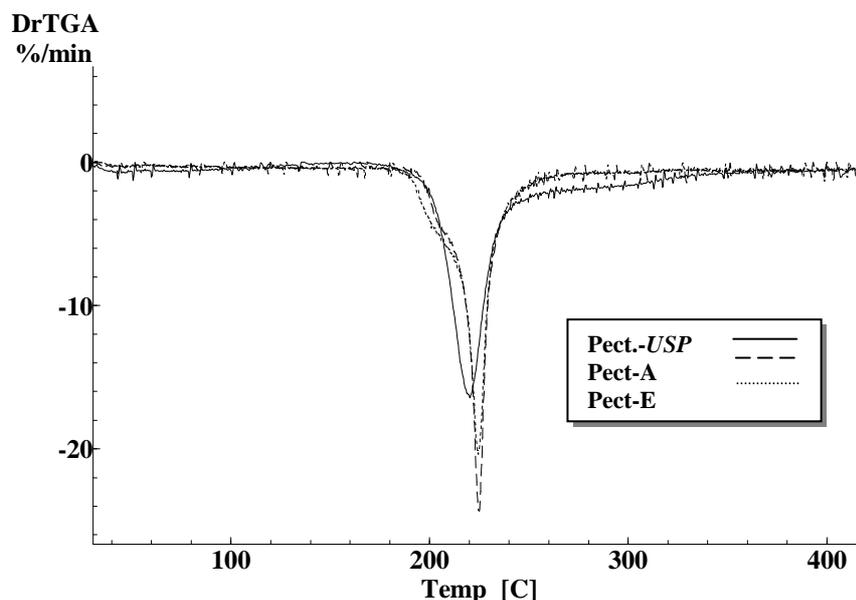


Figura 7 - Gráfico de DTG comparando a principal temperatura de decomposição térmica entre a pectina natural (Pectina-*USP*) e as pectinas reticuladas (Pect-A e Pect-E).

De modo contrário, a decomposição térmica da pectina natural foi maior na primeira etapa de reação, gerando uma menor quantidade de material pirolisado, refletindo em uma perda percentual de massa maior, conforme observado no termograma da Figura 6. Trabalho realizado por Zohuriaan e Shokrolahi (2004) também evidenciou esse mesmo padrão de decomposição térmica e perda de massa em análise de TGA realizado com metilcelulose e carboximetilcelulose de sódio.

### **Características morfológicas macroscópicas dos filmes**

Na Tabela II encontram-se os resultados das características morfológicas mais evidentes analisadas macroscopicamente nas composições poliméricas propostas. Os filmes apresentaram características de transparência e flexibilidade adequadas, as quais foram influenciadas proporcionalmente ao aumento da concentração do polissacarídeo modificado (Pect-TMFT). A presença do plastificante (20 %) favoreceu a coalescência do Eudragit® RS 30 D, associado à Pect-TMFT e ao Bioecolians®, nas associações aplicadas. Petereit e Weisbrod (1999) e Aydinli e Tutas (2000) atribuem essa melhor coalescência à capacidade dos plastificantes em reduzir a temperatura de transição

vítrea ( $T_g$ ) dos polímeros a eles associados, o que aumenta como consequência, a mobilidade das cadeias poliméricas, melhorando a propriedade mecânica dos filmes.

**Tabela II** - Principais características macroscópicas observadas nas diferentes composições (Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D + Pect-TMFT (A e E) + Bioecolians<sup>®</sup>).

<b>Composição (Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D + Pect-TMFT + Bioecolians<sup>®</sup>)</b>	<b>Separação de Fases</b>	<b>Presença de Rachadura</b>	<b>Bolha de Ar</b>	<b>Transparência</b>	<b>Flexibilidade</b>
<b>100:00:00</b>	0	0	0	+++	+++
<b>90:05:05 (A)</b>	0	0	0	++	+++
<b>90:05:05 (E)</b>	0	0	0	++	+++
<b>85:10:05 (A)</b>	0	0	0	++	++
<b>85:10:05 (E)</b>	0	0	0	++	++
<b>80:15:05 (A)</b>	0	0	0	++	+
<b>80:15:05 (E)</b>	0	0	0	++	+

0: Não observada alteração; +: Levemente presente; ++: Mediamente presente; +++: Fortemente presente

É interessante observar, conforme a Tabela III, que as espessuras dos filmes aumentam com a incorporação do polissacarídeo (Pect-TMFT) quando comparados ao filme isolado controle (100:00:00, Eudragit<sup>®</sup> RS 30), mas não é sensível ao teor de Pect-TMFT (5 a 15 %) nem à modificação com TMFT (Pect-A e -E), não havendo aumento significativo na espessura das composições testadas. Trabalhos anteriormente realizados por Gabas e Cavalcanti (2003) e Bunhak, et al. (2007 b) também observaram situação semelhante, onde o polissacarídeo modificado gerou aumento nas espessuras dos filmes isolados formados.

**Tabela III** - Valores das médias das espessuras dos filmes obtidos (Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D + Pect-TMFT (A e E) + Bioecolians<sup>®</sup>), (n=5).

<b>Associações</b>	<b>Espessuras (mm)</b>	<b>Desvio padrão</b>
<b>100:00:00</b>	0,081	± 0,0226
<b>90:05:05 (A)</b>	0,123	± 0,0064
<b>90:05:05 (E)</b>	0,128	± 0,0097
<b>85:10:05 (A)</b>	0,116	± 0,0157
<b>85:10:05 (E)</b>	0,115	± 0,0051
<b>80:15:05 (A)</b>	0,123	± 0,0116
<b>80:15:05 (E)</b>	0,116	± 0,0060

A análise das características morfológicas macroscópicas também permitiu evidenciar homogeneidade na distribuição dos polímeros envolvidos nas diferentes

composições propostas, caracterizando provável compatibilidade entre os constituintes da dispersão, conforme registrado na Tabela II, garantindo reprodutibilidade a partir da metodologia aplicada.

### **Estudo de Permeabilidade / Transmissão de Vapor d'água (TVA)**

Os resultados registrados na Tabela IV e Figura 8 demonstram que a taxa de TVA sofreu influência dependente da composição do filme quando estes foram comparados entre si, incluindo o controle (100:00:00). O aumento na concentração de Pect-TMFT gerou aumento na taxa de transmissão de vapor d'água, quando comparado ao filme controle, caracterizado pela perda de peso do dispositivo. Este fenômeno pode ser justificado pelo aumento da hidrofiliabilidade do sistema causado pela adição do polissacarídeo.

Rosina e colaboradores (2004), quando produziram filmes isolados de Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D associados ao polímero extraído da raiz de *Nelumbo nucifera*, constataram um aumento da taxa de transmissão de vapor d'água proporcional e dependente do aumento da concentração do polissacarídeo incorporado. Bunhak et al. (2007, a e b), utilizando o Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D ou etilcelulose (Surelease<sup>®</sup>) associado ao sulfato de condroitina também observaram semelhante comportamento na permeabilidade, proporcional ao aumento da concentração do polissacarídeo. Esta mesma tendência de aumento da transmissão de vapor d'água e de perda de peso das cúpulas onde foram afixados os filmes pode ser observada na Tabela IV e Figura 8. As composições envolvendo a pectina fosfatada (Pect-TMFT -A e -E) e Bioecolians<sup>®</sup> nas concentrações 90:05:05, 85:10:05 e 80:15:05 apresentaram maior permeabilidade quando comparados ao padrão (100:00:00).

Na Tabela IV também foi possível avaliar o comportamento dos filmes obtidos em relação ao grau de reticulação da pectina modificada através do aumento de TMFT. Em conformidade com trabalhos anteriormente realizados (GLIKO-KABIR et al., 2000, DULONG et al., 2004, LACK et al., 2004, CAVALCANTI et al., 2005), podemos concluir que, ao ligar-se aos grupos hidroxilas da pectina, o trimetafosfato trissódico promoveu redução da hidrofiliabilidade do sistema. Porém, apesar da evidência dessas diferenças de permeabilidade ao vapor de d'água existente entre os filmes isolados testados, prioritariamente para as composições que possuem maior concentração de polissacarídeo modificado, a composição 80:15:05-A apresentou maior taxa de

transmissão de vapor d'água em relação à composição 80:15:05-E (33,33 % m/m de TMFT). Este comportamento provavelmente está dependente de uma maior quantidade de hidroxilas disponíveis para interagir com as moléculas de água. No entanto, o conjunto desses valores não apresentou resultados estatisticamente significativos ( $p < 0,05$ ), segundo análise de variância (ANOVA).

**Tabela IV** - Transmissão de Vapor d'água ( $TVA = g/(m^2 \cdot dia^{-1})$ ) do Controle 100:00:00 RS 30 D e das associações 90:05:05, 85:10:05 e 80:15:05 (RS 30 D + Pect-TMFT -A e -E + Bioecolians<sup>®</sup>, ( $n = 3$ )).

Associação polimérica	Valores perda de peso (g/120 h)	TVA ( $g/m^2 \cdot 24 h$ )
<b>100:00:00</b>	2,0856 g ( $\pm 0,1341$ )	417,120
<b>90:05:05 (A)</b>	2,5426 g ( $\pm 0,1160$ )	508,520
<b>90:05:05 (E)</b>	2,6445 g ( $\pm 0,0467$ )	528,906
<b>85:10:05 (A)</b>	3,1853 g ( $\pm 0,0542$ )	639,653
<b>85:10:05 (E)</b>	3,3949 g ( $\pm 0,0441$ )	678,980
<b>80:15:05 (A)</b>	3,8825 g ( $\pm 0,1001$ )	776,493
<b>80:15:05 (E)</b>	3,5218 g ( $\pm 0,1130$ )	704,367

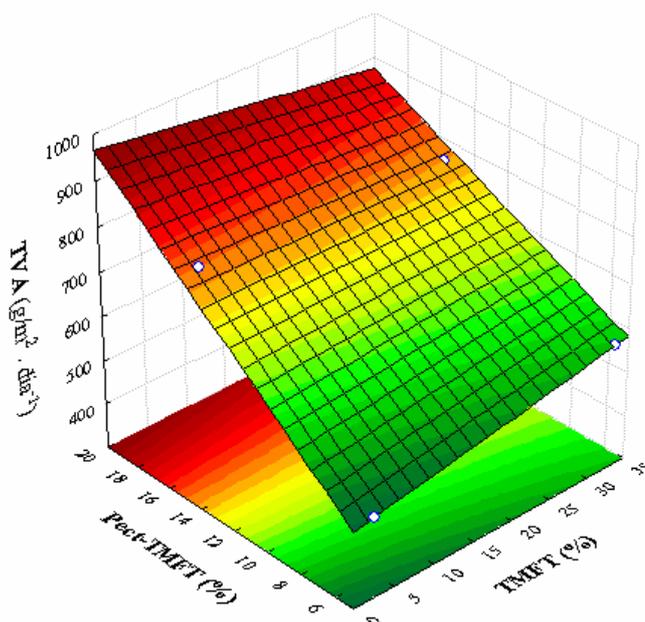


Figura 8 – Gráfico do planejamento fatorial  $2^2$  da Transmissão de Vapor d'água ( $TVA = g/(m^2 \cdot dia^{-1})$ ) dos filmes 90:05:05, 85:10:05 e 80:15:05 (RS 30 D + Pect-TMFT -A e -E + Bioecolians<sup>®</sup> ( $n = 3$ )).

Esta característica de alteração da permeabilidade desperta grande interesse, e encontra-se vinculada ao aumento da concentração do polissacarídeo modificado, assim como, o aumento do grau de reticulação desse polissacarídeo e a adição do pré-biótico

em sua composição. Esta combinação de materiais provavelmente proporcionará material filmogênico detentor de maior vulnerabilidade à fermentação específica no ambiente colônico e poderá aperfeiçoar o controle na difusão de fluidos e fármacos.

#### Determinação do Índice de Intumescimento ( $I_i$ %)

O índice de intumescimento foi determinado para avaliar o grau de hidratação dos filmes isolados obtidos (Figuras 9 A e B). A análise estatística (ANOVA) sobre o conjunto dos dados gerados nos experimentos realizados, registrou diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as composições obtidas quando comparadas ao controle (100% Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D) apenas para a avaliação realizada em FSI (pH=6,8). Entretanto, quando o conjunto desses valores foi submetido ao teste de múltipla comparação de Tukey, apenas as composições 100:00:00 versus 80:15:05-A e 80:15:05-E, 90:05:05-A versus 80:15:05-A e 80:15:05-E, 80:15:05-A versus 90:05:05-E e 90:05:05-E versus 80:15:05-E apresentaram parâmetros significativos ( $p < 0,05$ ).

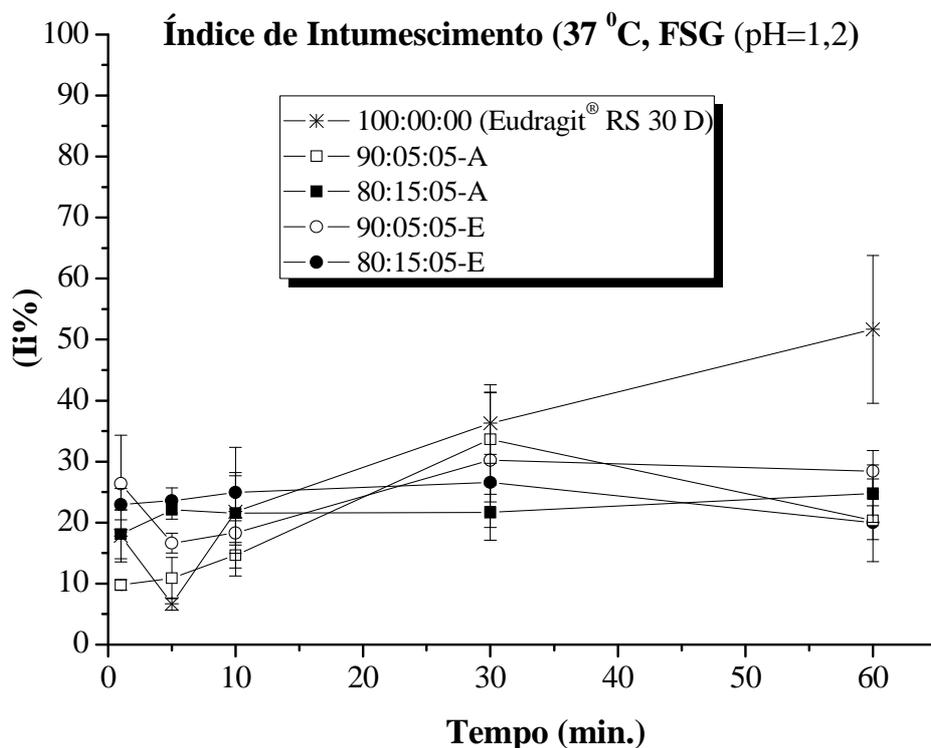


Figura 9 A - Representação gráfica do índice de intumescimento ( $I_i$  %). Avaliação da hidratação do filme padrão (100:00:00 Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D) e das associações 90:05:05, 85:10:05 e 80:15:05 (RS 30 D + Pect-TMFT -A e -E + Bioecolians<sup>®</sup> em fluido de simulação gástrica (FSG), (n=3).

Observando-se os gráficos da Figura 9 A e B, foi possível constatar, nos primeiros minutos do experimento, que os valores de hidratação dos filmes isolados aumentaram em função do aumento da concentração do polissacarídeo modificado, principalmente quando em meio de simulação FSI. Esta condição pode ser atribuída ao pH ácido (1,2) do meio de simulação FSG. Isto interfere de forma significativa na hidratação do polissacarídeo fosfatado, o qual possui uma característica fortemente aniônica devido à presença de grupos carboxilatos e grupos fosfatos. Segundo relatam Mulhbacher et al. (2004), com o aumento do pH espera-se que o intumescimento de polímeros aniônicos, a exemplo da pectina fosfatada, aumente.

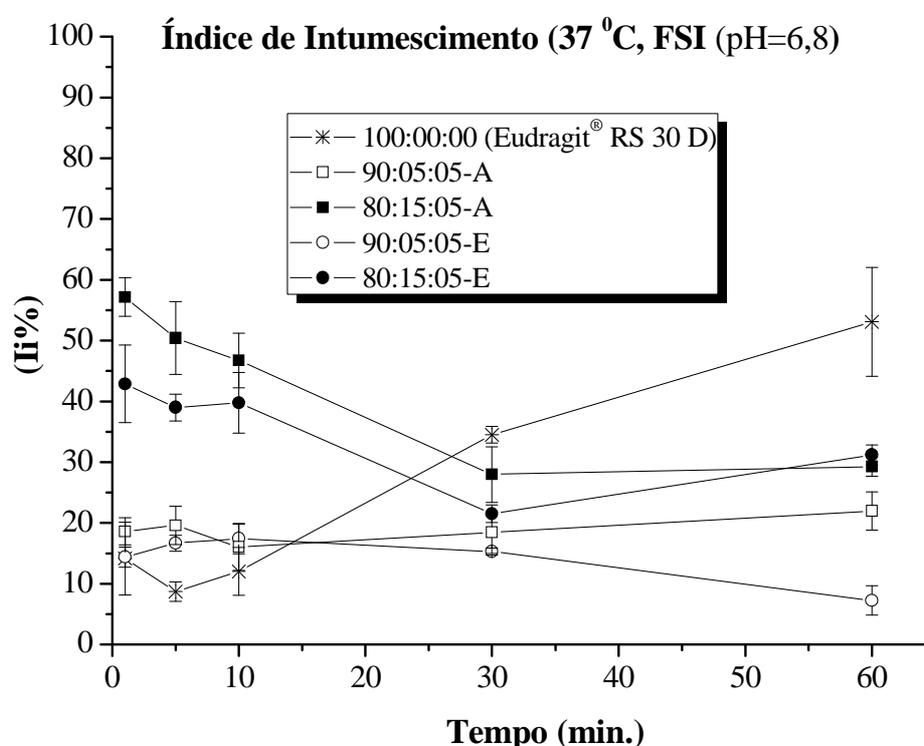


Figura 9 B - Representação gráfica do índice de intumescimento ( $I_i$  %). Avaliação da hidratação do filme padrão (100:00:00 Eudragit® RS 30 D) e das associações 90:05:05, 85:10:05 e 80:15:05 (RS 30 D + Pect-TMFT -A e -E + Bioecolians® em fluido de simulação intestinal (FSI), (n=3).

Esta constatação também foi observada por Gliko-Kabir et al (2000), quando avaliando o grau de hidratação da goma guar fosfatada em fluidos FSG e FSI, evidenciou este mesmo perfil de comportamento. Assim, de modo semelhante em nossos resultados, em FSG a hidratação dos filmes contendo pectina reticulada com TMFT foi menor, devido provavelmente ao pH ácido, o que causa um maior entrelaçamento da malha polimérica, diminuindo conseqüentemente, a absorção de

água. Por outro lado, os mesmos filmes em FSI (pH maior) ocorre expansão da malha polimérica, gerando conseqüentemente uma maior hidratação no intervalo inicial do ensaio.

A partir do gráfico de FSI (pH=6,8) representado pela Figura 9 B, foi possível observar nos primeiros minutos um intumescimento acentuado (40 – 60 %) para as composições com 15% de Pect-TMFT (80:15:05-A e 80:15:05-E) seguido de uma diminuição acentuada (20 – 30 %) na cinética de hidratação desses filmes após 10 minutos. Este resultado provavelmente está relacionado á migração da pectina modificada (Pect-TMFT) registrando decréscimo dos níveis de hidratação, provavelmente relacionado à perda de massa, sugerindo que a pectina mesmo fosfatada, em condições de pH próximo ao neutro (FSI), foi transferida ao meio. Resultado bastante semelhante foi observado por Semdé e colaboradores (1998) durante avaliação de filmes contendo Eudragit® RS 30 D e pectinato de cálcio. A formação de grupos carboxilatos (carboxilato de sódio) durante a reação de fosfatação (em meio básico) da pectina (evidenciando em espectro de *FT-IR*) provavelmente impede a interação da pectina modificada com os grupos catiônicos (amônio quaternário) do Eudragit® RS 30 D.

Complementando, podemos sugerir que quando o filme entra em contato com o FSI (pH=6,8), ocorre maior relaxamento da malha polimérica, permitindo que tanto a pectina fosfatada, assim como o Bioecolians® sejam liberados para o meio, por não ter havido formação de complexo com o polímero de base (Eudragit® RS 30 D). A migração da pectina e/ou Bioecolians® a partir do filme isolado para o FSI, foi qualitativamente observada pela formação de precipitado após adição de acetona ao meio no final do experimento.

O resultado representado pela Figura 9 A e B demonstra também que a partir de uma determinada concentração do TMFT a rede polimérica provavelmente entra em colapso devido ao aumento de ligações intramoleculares em detrimento de ligações intermoleculares (responsáveis pela mobilidade das cadeias poliméricas), refletindo em uma capacidade de hidratação diminuída. Esta observação foi anteriormente descrita por Gliko-Kabir et al (2000) e Dulong et al (2004) em trabalhos realizados utilizando o mesmo agente reticulante (TMFT) na obtenção de polissacarídeos modificados.

Este fato pode ser extremamente positivo do ponto de vista farmacocinético, uma vez que a taxa de liberação de determinados fármacos poderá ser modulada para melhor atender as necessidades farmacotécnicas e/ou terapêuticas.

Oliveira & Cavalcanti (2007) comparando o comportamento de hidratação do controle (100:00 Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D) em FSG e FSI não observaram diferenças estatisticamente significativas, segundo análise de variância (ANOVA). Nossos resultados apresentados nas Figuras 9 A e B estão de acordo com as observações desses autores, já que esse copolímero (de ésteres de ácido acrílico e metacrílico) é insolúvel em água, porém possui grupos amônios quaternários responsáveis pelo intumescimento lento do polímero na presença de fluídos digestivos independentemente do pH do meio em que se encontra.

### Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Observando-se as micrografias obtidas das amostras dos filmes após realização do ensaio de I<sub>1</sub> % em FSG e FSI, conforme a Figura 10 foi possível observar mudanças em suas características morfológicas quando comparadas com a amostra do filme seco (Figura 10, A e D).

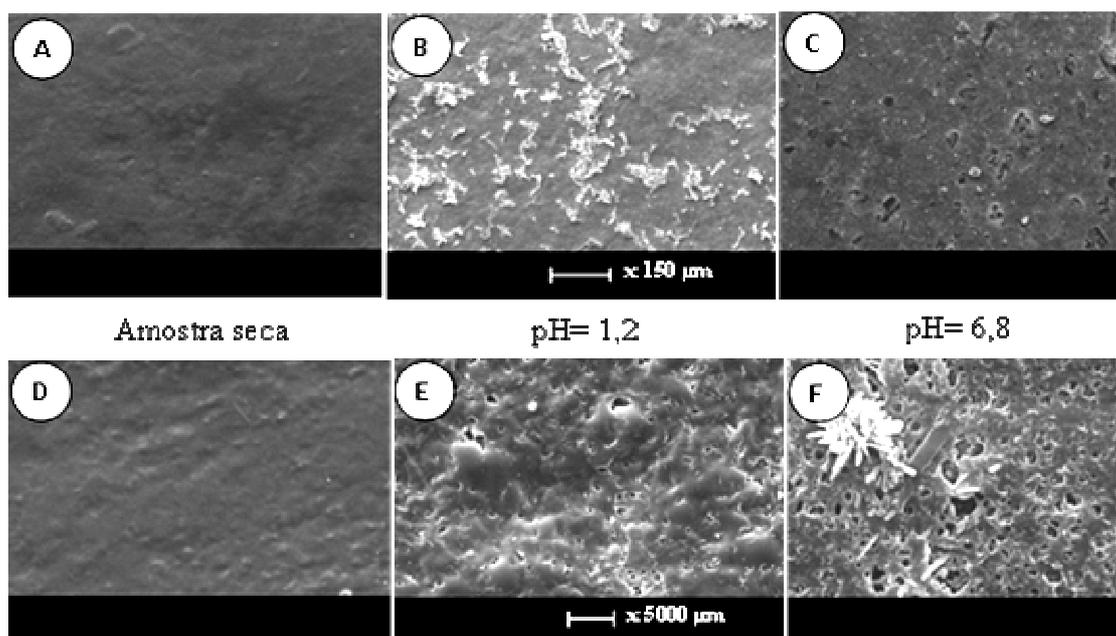


Figura 10 – Micrografias obtidas por meio de MEV do filme de Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D: Pect-TMFT: Bioecolians<sup>®</sup>, 80: 15: 05 - E. Em (A) e (D): amostra seca; (B) e (E): pH= 1,2 e (C) e (F): pH= 6,8.

Quando submetido ao FSG (pH= 1,2) foi possível observar uma superfície bastante heterogênea com a presença marcante da Pect-TMFT e do Bioecolians<sup>®</sup> (Figura 10, B e E). De modo contrário, quando as películas foram imersas em FSI (pH= 6,8), as amostras dos filmes isolados apresentaram falhas em determinadas regiões

(Figura 10, C e F), estando estas provavelmente relacionadas à migração da Pect-TMFT e do Bioecolians<sup>®</sup>, conforme anteriormente discutido na determinação do índice de intumescimento, fenômeno relacionado ao maior relaxamento da malha polimérica quando em contato com FSI.

## CONCLUSÃO

A metodologia proposta neste estudo relativa à modificação/reticulação da pectina (de alta metoxilação) permitiu a geração de novo material (Pect-TMFT) com solubilidade reduzida, adequado ao desenvolvimento de filmes isolados a partir da associação com o polimetacrilato Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D, contendo Bioecolians<sup>®</sup>.

Os resultados obtidos neste trabalho demonstraram que a adição do oligossacarídeo e polissacarídeo (reticulado) ao polimetacrilato Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D em dispersão aquosa promoveu alterações na propriedade de permeabilidade e de hidratação dos filmes formados, quando comparados ao controle (100: 00: 00, Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D), sendo estas dependentes e proporcionais ao aumento da concentração da pectina fosfatada (Pect-TMFT) inclusa nos filmes.

Dessa forma, os filmes obtidos e avaliados representantes da concentração 80: 15: 05 (Pect-TMFT A e E + Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D + Bioecolians<sup>®</sup>) a partir dos ensaios realizados, foi eleito como adequado a habilidade em impedir a liberação prematura do fármaco em região proximal do TGI quando utilizado para revestimento de sistemas sólidos orais. Além disso, a presença da pectina fosfatada e do Bioecolians<sup>®</sup> poderão possibilitar uma degradação específica desta película por enzimas produzidas pela microflora colônica, possibilitando uma cinética de liberação modificada de fármacos sítio-alvo-específica. Entretanto, ensaios posteriores de colo-especificidade *in vitro* e/ou *vivo*, deverão confirmar a aplicação deste novo material.

## ABSTRACT

### **Preparation and physicochemical characterization of the crosslinked pectin by STMP: potential excipient for modified release of drugs**

In this work the pectin was chemically modified by reaction with different amounts of Trisodium trimetaphosphate (STMP) in basified water, obtaining material with lower

hydrosolubility. The physiochemical characterization of this new material was achieved by analyses of *FT-IR*, *DSC* and *TGA*. Phosphated pectin (Pect-TMFT, **A** and **E**) with  $\alpha$ -Glucosyl oligosaccharides (Bioecolians<sup>®</sup>) were incorporated in the aqueous dispersion of polymethacrylate (Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D) for obtaining free films by the casting process (50 °C) in Teflon<sup>®</sup> plate. The dispersions were obtained in the following concentrations (Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D: Pect-TMFT: Bioecolians<sup>®</sup>): 90: 05: 05, 85: 10: 05, 80: 15: 05 and 100:00:00 as control, (4 % p/v). Triethyl citrate (*TEC*) was used as plasticizer (20 % of the mass of the polymethacrylate). The free films were characterized by the determination of water vapour transmission (WVT), by the swelling index ( $I_i$  %) in fluids of gastric simulation (FSG) and intestinal (FSI) and by scanning electron microscopy (SEM). The increase of the modified polysaccharide and Bioecolians<sup>®</sup> in the films favored the permeability of the water vapour. However, when in FSI (pH = 6.8) the films presented decrease of  $I_i$  %, probably due to the migration of the oligo and polysaccharide for the solution, such as observed by the presence of pores in the micrographs of the lyophilized films in FSI. The appraised films can prevent the premature release of the drug in FSG (pH = 1.2) when applied as coating of oral solid systems. Besides, the presence of Pect-TMFT and Bioecolians<sup>®</sup> can favour the specific degradation of the film by enzymes produced by the colonic microflora, making possible a modified release kinetics of drugs.

#### **Uniterms:**

- Phosphated pectin
- Free films
- $\alpha$ -Glucosyl oligosaccharides
- Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D
- Modified release

#### **AGRADECIMENTOS**

À empresa CPKelco (Limeira/SP) pela amostra de pectina *USP* tipo-B. À empresa Almapal (São Paulo/SP) pelas amostras dos produtos Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D - Degussa/Alemanha, e Citrato de trietil (Morflex<sup>®</sup> – EUA). E à empresa Solabia

(Maringá/PR) pela amostra de Bioecolians<sup>®</sup>. Projeto Institucional PPG-UEM, processo 144/2006.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

1. AHMED, A.; BONNER, C.; DESAI, T. A. Bioadhesive microdevices with multiple reservoirs: a new platform for oral drug delivery. **J. Control. Release**, Amsterdam, v. 81, n. 3, p. 291-306, Mar. 2002.
2. AKHGARI, A.; FARAHMAND, F.; GAREKANI, H. A.; SADEGHI, F.; VANDAMME, T. F. Permeability and swelling studies on free films containing inulin in combination with different polymethacrylates aimed for colonic drug delivery. **Eur. J. Pharm. Sci.**, Amsterdam, v. 28, n. 4, p. 307-314, Mar. 2006.
3. AYDINLI, M.; TUTAS, M. Water Sorption and Water Vapour Permeability Properties of Polysaccharide (Locust Bean Gum) Based Edible Films. **Lebensm-Wiss. Technol.**, Amsterdam, v. 33, n. 1, p. 63-67, Feb. 2000.
4. BUNHAK, E. J.; MENDES, E. S.; PEREIRA, N. C.; CAVALCANTI, O. A. Influência do Sulfato de Condroitina na Formação de Filmes Isolados de Polimetacrilato: Avaliação do Índice de Intumescimento e Permeabilidade ao Vapor d'água. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 312-317, Mar./Apr. 2007, *a*.
5. BUNHAK, E. J.; MENDES, E. S.; PEREIRA, N. C.; CAVALCANTI, O. A. Influência do Sulfato de Condroitina na Formação de Filmes Isolados de Etilcelulose. Avaliação das Características de Hidratação e Permeabilidade. **Lat. Am. J. Pharm.**, La Plata, v. 26, n. 1, p. 89-95, Jan. 2007, *b*.
6. CAVALCANTI, O. A.; MOOTER, G. V. Den; CARAMICO-SOARES, I.; KINGET, R. Polysaccharides as Excipients for Colon-Specific Coatings. Permeability and Swelling Properties of Casted Films. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, New York, v. 28, n.2, p. 157-164, Mar. 2002.
7. CAVALCANTI, O. A.; SILVA, C. C. da; PINEDA, E. A. G.; HECHENLEITNER, A. A. W. Synthesis and Characterization of Phosphated Crosslinked Chondroitin Sulfate: Potential Ingredient for Specific Drug Delivery. **Acta Farm. Bonaerense**, La Plata, v. 24, n. 2, p. 1-5, Apr. 2005.
8. CHOURASIA, M. K.; JAIN, S. K. Pharmaceutical approaches to colon targeted drug delivery systems. **J. Pharm. Sci.**, Amsterdam, v. 6, n. 1, p. 33-66, Feb. 2003.
9. CODAGNONE, A. F.; HECHENLEITNER, A. A. W.; PINEDA, E. A. G.; CAVALCANTI, O. A. Goma Guar Fosfatada: Potencial Excipiente no Desenvolvimento de Filmes Isolados de Etilcelulose. **Acta Farm. Bonaerense**, La Plata, v. 23, n. 4, p. 448-52, Oct. 2004.

10. DONGOWSKI, G.; LORENZ, A. and PROLL, J. The Degree of Methylation Influences the Degradation of Pectin in the Intestinal Tract of Rats and In Vitro. **J. Nutr.**, Pennsylvania, v. 132, n.7, p.1935-1944, 2002.
11. DULONG, V.; LACK, S.; CERF, D. Le; PICTON, L.; VANNIER, J. P.; MULLER, G. Hyaluronan-based hydrogels particles prepared by crosslinking with trisodium trimetaphosphate. Synthesis and characterization. **Carbohydr. Polym.**, Oxford, v. 57, n.1, p. 1-6, Dec. 2004.
12. DUPUIS, G.; CHAMBIN, O.; GENELOT, C.; CHAMPION, D. and POURCELOT, Y. Colonic Drug delivery: Influence of cross-linking Agent on Pectin Beads properties and Role of the Shell Capsule type. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, New York, 32, n. 7, p. 847-855, Aug. 2006.
13. FRANSSSEN, O.; OOIJEN, R. D. van; BOER, D. de; MAES, R. A. A.; HENNINK, W. E. Enzymatic Degradation of Cross-Linked Dextrans. **Macromolecules**, London, v. 32, n. 9, p. 2896-2902, Feb. 1999.
14. FRIEND, D. R. New oral delivery systems for treatment of inflammatory bowel disease. **Adv. Drug Deliver. Rev.**, Amsterdam, v.57, n. 2, p. 247-265, Aug. 2005.
15. GABAS, V. G. S.; CAVALCANTI, O. A. Influência da adição da goma arábica em filmes isolados de polímero acrílico. Estudo das propriedades de intumescimento e de permeabilidade. **Rev. Bras. Ciên. Farm.**, São Paulo, v. 39, n. 4, p. 441-448, Oct. 2003.
16. GLIKO-KABIR, I.; YAGEN, B.; PENHASI, A.; RUBINSTEIN, A. Phosphated crosslinked guar for colon-specific drug delivery. I. Preparation and physicochemical characterization. **J. Control. Release**, Amsterdam, v. 63, n. 1-2, p. 121-127, Jan. 2000.
17. 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. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v. 308, p. 52-60, Feb. 2006.
18. IRACHE, J. M., HUICI, M., KONECNY, M., ESPUELAS, S., CAMPANERO, M. A., e ARBOS, P. Bioadhesive Properties of Gantrez Nanoparticles. **Molecules**, Basel, v. 10, n. 1, p. 126-145, Jan. 2005.
19. LACK, S., DULONG, V., PICTON, L., CERF, D. Le and CONDAMINE, E. High resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy studies of polysaccharides crosslinked by sodium trimetaphosphate: a proposal for the reaction mechanism. **Carbohydr. Res.**, Amsterdam, v. 342, n. 7, p. 943-953, 2007.
20. LACK, S.; DULONG, V.; CERF, D. Le; PICTON, L.; ARGILLIER, J. F.; MULLER, G. Hydrogels Based on Pullulan Crosslinked with sodium

- trimetaphosphate (STMP): Rheological study. **Polym. Bull.**, Heidelberg, v. 52, p. 429-436, Oct. 2004.
21. LAMIM, R.; FREITAS, R. A. de; RUDEK, E. I.; WILHELM, H. M.; CAVALCANTI, O. A.; BRESOLIN, T. M. B. Films of chitosan and *N*-carboxymethylchitosan. Part II: Effect of plasticizers on their physiochemical properties. **Polym. Int.**, London, 55, n. 8, p. 970-977, Aug. 2006.
  22. LIU, L.; FISHMANA, M. L.; KOSTB, J.; HICKS, K. B. Pectin-based systems for colon-specific drug delivery via oral route. **Biomaterials**, Amsterdam, v.24, n. 19, p. 3333-3343, Aug. 2003.
  23. MULHBACHER, J.; ISPAS-SZABO, P.; MATEESCU, M. A. Cross-linked high amylose starch derivatives for drug release II. Swelling properties and mechanistic study. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v. 278, n. 2, p. 231-238, 2004.
  24. NURJAYA, S. and WONG, T. W. Effects of microwave on drug release properties of matrices of pectin. **Carbohydr. Polym.**, Oxford, v. 62, n. 3, p. 245-257, 2005.
  25. OLIVEIRA, F. M. de. & CAVALCANTI, O. A. Pré-Bióticos na Formação de filmes isolados de Eudragit<sup>®</sup> RS30D. Avaliação das propriedades de intumescimento e permeabilidade. **Lat. Am. J. Pharm.**, La Plata, v. 26 (3): 325-31, 2007.
  26. ORLU, M.; CEVHER, E.; ARAMAN, A. Design and evaluation of colon specific drug delivery system containing flurbiprofen microsponges. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v. 318, n. 1-2, p. 103-117, Aug. 2006.
  27. PEETERS, R. and KINGET, R. Film-forming polymers for colonic drug delivery: I. Synthesis and physical and chemical properties of methyl derivatives of Eudragit S. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v. 94, n. 1-3, p. 125-134, 1993.
  28. PÉREZ, S.; MAZEAU, K.; PENHOAT, C. H. du. The three-dimensional structures of the pectic polysaccharides. **Plant Physiol. Bioch.**, Amsterdam, v. 38, n. 1-2, p. 37-55, Jan. 2000.
  29. PÉREZ, S.; RODRÍGUEZ-CARVAJAL, M. A.; DOCO, T. A complex plant cell wall polysaccharide: rhamnogalacturonan II. A structure in quest of a function. **Biochimie**, Amsterdam, v. 85, n. 1-2, p.109-121, Jan./ Feb. 2003.
  30. PETEREIT, Hans-Ulrich; WEISBROD, W. Formulation and process considerations affecting the stability of solid dosage forms formulated with methacrylate copolymers. **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, Amsterdam, v. 47, n. 1, p. 15-25, Jan. 1999.
  31. REIS, A.V.; GUILHERME, M. R.; CAVALCANTI, O. A.; RUBIRA, A. F.; MUNIZ, E. C. Synthesis and characterization of pH-responsive hydrogels based on chemically modified Arabic gum polysaccharide. **Polymer**, Amsterdam, v. 47, n.6, p. 1-7, 2006.

32. 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*). **Rev. Bras. Ciên. Farm.**, São Paulo, vol. 40, n. 3, p. 425-431, July 2004.
33. SEMDE, R.; AMIGHI, K.; PIERRE, D.; DEVLEESCHOUWER, M. J.; MOES, A. J. Leaching of pectin from mixed pectin: insoluble polymer films intended for colonic drug delivery. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v. 174, n. 1-2, p. 233-241. Nov. 1998.
34. SILVA, C. A. DA e BRAGA, M. R. Liberação e atividade de moléculas indutoras de fitoalexinas em rubiáceas tropicais: influência da metilesterificação de pectinas. **Ver. Brás. Bot.**, São paulo, v.27, n.2, p. 379-393, 2004.
35. SINGTHONGA, J.; CUIB, S. W.; NINGSANONDA, S. and GOFFC, H. D. Structural characterization, degree of esterification and some gelling properties of Krueo Ma Noy (*Cissampelos pareira*) pectin. **Carbohydr. Polym.**, Oxford, v. 58, n. 4, p. 391-400, 2004.
36. SINHA, V.R.; KUMRIA, R. Microbially triggered drug delivery to the colon. **Eur. J. Pharm. Sci.**, Amsterdam, v.18, n. 1 p. 3-18, Jan. 2003.
37. SINHA, V.R.; KUMRIA, R. Polysaccharides in colon-specific drug delivery. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v. 224, n. 1-2, p. 19-38, Aug. 2001.
38. SIRAGUSA, R. J.; CERDA, J. J.; BAIG, M. M.; BURGIN, C. W.; ROBBINS, F. L. Methanol production from the degradation of pectin by human colonic bacteria. **American Society for Clinical Nutrition**, Pennsylvania, v. 47, p. 848-51, 1988.
39. ZOHURIAAN, M. J. and SHOKROLAHI, F. Thermal studies on natural and modified gums. **Polym. Test.**, Amsterdam, v. 23, n. ,p. 575-579, 2004.

## **Pectina Reticulada por Fosfatação (Pect-TMFT)**

### **X**

## **Pectina Reticulada por Metacrilatação (Pect-GMA) na Formação de Filmes Isolados.**

Os resultados gerados em nossos trabalhos foram obtidos inicialmente, conforme CAPÍTULO 2, pela modificação da pectina através da reação com metacrilato de glicidila (GMA). O objetivo desta reação de modificação foi à introdução de grupos vinílicos na estrutura da pectina. Estes grupos vinílicos posteriormente reagiram via radicais livres gerando retículos entre as cadeias poliméricas, formando material com reduzida solubilidade.

Na segunda fase do nosso trabalho, conforme CAPÍTULO 3, realizamos a modificação estrutural da pectina aplicando o agente de reticulação trimetafosfato trissódico (TMFT). O TMFT é um agente reticulante eficiente aplicado na indústria alimentícia e não apresenta toxicidade humana. O TMFT reagiu com os grupos hidroxilas da pectina ligando-se as cadeias poliméricas, deixando os grupos carboxílicos livres. Essa reação de reticulação promoveu a diminuição da solubilidade da pectina, uma vez que, o número de hidroxilas livres para interagir com a água ficou reduzido.

Em ambos processos a pectina reticulada gerou material com solubilidade reduzida em meio aquoso. No entanto, a reticulação comprometeu a habilidade filmogênica. Visando melhorar a propriedade filmogênica, propusemos neste trabalho associar este polissacarídeo reticulado (Pect-TMFT ou Pect-GMA) à dispersão aquosa do polímero sintético Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D, de acordo com metodologias citadas nos textos. Filmes isolados foram produzidos e avaliados.

Em relação aos ensaios de permeabilidade ao vapor d'água foi possível observar que os filmes compostos por Pect-TMFT apresentaram menores taxas de TVA (400 – 700 g/(m<sup>2</sup>.dia<sup>-1</sup>)) quando comparados aos filmes constituídos por Pect-GMA (970 – 1090 g/(m<sup>2</sup>.dia<sup>-1</sup>)). Este resultado pode ser relacionado não só às diferenças de espessura entre os filmes como também devido ao maior tempo de secagem/reticulação durante a obtenção dos mesmos, conforme a Tabela I.

As diferenças de espessuras podem ser justificadas pela diferença de massa polimérica final entre os filmes de Pect-TMFT (4 % p/v) e Pect-GMA (2 % p/v), sugerindo que os filmes mais finos podem apresentar uma permeabilidade maior.

**Tabela I** - :Variações relativas às características observadas entre os filmes isolados constituídos por Pect-TMFT:Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D:Bioecolians<sup>®</sup> e por Pect-GMA:Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D.

<b>Composição dos Filmes</b>	<b>TEC (%)</b>	<b>Tempo Secagem (hs)</b>	<b>Espessuras (mm)</b>	<b>Massa sólida final (%)</b>	<b>TVA g/(m<sup>2</sup>.dia<sup>-1</sup>)</b>	<b>I<sub>i</sub> (%) (em FSG, pH= 1,2)</b>	<b>I<sub>i</sub> (%) (em FSI, pH= 6,8)</b>
Pect-TMFT: Eudragit <sup>®</sup> RS 30 D: Bioecolians <sup>®</sup>	20	15	~ 0,128 a 0,115	4	~ 400 a 700	~ 9 a 26*	~ 18 a 57*
Pect-GMA: Eudragit <sup>®</sup> RS 30 D	0	24/ 48	~ 0,050 a 0,085	2	~ 970 a 1090	149**	213**

\* I<sub>i</sub> % primeiro minuto; \*\* I<sub>i</sub> % em equilíbrio após 1 h.

Apesar da aplicação de mesma temperatura (50 °C) para ambos os processos, o maior tempo de secagem pode ter gerado uma diminuição da umidade durante a formação dos filmes, o que pode ter influenciado o processo de coalescência entre as cadeias poliméricas, refletindo nas variações observadas, conforme Tabela I e Figura 1. Resultados semelhantes aos nossos foram previamente observados por LIU & WILLIAMS (2002) durante investigação sobre diferentes processos de cura. Esses autores observaram através de MEV, que os filmes submetidos à cura em presença de umidade apresentaram-se mais lisos (sem rugosidade), o que está relacionado à maior resistência aos vapores d'água, ou seja, menores taxas de TVA.

Outro fator que deve ser levado em consideração, diz respeito à presença do plastificante citrato de trietila (TEC) nos filmes constituídos por Pect-TMFT, o que provavelmente melhorou o entrelaçamento das cadeias poliméricas (devido à redução da T<sub>g</sub>), reduzindo sua permeabilidade ao vapore d'água quando comparados com os filmes constituídos por Pect-GMA sem plastificante.

Outro fator que deve ser levado em consideração, diz respeito à presença do plastificante citrato de trietila (TEC) nos filmes constituídos por Pect-TMFT, o que provavelmente melhorou o entrelaçamento das cadeias poliméricas durante formação dos filmes, reduzindo sua permeabilidade ao vapore d'água quando comparados com os filmes constituídos por Pect-GMA sem plastificante. Petereit e Weisbrod (1999) e Aydinli e Tutas (2000) atribuem essa melhor coalescência à capacidade dos plastificantes em reduzir a temperatura de transição vítrea (T<sub>g</sub>) dos polímeros a eles

associados, o que aumenta como consequência, a mobilidade das cadeias poliméricas, melhorando a propriedade mecânica dos filmes.

Também foi possível realizar outra comparação em relação aos resultados dos ensaios de intumescimento ( $I_i$  % e  $I_{eq}$  %) realizados para ambos os filmes. Os maiores índices de intumescimento, após o equilíbrio, foram observados para os filmes constituídos por Pect-GMA tanto em FSG (pH= 1,2) quanto em FSI (pH= 6,8), conforme a Tabela I. De modo contrário, para os filmes constituídos por Pect-TMFT, além de menores índices de  $I_i$  % durante os primeiros minutos do experimento quando comparados aos filmes de Pect-GMA, os mesmos não alcançaram equilíbrio de hidratação ao final do experimento/ensaio, apresentando uma diminuição no  $I_i$  % em função do tempo. Este resultado provavelmente está relacionado à migração da Pect-TMFT e do Bioecolians<sup>®</sup> dos filmes para o meio (quando em FSI), como discutido anteriormente.

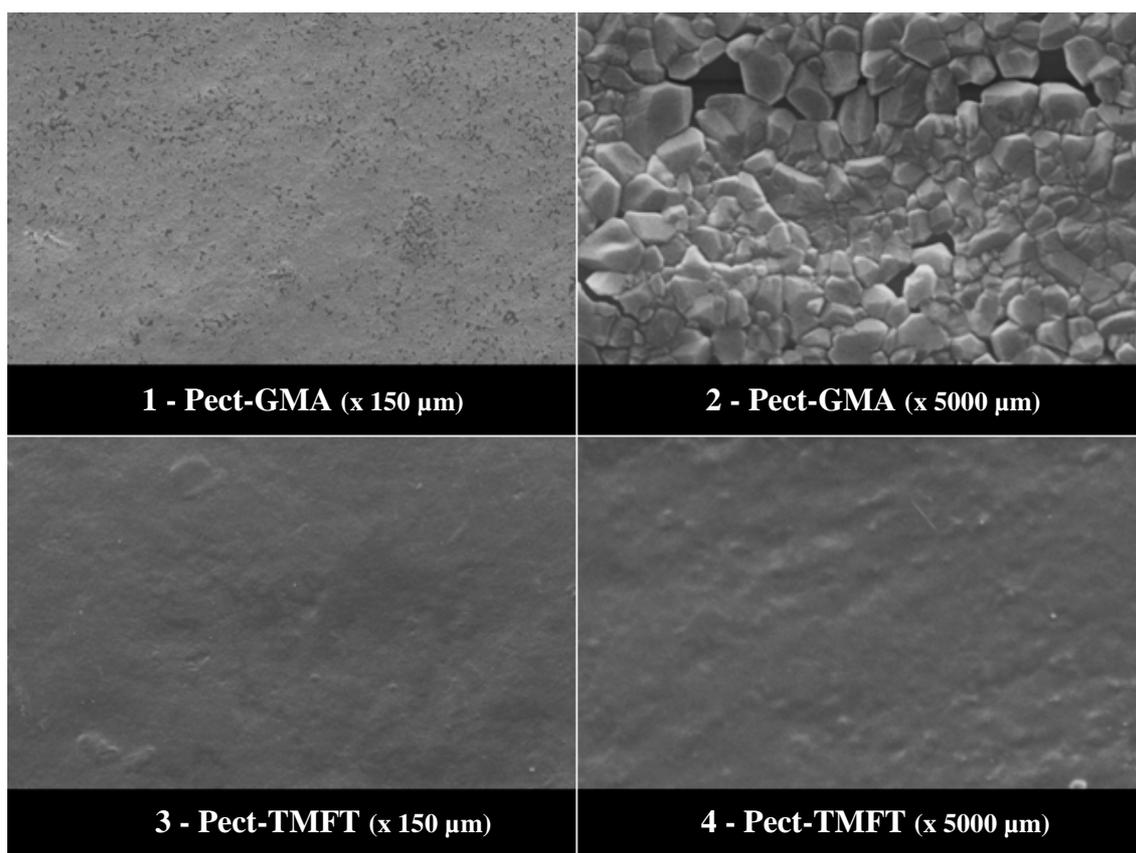


Figura 1 - Micrografias obtidas por meio de MEV. Em **1 e 2**: filmes de Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D: Pect-GMA (24 hs de cura); em **3 e 4**: filmes de Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D: Pect-TMFT: Bioecolians<sup>®</sup> (15 hs de cura), amostras secas.

A diferença nos processos de obtenção dos filmes (Pect-TMFT e Pect-GMA) também pode ter influenciado nas diferenças observadas. Diferentemente da pectina fosfatada (Pect-TMFT), o processo de reticulação da Pect-GMA ocorreu simultaneamente durante o processo de obtenção dos filmes. Quando a dispersão composta por Pect-GMA e Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D foi submetidas à temperatura de 50 °C em estufa, ocorreu a geração de radicais livres a partir do Persulfato de sódio (PS), os quais são responsáveis pela reticulação do polissacarídeo através do ataque às ligações duplas dos grupamentos vinílicos presentes na Pect-GMA (REIS et al., 2003 e 2006; VERVORT et al., 1998).

Assim, durante a reticulação da Pect-GMA, as cadeias do polimetacrilato provavelmente foram aprisionadas entre os retículos formados na pectina durante o processo de formação dos filmes, o que pode justificar o comportamento de hidratação mais acentuado desses filmes. Vale salientar que a possível existência de ligações entre os grupos ácidos carboxílicos (livres de substituição pelo GMA) e os grupos catiônicos (amônio quaternário) do Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D, anteriormente discutido, também podem contribuir para tal resultado ainda que em menor grau, uma vez que impedem a saída da pectina modificada.

Em relação aos filmes constituídos por Pect-TMFT, podemos sugerir que além das cadeias do polimetacrilato não estarem aprisionadas entre as cadeias da pectina fosfatada, a não formação de complexos através de ligações entre os grupos ácidos carboxílicos (devido à presença de carboxilatos, de acordo com espectro de *FT-IR*) e os grupos catiônicos (amônio quaternário) do Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D, previamente relatado, provavelmente contribuí em maior grau para tal resultado, no que se refere à hidratação.

## CONCLUSÃO

As metodologias apresentadas neste estudo relativas à reticulação da pectina (de alta e de baixa metoxilação) permitiram a geração de novos materiais (Pect-TMFT e Pect-GMA) adequados ao desenvolvimento de filmes isolados a partir da associação com o polimetacrilato Eudragit<sup>®</sup> RS 30 D.

Os filmes isolados formados representados pelas combinações poliméricas avaliadas, geraram material com habilidades atrativas ao desenvolvimento de novos sistemas para administração oral de fármacos. Quando aplicados como revestimento farmacêutico estes materiais poderão suportar o tempo de trânsito do TGI, requisito que poderá evitar a liberação prematura de fármacos em região proximal do TGI. A Pect-TMFT tem ao seu favor, a perspectiva de maior vulnerabilidade à fermentação específica no ambiente colônico, proporcionada pela presença do Bioecolians<sup>®</sup>, sugestionando maior sítio – alvo - especificidade ao material.

Entretanto, só a partir de ensaios posteriores de colo-especificidade *in vitro* e/ou *vivo*, poderemos verdadeiramente elucidar a efetiva vulnerabilidade dos materiais obtidos, e desencadear a proposta de aplicação dos materiais na formação de sistemas orais de liberação modificada de fármacos, com aquele material mais adequado ao propósito farmacotécnico e terapêutico.

# 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](#)