

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

INFLUÊNCIA DO ÁCIDO HIALURÔNICO NA FORMAÇÃO DE FILMES ISOLADOS
DE ACETATO POLIVINÍLICO DESTINADOS AO REVESTIMENTO
DE SÓLIDOS ORAIS

Cascavel

2014

GIOVANE DOUGLAS ZANIN

INFLUÊNCIA DO ÁCIDO HIALURÔNICO NA FORMAÇÃO DE FILMES ISOLADOS
DE ACETATO POLIVINÍLICO DESTINADOS AO REVESTIMENTO
DE SÓLIDOS ORAIS

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação *stricto senso* em ciências farmacêuticas (área de concentração – fármacos e medicamentos) da Universidade do Oeste do Paraná para obtenção do título de mestre em ciências farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Osvaldo Albuquerque Cavalcanti.

Co-orientador: Prof. Dr. Élcio José Bunhak.

Cascavel

2014

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

Z31i Zanin, Giovane Douglas
Influência do ácido hialurônico na formação de filmes isolados de acetato polivinílico destinados ao revestimento de sólidos orais. / Giovane Douglas Zanin.— Cascavel, 2014.
57p.

Orientador: Prof. Dr. Osvaldo Albuquerque Cavalcanti
Co-orientador: Prof. Dr. Élcio José Bunhak
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, 2014
Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Farmacêuticas

1. Fármacos – Liberação modificada. 2. CD44. 3. Kollicoat SR 30D®. 4. Sítio-alvo - Especificidade. 5. Tecnologia farmacêutica. I. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. II. Título.

CDD 21.ed. 615.19

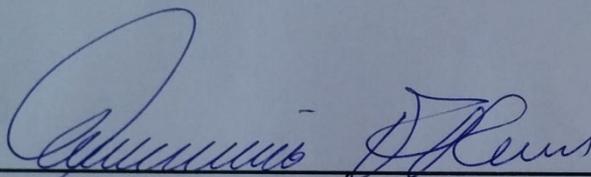
FOLHA DE APROVAÇÃO

DISSERTAÇÃO DEFENDIDA E APROVADA EM 26 DE SETEMBRO
DE 2014.



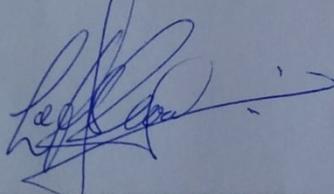
PROF. DR. OSVALDO ALBUQUERQUE CAVALCANTI

PCF-UNIOESTE (ORIENTADOR)



PROF. DR. MAURÍCIO FERREIRA DA ROSA

TITULAR INTERNO (UNIOESTE)



PROFA. DRA. ELISÂNGELA CORRADINI

TITULAR EXTERNO (UTFPR-Londrina, PR)



PROF. DR. EDUARDO BORGES DE MELO

COORDENADOR – PCF-UNIOESTE

*Dedico este trabalho
a minha esposa Ana Zago
e a minha filha Sophia Zago Zanin
por me proporcionarem momentos de alegria
em meio a tantos desafios.*

AGRADECIMENTOS

A Deus criador e mantenedor de todo universo.

Ao Prof. Dr. Osvaldo Albuquerque Cavalcanti pela orientação e amizade; pelos conselhos e momentos de conversas filosóficas a respeito da vida; por compartilhar conhecimento, experiência e boas histórias; pelo entusiasmo em levar aos alunos novas oportunidades.

Ao Prof. Dr. Élcio José Bunhak que sempre incentivou a andar no bom caminho. Que com um simples agradecimento renovou meu ânimo e me estimulou a continuar se esforçando em fazer o melhor.

Ao Prof. Dr. Eduardo Borges de Melo, coordenador do Mestrado em Ciências Farmacêuticas – PCF- UNIOESTE por todo o esforço em trazer este programa para Cascavel e pela dedicação que conduz seus trabalhos.

A todos os professores do PCF- UNIOESTE pela dedicação, paciência e ensinamentos passados.

A bióloga Alessandra Lonaroni pelo esforço em realizar os ensaios e auxiliar na interpretação dos ensaios de FT-IR e micro Raman.

A mestranda Camila Iwanaga pelo auxílio na liofilização das amostras e a doutora Kátia Kern pela realização das microscopias de eletrônicas de varredura.

Aos professores Antônio Medina DFI/UEM e Eduardo Radanovick DQI/UEM por autorizarem a realização dos ensaios de FT-IR E MEV.

Aos professores Isabela Angeli de Lima- UNIOESTE e Rafael Nicolay Pereira UFFS que me socorreram nos momentos que necessitei.

A prof. Patrícia Lucca pelo auxílio na realização das análises estatísticas.

A Faculdade Assis Gurgacz por ceder instalações e equipamentos para desenvolvimento dos filmes isolados e realização dos ensaios de TVA e I (%).

Aos meus colegas de primeira turma de mestrado em ciências farmacêuticas da UNIOESTE em especial João Ricardo Rutkauskis, Eduardo Hosel Miranda e Sérgio Nascimento Pereira pelos momentos de aprendizagem, trocas de experiências e diversão.

A bolsa de pós-doutorado (PNPD/CAPES) ofertada pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UNIOESTE.

A BASF S/A por ceder amostra de Kollicoat SR 30D[®].

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para que eu chegasse até aqui. Porque cada um faz parte de quem eu sou, compartilho com todos essa conquista

“O único lugar onde o sucesso vem antes do trabalho é no dicionário”
Albert Einstein

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	10
REVISÃO DA LITERATURA	11
Formas farmacêuticas de liberação modificada	11
Polímeros e sistemas de liberação de fármaco	15
Revestimento pelificado	17
Acetato polivinílico	19
Ácido hialurônico	20
CD44	21
Estudos realizados com filmes isolados	22
Estudos realizados com ácido hialurônico	25
REFERÊNCIAS	27
INFLUÊNCIA DO ÁCIDO HIALURÔNICO NA FORMAÇÃO DE FILMES ISOLADOS DE ACETATO POLIVINÍLICO DESTINADOS AO REVESTIMENTO DE SÓLIDOS ORAIS	31
REFERÊNCIAS	53

INFLUÊNCIA DO ÁCIDO HIALURÔNICO NA FORMAÇÃO DE FILMES ISOLADOS DE ACETATO POLIVINÍLICO DESTINADOS AO REVESTIMENTO DE SÓLIDOS ORAIS

RESUMO

O acetato polivinílico (AcPV) é um polímero utilizado no desenvolvimento de formulações para liberação sustentadas de fármacos. O ácido hialurônico (AH) possui a habilidade de interagir com receptores nas membranas plasmáticas celulares, em especial o CD44 que está super-expresso em células tumorais. O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo de pré-formulação em filmes isolados de acetato polivinílico (AcPV) adicionados de AH na perspectiva de aplicação em formas farmacêuticas destinadas à liberação modificada de fármacos. Os filmes foram produzidos pelo método de evaporação do solvente e avaliados quanto às características macroscópicas e morfológicas, espessura, espectroscopia no infravermelho (FT-IR), análises térmicas (TG e DSC), microscopia eletrônica de varredura, transmissão de vapor de água e índice de intumescimento. Os resultados demonstraram que a adição de AH permitiu a formação de filmes isolados adequados influenciando na transparência, flexibilidade e espessura. Espectro no FT-IR evidenciaram ocorrência apenas de mistura física entre os constituintes. As curvas TG e DSC indicaram que os filmes são termicamente estáveis até a temperatura de 200 °C. Nas micrografias eletrônicas foi possível observar alterações na estrutura da malha polimérica nas composições 85:15 e 80:20 para as amostras previamente imersas em fluido de simulação gástrica, sendo ainda mais pronunciado após imersão em fluido de simulação intestinal. A concentração do AH também influenciou diretamente a permeabilidade ao vapor de água e o intumescimento, aumentando estes índices. Na perspectiva de aplicação dos filmes avaliados, destacamos as composições 95:05 e 90:10, as quais sugerem maior potencial para aplicação em formas farmacêuticas para liberação modificada de fármacos uma vez que foram os mais semelhantes ao filme padrão e que mantiveram a possível capacidade de sítio alvo especificidade.

Unitermos: Liberação modificada de fármacos, CD44, Kollicoat SR 30D®, sítio-alvo-especificidade.

INFLUENCE OF HYALURONIC ACID ON THE FORMATION OF ISOLATED POLYVINYL ACETATE FILMS FOR ORAL SOLID COATING

ABSTRACT

The polyvinyl acetate is a polymer used in the development of formulations for sustained release of drugs. Hyaluronic acid (HA) can interact with receptors on the plasma membrane, especially CD44 that overexpressed in tumor cells. This paper presents a pre-formulation study of isolated polyvinyl acetate films with the addition of HA to the application perspective in pharmaceutical dosage forms destined to modified drug release. The films were prepared using the solvent evaporation method and evaluated according to macroscopic and morphologic characteristics, thickness, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), thermal analyses (thermogravimetry and differential scanning calorimetry), scanning electron microscopy, water vapor transmission, and swelling index. Addition of HA enabled the formation of isolated films, influencing transparency, flexibility, and thickness. FTIR spectra demonstrated that only physical mixing occurred. TG and DSC curves indicated that films are thermally stable up to 200°C. Electron micrographs showed modifications in the polymer mesh structure in samples (85:15 and 80:20) previously immersed in simulated gastric fluid and more pronounced after immersion in simulated intestinal fluid. The HA concentration also influenced water vapor permeability and swelling increasing these indices. We propose that films with 95:05 and 90:10 compositions can be used for modified drug release, as they were similar to a reference film and maintained targeted delivery.

Keywords: Modified drug release, CD44, Kollicoat SR 30D[®], targeted delivery.

REVISÃO DA LITERATURA

Formas farmacêuticas de liberação modificada

A grande maioria das formas farmacêuticas orais de liberação modificada é elaborada com o objetivo que a liberação do fármaco ocorra lentamente, propiciando um prolongamento de sua ação. Elas possuem imensas vantagens quando comparadas com as formas de liberação convencional, dentre estas destacam-se o controle da cinética de liberação (geralmente é desejável uma cinética de ordem zero), especificidade de ação, diminuição dos efeitos colaterais, simplificação dos esquemas posológicos e maior conforto aos pacientes (ANSEL; POPOVICH; ALLEN, 2000; AULTON, 2005).

Pesquisas estão sendo conduzidas para novas formulações que assegurem uma resposta farmacológica maior, o que por sua vez conduziria a doses mais baixas e, portanto, a minimização de efeitos colaterais. Assim, é necessário melhorar a biodisponibilidade de drogas. A biodisponibilidade é afetada por vários fatores, incluindo as características físicas e químicas do fármaco, a dose e a concentração, a frequência das doses, e da via de administração (VILAR; PUCHEA; ALBERICIO, 2012).

Cada sistema de liberação objetiva eliminar as mudanças cíclicas na concentração de fármaco no plasma, observadas após a administração de um sistema de liberação convencional. Assim, diversas expressões foram criadas para descrever esses sistemas:

- Liberação retardada indica que o fármaco não é liberado imediatamente após a administração, mas um tempo depois.
- Liberação repetida indica que uma dose individual é liberada regularmente logo após a administração, e uma segunda ou terceira doses são subsequentemente liberadas, em intervalos intermitentes. Geralmente contém dois tipos de doses, uma de liberação imediata e outra de liberação prolongada.
- Liberação sustentada indica uma liberação inicial de fármaco, suficiente para disponibilizar a dose terapêutica logo após a administração, a qual é seguida de uma liberação gradual do fármaco, por um período de tempo estendido.

- Liberação controlada (LC) refere-se a formas farmacêuticas que liberam o fármaco em uma velocidade constante e fornecem concentrações plasmáticas que permanecem invariáveis com o tempo.

Entretanto, muitos dos termos utilizados para descrever as diferentes formas de liberação vêm da terminologia em inglês, como “sustained release” (SR), “sustained action” (SA), “prolonged action” (PA), “controlled release” (CR), “extended release” (ER), “timed release” (TR), and “long acting” (LA) (ANSEL; POPOVICH; ALLEN, 2000).

Diferentes sistemas de liberação tempo-controladas podem ser alcançadas dependendo das características do polímero utilizado na formulação. Modulação da estrutura química do polímero pode regular a liberação do princípio ativo e, assim, o perfil da formulação final, obtendo, assim uma formulação de liberação prolongada (intumescimento da matriz polimérica ou pela degradação do polímero), uma formulação de liberação sustentada, em que o ativo é liberado com um perfil cinético de ordem zero (bombas osmóticas), uma formulação de liberação pulsátil, em que as drogas são liberados somente quando exigido pelo organismo; e uma formulação de liberação retardada, em que o fármaco é liberado num momento diferente do momento de administração (polímeros sensíveis a estímulos como por exemplo o pH) (VILAR; PUCHEA; ALBERICIO, 2012).

Tiwari e Rajabi-Siahboomi (2008) relatam as vantagens clínicas e as limitações das formas farmacêuticas de liberação modificada:

Vantagens Clínicas:

- Redução da frequência de administração;
- Melhora na adesão do paciente;
- Redução do nível de flutuação do fármaco no sangue;
- Redução no uso total de fármaco quando comparado com terapia convencional;
- Redução do acúmulo de fármaco na terapia crônica;
- Redução da toxicidade (local/sistêmica);
- Estabilização das condições médicas (porque há mais uniformidade no nível do fármaco);
- Melhora na biodisponibilidade de alguns fármacos por causa do controle espacial;

Vantagens para indústria e comercialização:

- Aumento do ciclo de vida do produto;
- Diferenciação do produto;
- Expansão de mercado;
- Extensão de patente;

Possíveis limitações:

- Demora no início da ação do fármaco;
- Possibilidade de “dose dumping” no caso de estratégia pobre de formulação;
- Aumento potencial para metabolismo de primeira passagem;
- Grande dependência do tempo de residência no trato gastrointestinal;
- Possibilidade de menor precisão no ajuste da dose em alguns casos;
- Custo por unidade de dose é maior quando comparado com doses convencionais;
- Nem todos os fármacos são apropriados para serem formulados com liberação estendida;

A Figura 1 representa as variações da concentração de um fármaco administrado por formas farmacêuticas de liberação convencional e controlada de fármacos.

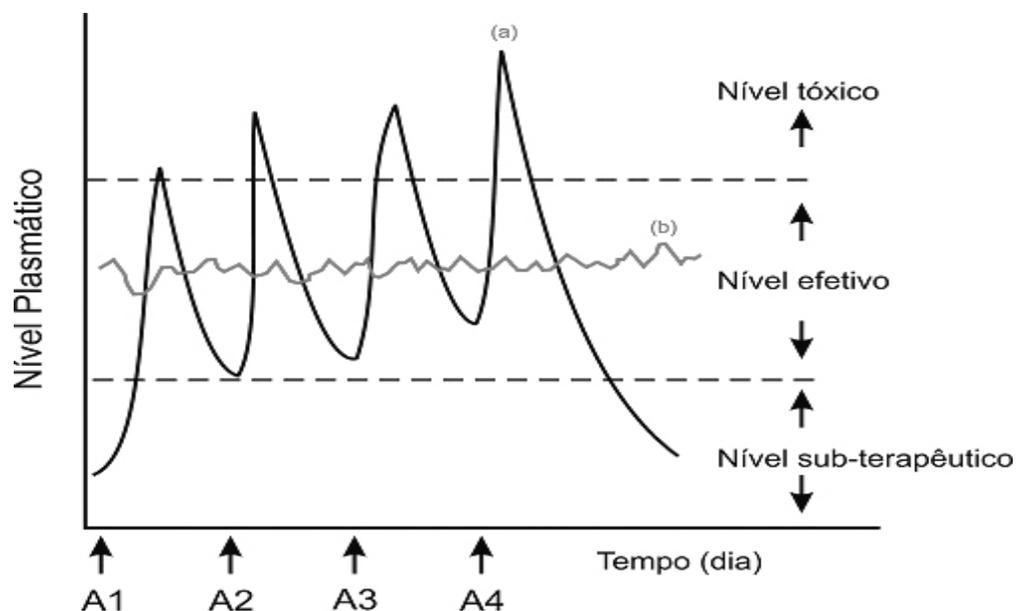


FIGURA 1: Comparação ilustrativa das variações de concentração de fármacos administrados por métodos convencionais de multidose (a) e sistema de liberação controlada (b), sendo (A) a administração do fármaco. Fonte (LYRA *et al.*, 2007)

Outra forma de classificar as formas farmacêuticas de liberação controlada de fármacos é através do sistema utilizado que pode ser matricial ou reservatório.

Nos sistemas matriciais os fármacos estão homogeneamente dispersos em matriz polimérica e sua liberação ocorre por difusão ou poros desta matriz, por erosão do polímero o por uma combinação destes dois mecanismos (FIALHO *et al.* 2003).

Um fármaco molecularmente disperso ou dissolvido num suporte resistente à desintegração, ou seja, num polímero ou agente formador da matriz, que ao entrar em contato com o meio de dissolução pode manter a sua estrutura mais ou menos constante ao longo de todo o processo de dissolução ou pode sofrer um fenômeno de intumescimento e, posteriormente, de erosão (PEZZINI, SILVA, FERRAZ, 2007)

Os sistemas matriciais podem ser compostos por matrizes hidrofílicas ou insolúveis. Nas matrizes hidrofílicas a liberação do fármaco é controlada pelos processos de intumescimento, difusão e erosão. Com a ingestão o sistema entra em contato com os fluídos gastrintestinais e a superfície do polímero hidrata e intumescendo formando uma camada gelificada e assim uma quantidade do fármaco é exposta e liberada. A medida que a água permeia, a espessura da camada de gel aumenta e o fármaco solúvel difunde-se. Quando a camada externa torna-se completamente hidratada começa sofrer erosão, se o fármaco for insolúvel, será liberado desta maneira. A velocidade de liberação do fármaco pode então ser controlada através da proporção de polímero na formulação, assim com o aumento de sua quantidade também aumenta a viscosidade do gel e diminuindo a velocidade de hidratação e conseqüentemente a difusão do fármaco (COLOMBO *et al.* 2000)

Já nos sistemas reservatórios, a droga está em uma cavidade central, núcleo (comprimidos, grânulos ou péletes) envolta por uma membrana polimérica, a qual controla a taxa de liberação do fármaco. O princípio que efetua o controle da liberação do fármaco neste dispositivo é o de barreira. Assim, mudanças na natureza e espessura dessa membrana promovem alterações na velocidade de liberação do ativo (FIALHO *et al.* 2003; PEZZINI, SILVA, FERRAZ, 2007).

Segundo Aulton (2005) a principal diferença entre estes dois dispositivos é a localização do agente modulador de liberação, que nos reservatórios encontram-se na superfície do comprimido ou grânulo, formando uma barreira, enquanto que nos matriciais, o polímero se encontra inserido em toda a malha tridimensional do sistema. Dentre as principais desvantagens

dos dispositivos de reservatório estão relacionados com a possibilidade da ocorrência de dose dumping, devido às imperfeições na película de sistemas unitários; dificuldade no controle das características da membrana em revestimentos peliculares; difícil retenção de sistemas multiparticulados revestidos no trato digestório superior; e desenvolvimento de carga estática durante o encapsulamento de esferóides multiparticulados.

A Figura 2 apresenta a representação esquemática de um sistema reservatório e de um matricial.

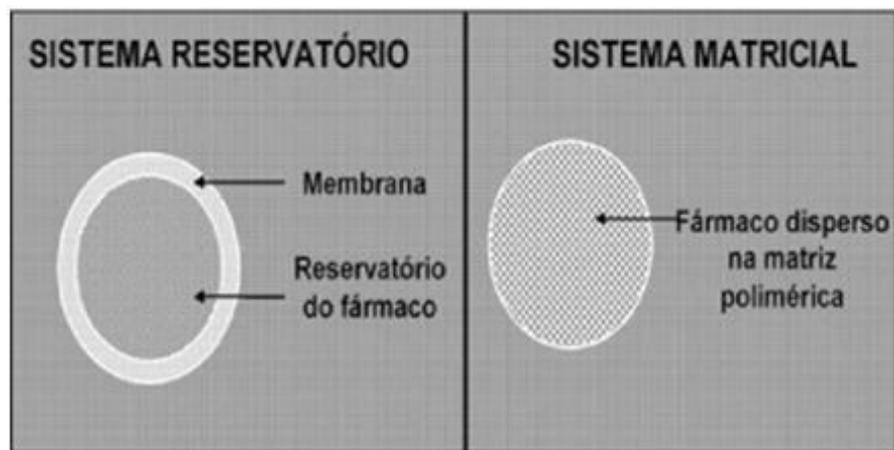


FIGURA 2: Representação esquemática a estrutura de um sistema reservatório e matricial de micro e nanopartículas. Fonte (FIALHO, CUNHA JÚNIOR, 2007)

Polímeros e sistemas de liberação de fármaco

A utilização de compostos poliméricos na indústria farmacêutica vem sendo muito difundido, principalmente, devido à grande quantidade de copolímeros que podem ser obtidos através de diferentes combinações de monômeros e co-monômeros, originando polímeros com propriedades bem distintas (FERREIRA; VILLANOVA, 2006).

Atualmente as formas farmacêuticas de liberação controlada estão na vanguarda de muitas estratégias de formulação. Em contraste com a descoberta de novos fármacos, o trabalho de formulação não se concentra apenas sobre os “meandros” do ingrediente farmacêutico ativo, mas também na escolha dos excipientes, do perfil de liberação, do mecanismo de distribuição para fornecer o benefício terapêutico ideal. Devido à sua vasta gama de aplicações e

funcionalidades, especialmente em terapias de liberação controlada, os polímeros encontram-se entre os excipientes mais amplamente utilizados. Assim, os polímeros, e todos os outros excipientes, são selecionados com base na formulação do sistema de liberação controlada empregado, bem como o mecanismo de liberação selecionado: Entérica ou parentérica (RIOS, 2005)

Devido às suas diversas aplicações e funcionalidades, especialmente em terapias de liberação controlada de fármacos, os polímeros estão dentre os excipientes mais utilizados para a obtenção de revestimento pelicular. Sendo de extrema importância o conhecimento das características físico-químicas dos polímeros e adjuvantes da formulação, assim como dos fatores envolvidos durante o processo de produção, da utilização de diferentes técnicas e equipamentos, assim como, dos núcleos a serem revestidos; proporcionando o desenvolvimento da forma farmacêutica ideal para a finalidade terapêutica pretendida (ROLIM *et al.*, 2009).

Do ponto de vista da química de polímeros, é importante salientar que os mecanismos de liberação controlada necessitam de polímeros com diferentes propriedades físico-químicas. Vários tipos de polímeros já foram testados com potencial de serem utilizados em sistemas de liberação controlada de ativos, incluindo nano e micropartículas, dendrímeros, nano e microesferas, capsosomas e micelas. Nestes sistemas, os fármacos podem ser encapsulados ou conjugado em matrizes poliméricas (VILAR; PUCHEA; ALBERICIO, 2012).

A aplicação da tecnologia de revestimento usando materiais poliméricos tem sido frequentemente utilizada para se obter efetivo controle sobre a liberação de fármacos a partir das formas farmacêuticas convencionais, uma vez que essa alternativa tem proporcionado liberação controlada e precisa do fármaco, com excelente reprodutibilidade. Ao longo das quatro últimas décadas, uma imensa quantidade e variedade de polímeros formadores de filmes têm sido avaliadas e utilizadas para o revestimento de formas sólidas orais (BUNHAK *et al.*, 2007).

A escolha de um polímero para um sistema de liberação de fármacos depende de vários fatores como: as propriedades do princípio ativo, dos polímeros e demais excipientes que irão fazer parte da formulação (OLIVEIRA, LIMA, 2006).

Em resumo, a natureza química dos diversos tipos de polímeros transportadores de ativos disponíveis facilita a distribuição e interação de drogas com o seu tecidos alvo. Estes

transportadores também protegem o ativo de serem metabolizados e diminuem seus efeitos colaterais (VILAR; PUCHEA; ALBERICIO, 2012).

Outra característica importante para que um polímero seja utilizado em formas farmacêuticas de liberação controlada de fármacos é a de ser biocompatível, ou seja, de não produzir reações adversas ou alérgicas no organismo (BRITO, 2009).

Revestimento peliculado

Uma das formas de utilização destes materiais poliméricos é aplicando-os através da técnica de revestimento peliculado. Ao longo das quatro últimas décadas, imensa quantidade e variedade de polímeros filmogênicos têm sido avaliados, e sugeridos para o revestimento de formas sólidas orais (VILLAR, PUCHEA; ALBERICIO, 2012).

O revestimento peliculado, também chamado de revestimento por película é o método mais empregado atualmente na indústria farmacêutica (LACHMAN; LIEBERMAN; KANIG, 2000).

Para Ansel (2000) o revestimento com película é a técnica mais moderna e utilizada, é capaz de realizar um revestimento fino e liso com a capacidade de revelar toda a impressão de baixo ou alto relevo de um comprimido, além de conferir maior resistência a abrasão que as drágeas. Suas principais vantagens são:

- Redução tempo e custo;
- Não requer uso de substâncias isolantes;
- Durabilidade e resistência a ruptura;
- Permitem a identificação do núcleo;
- Proteção contra luz, ar e umidade; Possibilidade de modificar perfil de dissolução;
- Permite o uso de soluções não aquosas e aquosas.

O revestimento por película é um processo que envolve a deposição de uma película fina e uniforme na superfície do substrato, podendo ser utilizado com o objetivo de mascarar odor e sabor da substância, ou de proteção a princípios ativos pouco estáveis. Os principais componentes para qualquer formação de revestimento por película constituem em, polímeros,

plastificantes, corantes e solventes. As propriedades ideais para os polímeros incluem solubilidade em ampla gama de sistemas solventes, habilidade em produzir revestimentos, propriedades mecânicas adequadas e solubilidade apropriada nos líquidos gastrintestinais, de modo que a biodisponibilidade não seja comprometida (VIANA, *et al.*, 2006).

As soluções utilizadas para revestir os comprimidos podem ser não aquosas ou aquosas. As soluções não aquosas estão cada vez mais em desuso devido ao alto custo dos solventes voláteis, da possibilidade de liberação de agentes tóxicos na atmosfera, pelo alto custo dos sistemas de recuperação dos solventes e pelo risco de explosão. Já as soluções de revestimento em base aquosa são as preferidas pela indústria em virtude da redução de custos, apesar de apresentarem lenta evaporação e a possibilidade da água interferir com o núcleo (AULTON, 2005).

Neste contexto destacam-se os polímeros a base de água utilizados em revestimento de formas farmacêuticas destinados a liberação controlada de fármacos como os látex e pseudo-látex.

Os látex e pseudo-látex são dispersões aquosas coloidais, estes sistemas à base de água são caracterizados por uma baixa viscosidade que é independente do peso molecular do polímero e são utilizadas em um grande número de aplicações farmacêuticas, como por exemplo em filmes para revestimentos de formas farmacêuticas de liberação controlada de fármacos (IBRAHIM *et al.*, 1991).

As dispersões de polímeros aquosas são sistemas em que o meio dispersante é a água e o meio disperso é o polímero. Possuem como características a baixa viscosidade e a alta concentração de sólidos dispersos (30 a 50 %) e podem ser diferenciados pelo método de preparação:

- 1) -Látex verdadeiros são preparados pelo método da polimerização em emulsão contendo partículas de 0,3 a 1 μm .
- 2) - Pseudo-látex são preparados pelo processo de emulsificação com solvente orgânico com subsequente remoção deste solvente. Como por exemplo o Aquacoat® (etilcelulose), o Surelease® preparado por inversão de fases, e os Eudragit® RS e RL30D (copolímeros metacrilatos) preparados por troca de solventes. Os tamanhos das partículas nestes casos são inferiores a 1 μm (WHEATLEY, STEUERNAGEL, 1997; BAUER *et al.*, 1998)

Acetato polivinílico

O Kollicoat[®] SR 30D, apresentado na Figura 3 é uma dispersão aquosa composta por 27 % de acetato polivinílico (AcPV), 2,5 % de povidona e 0,3 % de lauril sulfato de sódio. Por ser insolúvel nos líquidos do sistema digestório e com intumescimento independente do pH é utilizado no desenvolvimento de formulações de liberação sustentadas matriciais ou de reservatório como comprimidos, grânulos e péletes. Com a adição de um plastificante adequado os filmes formados com acetato polivinílico possuem propriedades físicas e mecânicas únicas tais como uma grande flexibilidade o que dificulta a ruptura da película (Akhter *et al.*, 2008; BASF, 2010).

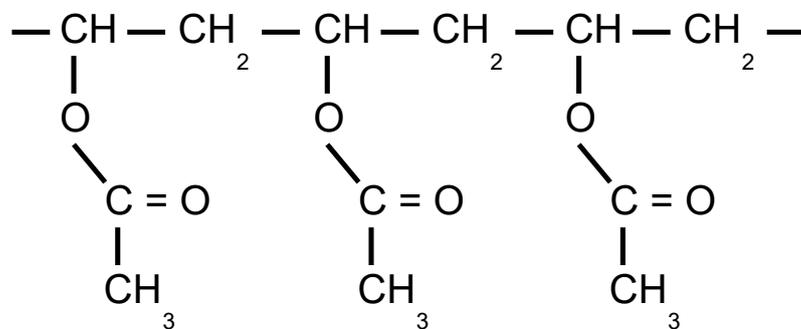


FIGURA 3: Estrutura química do acetato polivinílico - Kollicoat[®] SR 30D (BASF[®])

Kollicoat[®] SR 30D tem uma ampla gama de aplicações podendo ser utilizado para a produção de sólidos orais de liberação prolongada tanto para sistemas matriciais como reservatórios de comprimidos, grânulos ou péletes. No entanto, grânulos de liberação sustentada ou pastilhas também podem ser produzidos (BASF, 2010).

O Kollicoat[®] SR 30D tem sido utilizado ao longo da última década como polímero de liberação controlada de fármacos. Por ser insolúvel em água, pode se adicionar povidona, para controlar a difusão de fármacos pela membrana de sólidos orais, pois está em contato com o meio aquoso se dissolve deixando poros por onde a droga pode permear através de filmes de revestimento (SAWICK, LUNIO, 2005).

Por se tratar de um polímero insolúvel em meio aquoso a liberação do princípio ativo através do filme de revestimento ocorre através do processo de difusão (MILLER, McGINITY, 2008)

A monografia do Acetato polivinílico (Kollicoat SR 30D) esta disponibilizada na Farmacopéia Européia desde abril de 2004.

O produto apresenta um fraco odor característico, baixa viscosidade e aparência de leite de cor branca ou levemente amarelada. Trata-se de um pseudo-látex, e por isto é miscível em água em qualquer proporção. Misturado ao etanol ou álcool isopropílico na razão de 1:5 produz uma ligeira turbidez, em acetona esta se torna mais acentuada. É insolúvel em soluções alcalinas ou ácidas (BASF, 2010).

Ácido hialurônico

O ácido hialurônico (AH) é um glicosaminoglicano não sulfatado de alto peso molecular composto por centenas de repetições de N-acetilglicosamina e de ácido glucurônico unidas alternadamente por ligações β 1,3 e β 1,4. É sintetizado na membrana plasmática por um complexo enzimático de vários tipos celulares, representando o principal glicoaminoglicano dos tecidos conjuntivos e é liberado para fora da célula, à medida que é produzido. (RAMOS, 2006)

Durante os 20 anos entre a descoberta e a determinação completa da estrutura química do ácido hialurônico (AH) ele isolado de muitos tecidos, incluindo fluido sinovial, crista de galo e cordão umbilical. Entretanto, a extração do AH desses tecidos apresentava várias dificuldades, entre elas a retenção de proteínas. Já na década de 60 e 70 foi estabelecido seu mecanismo de biossíntese. O ácido hialurônico também é conhecido como hialuronato de sódio, hialuronan ou como *Natrii hyaluronas*. (SHIMOJO, 2011).

A Figura 4 apresenta a estrutura química do ácido hialurônico.

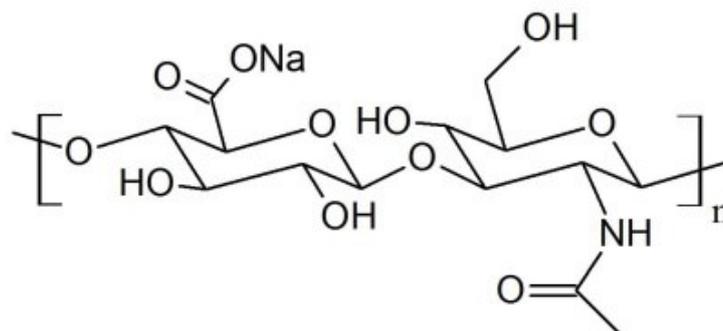


FIGURA 4: Estrutura química do Ácido hialurônico – Sal sódico (Contipro Group)

As funções e aplicações do AH estão associadas basicamente às suas características estruturais, e às possíveis modificações químicas que este polímero pode sofrer, as quais podem determinar suas propriedades reológicas, de solubilidade, de hidratação e de reconhecimento celular específico. Além disso, o AH é não-imunogênico, biocompatível e biodegradável, e por isso possui diversas aplicações como biomateriais (SHIMOJO, 2011).

Conforme mencionado por Figueiredo *et al.*(2010) o AH tem sido usado em diversas especialidades médicas, entre as quais dermatologia, ortopedia, otorrinolaringologia e oftalmologia.

- Na dermatologia, o AH tem sido empregado no tratamento de úlceras crônicas de pele, acelerando a cicatrização dessas lesões;

- Em ortopedia, vem sendo utilizado no preenchimento de articulações acometidas por osteoartrose e por artrite;

- Em otorrinolaringologia, tem sido utilizado como adjuvante na cicatrização de perfurações timpânicas;

- Na oftalmologia, o uso de AH já é bem difundido como substância viscoelástica para utilização em cirurgias intraoculares, principalmente na cirurgia de catarata. Entretanto, novas aplicações oftalmológicas têm sido propostas para esse mucopolissacarídeo.

Na tecnologia farmacêutica o AH também é utilizado na preparação de sistemas para encapsulação e liberação controlada de fármacos, cosméticos e agentes quimioterápicos (KIM, 2005).

CD44

O AH Hialurônico possui receptores nas membranas plasmáticas das células, sendo o principal o CD44. Acredita-se que esta estrutura tem importância na realização das funções como: interação célula-célula; e célula-matriz extracelular. O CD44 é uma glicoproteína expresso em vários tipos de células onde possui a função de adesão celular, incluindo linfócitos, células mielóides, fibroblastos, retina e células gliais do Sistema Nervoso Central. Na superfície da célula o ácido hialurônico pode interagir com diferentes receptores, ser endocitado e

funcionar como um sinalizador para eventos como migração e proliferação celular. (BARBOSA *et al.*, 2008).

O CD44 é uma glicoproteína transmembrana tipo I, expresso em vários tipos de células mesenquimal e neuroectodermal. Sua função é importante na adesão de moléculas e na internalização celular do HA. A interação entre o ácido hialurônico e CD44 influencia adesão a componentes da matriz extracelular, e que está envolvido na estimulação de agregação, a proliferação celular e migração, e angiogenesis. Todas estas propriedades biológicas são essenciais para a fisiologia normal da célula, mas em determinadas condições que estão associadas com as atividades patológicas, em particular aqueles de células cancerosas (TRAPASSO, ALLEGRA, 2012).

Estudos demonstram que o receptor CD44 que está super-expresso em células cancerígenas como o de câncer colorretal, células transformadas do tecido epitelial da mama, e de pulmão de não pequenas células, o qual é considerado um biomarcador. Como o Ácido Hialurônico funciona como um alvo ativo, pode interagir com diferentes receptores melhorando a permeabilidade e o efeito de retenção e aumentando o índice terapêutico (JAIN *et al.*, 2009, FRANK *et al.*, 2014)

Novos estudos mostram que o CD44 é um importante biomarcador de uma subpopulação celular chamadas de Células Tronco Cancerosas (CSCs) que são capazes de auto renovação e têm a capacidade de iniciação, progressão, invasão, metástase, recidiva do tumor, e resistência à quimioterapia e radioterapia (TRAPASSO, ALLEGRA, 2012)

Estas células dentro de uma população de CSDs de câncer de mama foram confirmados para ter um fenótipo CD44⁺ e CD24⁻. Forte expressão de CD44 desempenha um papel crítico em numerosos tipos de cânceres humanos (PUC *et al.*, 2011)

Estudos realizados com filmes isolados

Gabas e Cavalcanti, 2003 demonstraram que a incorporação do polissacarídeo Goma Arábica ao polimetacrilato Eudragit RS30D[®] em dispersão aquosa gerou alterações nas propriedades dos filmes formados, quando comparados ao controle. Estas alterações foram dependentes e proporcionais ao aumento da concentração da Goma Arábica que favoreceu o grau de hidratação e a permeabilidade ao vapor d'água. Assim, concluíram que os filmes

constituídos por estas associações poderão garantir acessibilidade ao filme, com maior intensidade quando comparado ao polimetacrilato individualmente, condição essa indispensável para biodegradação efetiva, em especial nas regiões distais do TGI.

Oliveira *et al.* (2010) verificaram que a adição de β -ciclodextrina a uma solução aquosa dispersão de Eudragit[®] FS 30 D alterou as propriedades dos filmes obtidos comparados com os da película de controle. Os resultados sugerem que os filmes obtidos mostraram promessa para aplicação em sistemas de reservatório para liberação no trato gastrointestinal distal, considerando a qualidade das películas formadas.

Também Bunhak *et al.* (2007) demonstraram que a adição do polissacarídeo sulfato de condroitina natural ou modificado ao polimetacrilato Eudragit[®] RS 30 D em dispersão aquosa promoveu alterações nas propriedades dos filmes formados, quando comparados ao controle (100%), sendo estas dependentes e proporcionais ao aumento da concentração do sulfato de condroitina natural ou modificado. Os valores registrados relacionados à hidratação, assim como à permeabilidade e às propriedades morfológicas encontraram dependência no aumento da participação do sulfato de condroitina natural ou modificado, gerando filmes mais permeáveis e com maior grau de hidratação, quando comparados ao controle (100% de Eudragit[®] RS 30 D). Os filmes na composição 90:10 com sulfato de condroitina modificado demonstraram índice de hidratação, permeabilidade e propriedades morfológicas com potencial de aplicação como um insumo no desenvolvimento de novos sistemas para a liberação modificada de fármacos.

Já Alves *et al.*, 2009 demonstraram que a adição de α -GOS (α -glucossacarídeo) e/ou Tween[®] 80 na dispersão aquosa de etilcelulose (Surelease[®]) permitiu a formação de filmes isolados com excelentes propriedades filmogênicas. Os filmes isolados mantiveram as características originais, independentemente da inserção dos aditivos, não influenciando na estabilidade térmica dos filmes, acontecendo apenas mistura física entre os componentes das formulações, e que estes se apresentaram homogêneos com características morfológicas similares ao filme padrão. Necessitando de estudos colo-especificidade *in vitro* e/ou *in vivo* para utilização em sistemas para liberação nas regiões distais do trato gastrointestinal.

Souto-Maior *et al.*, 2008 produziram filmes de Pectina fosfatada (Pect-TMFT) juntamente com o α -Glucooligossacarídeo (Bioecolians[®]) adicionados à dispersão aquosa de polimetacrilato (Eudragit[®] RS 30 D) e verificou que a presença de pectina fosfatada e do

Bioecolians[®] poderão possibilitar uma degradação específica da película por enzimas produzidas pela microbiota colônica, independente de variações de pH que possam existir entre diferentes indivíduos, possibilitando uma cinética de liberação modificada de fármacos sítio-alvo-específica. Porém, ensaios posteriores de colo-especificidade *in vitro* e/ou *in vivo*, poderão confirmar a aplicação deste novo material.

Em outro estudo Baroni e Cavalcanti (2004) produziram filmes utilizando o polissacarídeo extraído da raiz de Lótus (*Nelumbo nucifera*) adicionado a polimetacrilato (Eudragit[®] RS 30D) em diferentes concentrações e analisados quanto ao índice de intumescimento e permeabilidade ao vapor d'água. Os resultados obtidos para as diferentes associações testadas envolvendo as características de transparência (opacidade) e de flexibilidade alteradas e dependentes do aumento da concentração do polissacarídeo demonstrando manutenção das propriedades físico-químicas do polímero sintético contendo polissacarídeo, o que permite sugerir o material obtido como candidato potencial ao desenvolvimento de sistema para liberação colônica. (ROSINA, BARONI, CAVALCANTI, 2004)

A adição de polissacarídeos vulneráveis aos complexos enzimáticos de bactérias colônicas têm sido incorporados a filmes de revestimento tempo-dependentes como ferramenta de se obter sistemas de liberação cólon específico. Neste sentido, foram avaliados a influência do exopolissacarídeo levana em filmes de Eudragit RS 30 D. Os resultados deste estudo sugerem que a levana pode ser usado como aditivo em filmes de polimetacrilatos como material para sistemas de liberação cólon específica. A Levana melhorou a mobilidade hidrofílica do sistema. Estes resultados sugerem que os filmes produzidos podem ser utilizados como um revestimento de formas farmacêuticas sólidas de via oral para o tratamento de patologias específicas do cólon (SANTOS *et al.*, 2013).

Wei e colaboradores (2009) desenvolveram filmes isolados de Kollicoat SR 30D associados a pectina e verificaram que estes possuíam boas propriedades mecânicas que foram sensíveis as de enzimas bacterianas colônicas. A extensão da digestão, taxa de transmissão de vapor de água e índice de intumescimento foram proporcionais a quantidade de pectina presente na película e concluíram que a adição deste polissacarídeo aos filmes de acetato de polivinil pode direcionar a liberação de fármacos para o intestino grosso, local em que a pectina seria decomposta.

Em outro estudo Andreazza e Ferraz (2001) avaliaram o perfil de dissolução de grânulos ácido ascórbico revestido com Kollicoat® SR 30 D e verificaram que o efetivo controle na liberação do fármaco proporcional ao nível de revestimento (Figura 5). Isto permitiu que o perfil de dissolução de uma droga com elevada solubilidade em água pode ser modificada por alteração da espessura da camada de revestimento, contudo sem alterar o mecanismo do processo de liberação.

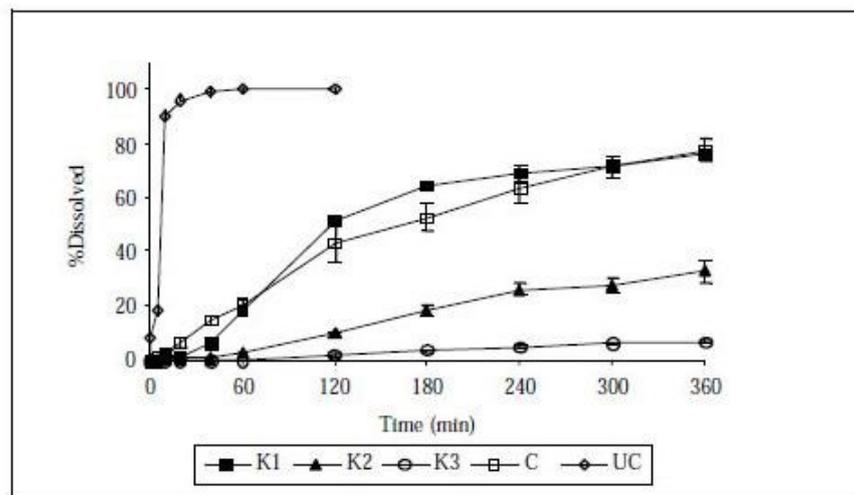


FIGURA 5: Dissolução de péletes contendo ácido ascórbico: K1, K2 e K3 revestimento por 45, 90 e 160 minutos respectivamente; C: referência e UC: péletes sem revestimento. Fonte: Andreazza e Ferraz (2011).

Estudos realizados com ácido hialurônico

Yadav *et al.* (2007), desenvolveram nanopartículas formada pelo copolímero poliácido hialurônico (etilenoglicol)-poli (lactido-co-glicolido) (HA-PEG-PALG) contendo doxorrubicina (DOX). Verificaram que este sistema foi capaz de sustentar a liberação por até 15 dias nos estudos *in vitro*. No estudo *in vivo* realizados em tumor ascético de Ehrlich de camundongos os resultados demonstraram elevada distribuição e alta concentração de DOX no tumor, desencadeando significativa redução do tamanho da neoplasia instalada.

Jaim *et al.* (2010), desenvolveram e testaram nanopartículas de AH conjugadas a quitosana (HACT) para liberação de oxaliplatina em câncer coloretal de ratos. Os resultados dos estudos de regressão do tumor revelaram um atraso no crescimento dos tumores de $(8 \pm 1,7$

dias) utilizando HACT contra (1 ± 0.21 dias) para nanopartícula de oxaliplatina livre e ($4 \pm 0,11$ dias) para quitosana-oxaliplatina. A partir destes experimentos foi observado claramente que HACT causou uma melhoria significativa na eficácia terapêutica, apresentando importante efeito inibidor do crescimento do tumor.

REFERÊNCIAS

- ANDREAZZA, I. F.; FERRAZ, H. G. Preparation of Pellets Containing Highly Soluble Drug by Extrusion/Spheronisation and Coating with Kollicoat SR30D. **Brazilian archives of biology and technology**. v.54, n. 2, p.315-320, 2011.
- ANSEL, H.C.; POPOVICH,N.G.; ALLEN JR, L.V. **Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 6. ed. São Paulo: Premier, 2000.
- ALVES, Bruno R.V, REIS, André L., HECHENLEITNER, Ana A. W., PINEDA, Edgardo A.G; JOB Aldo E.; CAVALCANTI, Osvaldo A. Aditivos de Formulação na Formação de Filmes Isolados de Etilcelulose. Estudos Físico-Químicos e Morfológicos. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.28, n.6, p. 885-91, 2009.
- AULTON, M.E. **Delineamento de forma farmacêuticas**. 2º ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- BASF, **Kollicoat SR 30D – Informativo técnico, 2010**. Disponível em:<http://www.pharma-ingredients.basf.com/Statements/Technical%20Informations/EN/Pharma%20Solutions/03_030727e_Kollicoat%20SR%2030%20D.pdf>. Acesso em: 21 fev. 2014.
- BERTUZZI, M. A.; VIDAURRE, E. F.; ARMADA, M. GOTTIFREDI, J. C. Watervapor permeability of edible starch based films. **Journal of Food Engineering**, v.80, n.3, p.972–978, 2007.
- BARBOSA, L. H. F; RAMOAS, H. V. L.; NEVES, L. R.; BIASE, N. G.; OSHIMA, C.; PEDROSO, J. E. S.; PONTES, P. A. L. Detecção de receptor de ácido hialurônico em prega vocal humana por método imunohistoquímico, **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v.74 n.2, p.201-206, 2008.
- BAUER, K. H.; LEHMANN, K.; OSTERWALD, H. P; ROTHGANG, G. **Coated phamrceutical dosage forms**. Stuttgart: Medpharm Scientific, 1998.
- BRITO, M. K. M.; SCHELLINI, S. A.; PADOVANI, C. A.; PELLIZZON, C. H.; GALVÃO, C. Inclusões de quitosana no subcutâneo de rato: avaliação clínica, histológica e morfométrica. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. v.84, n.1, p.35-40, 2009.
- 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. **Química Nova**, v.30, n.2, p.312-317, 2007a.
- COLOBO, P.; BETTINI, R.; SANTI, P. PEPPAS, N. A. Swellable matrices for controlled Drug delivery: gel-layer ebehavior, mechanisms and optimal performance. **Pharmaceutical Science & technology today**, v..3, n.6, p. 198–204, 2000.
- FERREIRA, A.O.; VILLANOVA, J. **Excipientes e adjuvantes farmacotécnicos**. São Paulo: 2006.
- FIALHO, S. L.; REGO, M. G.B.; CARDILHO, J.A.; SIQUEIRA, R. C.; JORGE, R.; CUNHA JÚNIOR, A. S. Implantes biodegradáveis destinados ‘a administração intra-ocular. **Arquivos brasileiros de oftalmologia**, v.66, n.6. p. 891-896, 2003.

FIALHO, S. L.; CUNHA JÚNIOR, A. S. Sistemas de transporte de drogas para o segmento posterior do olho: bases fundamentais e aplicações. **Arquivos brasileiros de oftalmologia**, v.70, n. 1, 2007.

FIGUEIRÊDO, E. S.; MACEDO, A. C.; FIGUEIRÊDO, P. F. R.; FIGUEIRÊDO, R. S. Aplicações oftalmológicas do ácido hialurônico. **Arquivos brasileiros de oftalmologia**, v.73, n.1, 2010.

FRANK, D.; TYAGI, C.; TOMAR, L.; ECHOONARA, Y.; TOIT, L.C.; KUMAR, P. Overview of the role of nanotechnological innovations in the detection and treatment of solid tumors. **International Journal of Nanomedicine**, v.9, n.1, p.589-613, 2014.

FREIRE, A. C.; PODCZECK, F.; SOUZA, J.; VEIGA, F. Liberação específica de fármacos no cólon por via oral. II - Tipos de sistemas utilizados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol.42, n.3, 2006.

GABAS, V.G.S.; CAVALCANTI, O.A. Influência da adição de goma arábica em filmes isolados de polímero acrílico. Estudo das propriedades de intumescimento e de permeabilidade. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.39, n.4, p. 441-448, 2003.

IBRAHIM, H.; BINDSCHAEDLER, C.; DOELKER, E.; BURI, P.; GURNY, R. Concept and development of ophthalmic pseudo-latexes triggered by pH. *International Journal of Pharmaceutics*, v.77, n.2-3, p.211-219, 1991.

JAIN, A.; JAIN, S. K.; GANESH, N. BARVE. J.; BEG, A. M. Design and development of ligand-appended polysaccharidic nanoparticles for the delivery of oxaliplatin in colorectal câncer. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v.6, n.1, 2010.

KIM, S. J.; HAHN, S. K.; KIM; M. J.; KIM, D. H.; LEE, Y. P. Development of a novel sustained release formulation of recombinant human growth hormone using sodium hyaluronate microparticles. *Journal of Controlled Release*, v.104, p.323-335, 2005.

LACHMAN L.; LIEBERMAN H.A.; KANIG J.L. Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica. vol.2. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2000.

LYRA, M. A. M.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; BRASILEIRO, M. T.; ROCA, M. F. L.; BARRAZA, J. A.; VIANA, O.S.; ROLIM-NETO, P. J. Sistemas Matriciais Hidrofílicos e Mucoadesivos para Liberação Controlada de Fármacos. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.26, n.5, p.784-793, 2007.

MILLER, D. A.; MCGINITY, J. W. **Aqueous polymeric film coating. Pharmaceutical dosage forms: tablets**. 3ed. New York : Informa Healthcare, 2008.

OLIVEIRA, L. S., JESUS, L., HECHENLEITNER, A. W., CAVALCANTI, O. A. Películas livres e polímero acrílico contendo β -Ciclodextrina como material potencial para a entrega do cólon: permeabilidade, Propriedade inchaço e análises físico-químicas. **Latin American Journal of Pharmacy**, n.30. v.5, 2011.

OLIVEIRA, R.B.; LIMA, E.M. Polímeros na Obtenção de Sistemas de Liberação de Fármacos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.3, p.29-35, 2006. Acessado em 28 de novembro de 2013 em <http://www.pharmtech.com/pharmtech/Formulation+Article/Polymers-for-Controlled-Release-Formulation-Follow/ArticleStandard/Article/detail/166548>

PEZZINI, B. R.; SILVA, M. A. S.; FERRAZ, H. G. Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.43, n.4, p.491- 502,2007.

PILLAI, O.; PANCHAGNULA, R. Polymers in drug delivery, **Current Opinion in Chemical Biology**, v.5, p. 447-451, 2001.

PUC, P. V.; NHAN, P. L. C.; NHUNG, T. H.; TAM, N. T.; HOANG, N. M.; TUE, V. G.; THUY, D. T.; NGOC, P. K. Downregulation of CD44 reduces doxorubicin resistance of CD44 +CD24⁻ breast cancer cells. **Oncotargets and Therapy**, v.4, p.71–78, 2011.

RAMOS, K, L, Análise comparativa da distribuição espacial de moléculas envolvidas na migração e invasão de um tumor cerebral de rato in vivo. Tese de doutorado em Ciências biomédicas Universidade de São Paulo, 2006.

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*). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.40, n.3, 2004.

RIOS, M. Polymers for Controlled Release: Formulation Follows Function. **Pharmaceutical Technologys**, v.6, n.29, p.42-50, 2005.

ROLIM, L, A.; LESSA, M. M.; ALVEZ, L. D. S.; FREITAS-NETO, J. L.; ALVES, S. M. A.; ROLIM-NETO, P. J. Aplicações de revestimento em formas farmacêuticas sólidas na indústria farmacêutica. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.90, n.3, p.224-230, 2009.

SANTOS, L. F.; PINEDA, E. A. G.; CELLIGOI, M. A. P. C.; CAVALCANTI, O. A. Levan as a new additive for colon-specific films: A new approach in the use of exopolysaccharides in time-dependent free films (Aminoalkyl Methacrylate Copolymer RS). **Pakistan journal of pharmaceutical sciences**, v.26, n.5, p.943-948, 2013.

SAWICKI, W.; LUNIO, R. Compressibility of floating pellets with verapamil hydrochloride coated with dispersion Kollicoat SR 30 D. **European Journal of Pharmaceutics and biopharmaceutical**, v.60, p.153-158, 2005.

SCHLEMMER, D., SALES, M. J. A. Preparação, Caracterização e Degradação de Blendas PS/TPS Usando Glicerol e Óleo de Buriti como Plastificantes. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v.20, n.1, p. 6-13, 2010.

SOUTO-MAIOR, J. P. A.; REIS, A. V.; PEDREIRO, L. N.; CAVALCANTI, O. A. Avaliação da pectina fosfatada aplicada na formação de filmes isolados. Material candidato a novos sistemas para liberação modificada de fármacos. **Brazilian journal of pharmaceutical sciences**, vol.44, n.2, 2008.

SHIMOJO, A. A. M. *Modificações químicas do ácido hialurônico para a produção de géis reticulados e de fosfolípidios derivatizados*. Dissertação de Mestrado em engenharia química - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, 2011. Disponível em: <http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=000787686&fd=y> Acesso em: 4 mai. 2013.

TIWARI, S.B.; RAJABI-SIAHBOOMI, A.R. **Drug Delivery Systems. Chapter 11: Extended-Release Oral Drug Delivery Technologies: Monolithic Matrix Systems.** Humana Press:Basel, 2008.

TRAPASSO, S.; ALLEGRA, E. Role of CD44 as a marker of cancer stem cells in head and neck câncer. **Biologics: Targets and Therapy**, v.6, p.379–383, 2012;

UNITED States Pharmacopeia USP 35; National Formulary NF30. Rockville: United Pharmacopeial Convention, 2012.

VIANA, O.S.; Et Al. **Desenvolvimento de Formulações e Tecnologias de Obtenção de Comprimidos Revestidos de Efavirenz – Terapia anti-HIV.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, volume 42, 2006.

VILAR, G.; PUCHEA, J. T.; ALBERICIO. F. Polymers and Drug Delivery Systems. **Current Drug Delivery**, v.9, n.4, 2012.

WEI, H.; LI-FANG, F.; YONG-ZHEN, C.; BAI, X.; QING. D.; MIN. B.; FENT. W.; MIN. Q.; DE-YING. C. Pectin/Kollicoat SR30D isolated films for colonic delivery I: a comparison of normal and colitis-induced models to assess the efficiency of microbially triggered drug delivery. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.61, n.2, p.167–176, 2009.

WHEATLEY, T. A.; STEUERNAGEL, C. R. Latex emulsions for controlled drug delivery. In. McGINITY, J. W. **Aqueous polymeric coatings for pharmaceutical dosage forms.** 2 ed. Nova York:Marcel Dekker, 1997.

YADAV, A. K.; MISHRA, P.; MISHRA, A. K.; MISHRA. P.; JAIN, S.; AGRAWAL, G. P. Development and characterization of hyaluronic acid–anchored PLGA nanoparticulate carriers of doxorubicin. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, v.3, n.4, p.246–257; 2007.

ZAMPIERI, A.L.T.C.; LIMA, E.M. Estudo da Gastro – Resistência Induzida pelo Formaldeído em Cápsulas de Gelatina Dura Contendo Naproxeno. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.2, 2005.

INFLUÊNCIA DO ÁCIDO HIALURÔNICO NA FORMAÇÃO DE FILMES ISOLADOS DE ACETATO POLIVINÍLICO DESTINADOS AO REVESTIMENTO DE SÓLIDOS ORAIS

Giovane Douglas Zanin¹, Élcio Bunhak², Osvaldo Albuquerque Cavalcanti^{1,3}.

¹ Programa de pós-graduação em ciências farmacêuticas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná –UNIOESTE, Cascavel/Paraná - Brasil.

² Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas – CCMF – UNIOESTE, Cascavel/Paraná – Brasil.

³ Departamento de Farmacologia e Terapêutica - Universidade Estadual de Maringá/Paraná - Brasil

RESUMO

O acetato polivinílico (AcPV) é um polímero utilizado no desenvolvimento de formulações para liberação sustentadas de fármacos. O ácido hialurônico (AH) possui a habilidade de interagir com receptores nas membranas plasmáticas celulares, em especial o CD44 que esta super-expresso em células tumorais. O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo de pré-formulação em filmes isolados de acetato polivinílico (AcPV) adicionados de AH na perspectiva de aplicação em formas farmacêuticas destinadas à liberação modificada de fármacos. Os filmes foram produzidos pelo método de evaporação do solvente e avaliados quanto as características macroscópicas e morfológicas, espessura, espectroscopia no infravermelho (FT-IR), análises térmicas (TG e DSC), microscopia eletrônica de varredura, transmissão de vapor de água e índice de intumescimento. Os resultados demonstraram que adição de AH permitiu a formação de filmes isolados adequados influenciando na transparência, flexibilidade e espessura. Espectro no FT-IR evidenciaram ocorrência apenas de mistura física entre os constituintes. As curvas TG e DSC indicaram que os filmes são termicamente estáveis até a temperatura de 200 °C. Nas micrografias eletrônicas foi possível observar alterações na estrutural da malha polimérica nas composições 85:15 e 80:20 para as amostras previamente imersas em fluido de simulação gástrica, sendo ainda mais pronunciado após imersão em fluido de simulação intestinal. A concentração do AH também influenciou diretamente permeabilidade ao vapor de água e o intumescimento, aumentando estes índices. Na perspectiva de aplicação dos filmes avaliados, destacamos as composições 95:05 e 90:10, as quais sugerem maior potencial para aplicação em formas farmacêuticas para liberação modificada de fármacos uma vez que foram os mais semelhantes ao filme padrão e que mantiveram a possível capacidade de sítio alvo especificidade.

Unitermos: Liberação modificada de fármacos, CD44, Kollicoat SR 30D[®], sítio-alvo-especificidade.

INTRODUÇÃO

As pesquisas por novos fármacos demandam, além de enormes investimentos, longo período de tempo, podendo chegar há 20 anos, visando realizar e atender todos os protocolos exigidos com finalidade de comprovar a segurança, eficácia e qualidade necessária para que a

nova entidade farmacoterapêutica possa chegar ao mercado. Assim, uma das alternativas implementadas pelo mercado farmacêutico, tem sido a busca incessante por novas formas farmacêuticas funcionais, carreando ativos consagrados na terapêutica humana e animal. Estes novos dispositivos terapêuticos têm por objetivo a redução da frequência de administração melhorando a adesão ao tratamento, proporcionando maior segurança e eficácia através da manutenção da biodisponibilidade do fármaco, com especificidade, diminuindo os efeitos colaterais, agregando valor aos medicamentos (McGinity, Felton, 2008; Gava *et al.*, 2010; Wen, Park, 2010).

Estas novas formas farmacêuticas, especialmente aquelas voltadas ao efetivo controle da cinética de liberação dos fármacos dotada de elevada funcionalidade, encontra-se fortemente ancorada e dependente da escolha acertada do componente de maior relevância na formulação, ou seja, os polímeros. Muitos destes materiais, sintéticos ou naturais, são versáteis, quimicamente flexíveis, resistentes aos obstáculos fisiológicos, dotados de capacidade em formar películas para revestimento, apresentando características de biocompatibilidade e biodegradabilidade. Merecendo destaque como importante ferramenta no desenvolvimento de novos sistemas terapêuticos (Gabas, Cavalcanti, 2003; Lopes, Lobo, Costa, 2005; Doh, Yeo, 2012, Ogaji; Nep, Audo-Peter, 2012).

A aplicação da tecnologia de revestimento usando materiais poliméricos tem sido frequentemente sugerida para se obter efetivo controle sobre a liberação de fármacos. Ao longo das quatro últimas décadas, imensa quantidade e variedade de polímeros filmogênicos têm sido avaliados, e sugeridos para o revestimento de formas sólidas orais (Bunhak *et al.*, 2007a; Vilar; Puchea e Albericio, 2012).

O Kollicoat SR 30D[®] trata-se de uma dispersão de base aquosa composta por 27 % de acetato polivinílico (AcPV) (Figura 01), 2,5 % de povidona e 0,3 % de lauril sulfato de sódio. Por ser insolúvel nos líquidos do sistema digestório e com intumescimento independente do pH tem sido sugerido no desenvolvimento de formulações para liberação sustentadas matriciais ou de reservatório, envolvendo comprimidos, grânulos e péletes. Com a adição de plastificante adequado, este polímero formador de filmes, possui propriedades físicas e mecânicas satisfatórias aquelas requeridas aos processos de revestimento de sólidos orais (Akhter *et al.*, 2008; BASF, 2010).

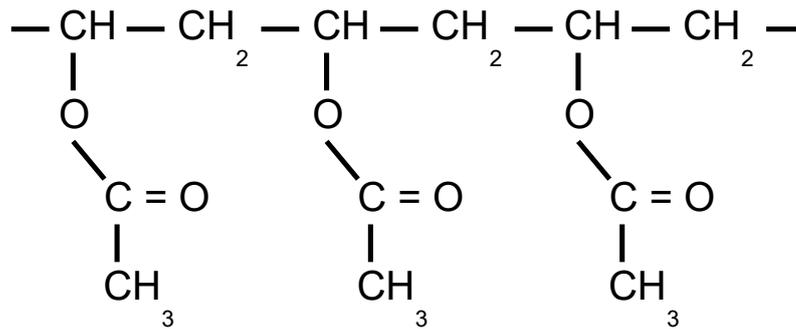


FIGURA 1. Estrutura química do acetato polivinílico - Kollicoat[®] SR 30D (BASF[®])

Com a extrema necessidade terapêutica em dispormos cada vez mais de sistemas inteligentes, desenvolver novas formas farmacêuticas com sítio alvo especificidade, tem sido considerado fator de inovação decisivo e questão de sobrevivência das corporações farmacêuticas. Neste contexto, emerge a possibilidade de agregar valor aos materiais poliméricos já disponíveis e consagrados no mercado farmacêutico, como os derivados dos metacrilatos, celulósicos e mais especificamente os polivinílicos, por meio da adição de ácido hialurônico (AH).

O AH (Figura 2) é um glicosaminoglicano de alta massa molar, composto por centenas de repetições de N-acetilglicosamina e de ácido glucurônico. É sintetizado na membrana plasmática por um complexo enzimático de vários tipos celulares, representando o principal glicoaminoglicano dos tecidos conjuntivos. Por ser biocompatível, biodegradável e com características de bioadesividade vem sendo utilizado amplamente em várias especialidades da medicina como dermatologia, ortopedia, otorrinolaringologia e oftalmologia (Ramos, 2006; Figueirêdo *et al.*, 2010;).

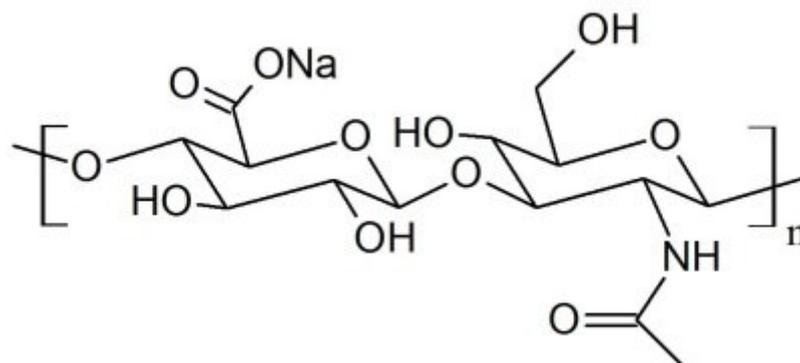


FIGURA 2. Estrutura química do Ácido hialurônico – Sal sódico (Contipro Group)

Ademais, característica valiosa do AH, é sua habilidade em interagir com vários receptores nas membranas plasmáticas das células, tais como o CD44, receptor de AH mediador

da mobilidade (RHAMM), receptor AH do endotélio de vaso linfático (LYVE-1), receptor de AH para endocitose (HARE), receptor hepático de depuração celular e endotelial e receptor toll-like 4. Destes, o CD44 e o RHAMM são os mais conhecidos, pois influenciam a adesão a componentes da matriz extracelular, e estão envolvidos na estimulação da angiogênese e na agregação, proliferação e migração celular. Todas estas propriedades biológicas são essenciais para a fisiologia normal da célula, mas em determinadas condições estão associadas com as atividades patológicas, em particular aquelas de células cancerosas (Barbosa *et al.*, 2008; Trapasso, Aleggra, 2012).

Estudos demonstram que o receptor CD44 e suas isoformas desempenham um papel crítico em numerosos tipos de cânceres humanos estando super-expresso em células cancerígenas como as do câncer colorretal, de pulmão, fígado, de ovário, pâncreas, próstata, mama entre outros (Naor *et al.*, 2002; Patrawala *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2007; Du *et al.*, 2008).

Pode-se afirmar que o merecido destaque para aplicação do AH tem sido atribuído especialmente graças a sua afinidade pelo receptor CD44 que é abundante em várias células tumorais. Este receptor torna-se um promissor alvo molecular para diagnóstico e tratamento de diversos tipos de câncer em humanos. O AH atua como uma importante ferramenta para o tratamento desta patologia, pois permite a possibilidade de um efetivo direcionamento da entrega do ativo, já que funciona como uma molécula ativa, interagindo com diferentes receptores e melhorando a permeabilidade, o efeito de retenção e aumentando o índice terapêutico (Fieber *et al.*, 1999; Naor *et al.*, 2002; Jain *et al.*, 2010; Jin, Ubonavan, Kim, 2010; Puc *et al.*, 2011; Frank *et al.*, 2014).

O copolímero poliácido hialurônico (etilenoglicol)-poli (lactido-co-glicolido) (HA-PEG-PALG) é exemplo de produto derivado do AH desenvolvido com este propósito. Segundo Yadav *et al.* (2007), quando este produto foi aplicado na fabricação de nanopartículas contendo doxorubicina (DOX), estes sistemas foram capazes de sustentar a liberação por até 15 dias. Ademais, os resultados de estudos *in vivo*, demonstraram para o AH-PEG-PALG, elevada distribuição e alta concentração de DOX no tumor, desencadeando significativa redução do tamanho da neoplasia instalada.

Jain *et al.* (2010), desenvolveram e testaram nanopartículas de AH conjugadas a quitosana (HACT) para liberação de oxaliplatina em câncer colorretal de ratos. Os resultados dos estudos de regressão do tumor revelaram um atraso no crescimento dos tumores de ($8 \pm 1,7$ dias) utilizando HACT contra ($1 \pm 0,21$ dias) para nanopartícula de oxaliplatina livre e ($4 \pm 0,11$ dias) para quitosana-oxaliplatina. A partir destes experimentos foi observado claramente que

HACT causou uma melhoria significativa na eficácia terapêutica, apresentando importante efeito inibidor do crescimento do tumor.

Concebe-se que o desenvolvimento de novos sistemas a base de AH têm sido considerado por pesquisadores como particularmente promissor, especialmente para a entrega local de ativos e como integrante de sistemas reservatório de fármacos. Considerando o AH como capaz de gerenciar o efetivo controle da liberação tanto espontânea quanto sustentada de ativos (Petersen, *et al.*, 2013).

Assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver filmes isolados de acetato polivinílico associados ao ácido hialurônico de forma a realizar estudos de pré-formulação e avaliá-los quanto as características físico-químicas envolvendo análises macroscópicas e morfológicas, espessura, espectroscopia de absorção no infravermelho (FT-IR), análises térmicas de termogravimetria (TG) e calorimetria diferencial de varredura (DSC), microscopia eletrônica de varredura (MEV), transmissão de vapor de água e índice de intumescimento na perspectiva de aplicação em formas farmacêuticas destinadas à liberação modificada de fármacos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Kollicoat SR 30D[®] (Dispersão aquosa de acetato polivinílico 27 %, Povidona 2,7 % e Lauril sulfato de sódio 0,3 %) produzido pela BASF Corporation (Ludwigshafen, Alemanha). Ácido hialurônico 1,5 MDa, (Sal sódico, fonte biotecnológica: *Streptococcus equi, subsp. zooepidemicus*) fabricado por Contipro (República Tcheca). Propilenoglicol fabricante All Chemistry do Brasil Ltda.

Fluído de Simulação Gástrica (FSG) e Fluído de Simulação Intestinal (FSI) ambos sem enzimas preparados de acordo com a 31^a edição da Farmacopéia dos Estados Unidos da América (United States Pharmacopeia, 2012).

Os demais reagentes utilizados foram de grau analítico (cloreto de sódio, ácido clorídrico, fosfato de potássio monobásico e hidróxido de sódio).

Composição dos filmes

Foram preparadas formulações de filmes isolados a partir de dispersões poliméricas de base aquosa de acetato polivinílico (Kollicoat SR30D[®]) contendo diferentes quantidades de AH de modo que a concentração final de ambos ficassem sempre a 4 % (m/v). Foi adicionado

propilenoglicol como plastificante na concentração de 10 % (m/m) em relação a massa de AcPV, exceto para a formulação 00:100 que foi composta por 1 % (m/v) de AH.

As proporções testadas de AcPV:AH foram de 95:5, 90:10, 85:15, 80:20 e 00:100 (% m/m). Estas foram comparadas a formulação controle (100:00), conforme Tabela I.

TABELA I. Formulações dos filmes isolados de AcPV adicionados de Ácido Hialurônico:

Proporção AcPV : AH % (massa:massa)	Equivalente em AcPV (g)	Equivalente em AH (g)	Plastificante (g)	Água 100 mL
100:0	4	0	0,40	qsp
95:5	3,8	0,2	0,38	qsp
90:10	3,6	0,4	0,36	qsp
85:15	3,4	0,6	0,34	qsp
80:20	3,2	0,8	0,32	qsp
00:100	0	1,0	0	qsp

Obtenção dos filmes isolados

Os filmes foram preparados pelo método “*casting process*” ou método da evaporação do solvente. As misturas dos constituintes das formulações foram preparadas e deixadas sob agitação magnética por um período de 2 horas em temperatura ambiente. Após este período as amostras foram submetidas a um banho de ultrassom por 1 hora visando à retirada do ar incorporado à mistura polimérica durante o processo de dispersão (Cavalcanti *et al.*, 2002).

Em seguida, alíquotas de 10 mL de todas as formulações foram vertidas individualmente de forma volumétrica em placas de Teflon[®] com área de 28,27 cm² e levadas ao aquecimento em estufa a 35 °C por 24 horas, condições de tempo e temperatura necessários para a formação dos filmes. Transcorrido este período de tempo os filmes isolados foram cuidadosamente removidos dos moldes e armazenados em dessecador com controle de umidade relativa de 25 % e temperatura controlada (T= 25 ± 2,0 °C) até a realização das análises de forma a preservar as características dos filmes (Wei *et al.*, 2009a).

Análise macroscópica, morfológica e determinação da espessura

Os filmes utilizados neste trabalho foram previamente submetidos a uma análise de verificação macroscópica e morfológica: Homogeneidade, presença de rachaduras e bolhas, transparência e flexibilidade.

As medições para a análise de espessura foram realizadas em cinco pontos aleatórios de cada amostra de filme isolado testada, num total de três amostras para cada composição a partir de leitura em micrometro digital (Mituyo, modelo ABP 2D).

Espectroscopia no Infravermelho (FT-IR)

Os filmes foram submetidos a análise de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier, utilizando espectros de onda entre 4000 e 400 cm^{-1} com pastilhas de brometo de potássio (KBr) com 1 % de amostra utilizando o equipamento FTIR-Bruker, modelo Vertex 70v.

Análises Térmicas (DSC e TG)

Para verificação da estabilidade térmica dos compostos poliméricos foi realizada a análise de termogravimetria (TG) utilizando-se aproximadamente 10 mg das amostras, em uma atmosfera com fluxo de nitrogênio a 10 mL/min. e faixa de temperatura de 0 a 600 °C, com razão de aquecimento de 10 °C/min.

Já para as análises de calorimetria diferencial de varredura (DSC), cerca de 6 mg de cada amostra foi aprisionada em cadinho de alumínio com tampa perfurada e submetidos a um programa de aquecimento controlado em atmosfera com fluxo de nitrogênio a 10 mL/min em uma faixa de temperatura de 0-600 °C com uma razão de aquecimento de 10 °C/min. Para estas duas análises foi utilizado o equipamento Netzsch-2004.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As amostras foram analisadas com os filmes secos após imersas em fluido de simulação gástrica (FSG) (pH 1,2) por 1 hora em fluido de simulação intestinal (FSI) (pH 6,8) por 3 horas em banho maria a 37°C. Após o período de hidratação as películas foram congeladas a -18 °C então liofilizadas a -55 °C por 6 horas em um liofilizador Liotop[®] L101 (Liobras[®]) com o objetivo de preservar suas características morfológicas. Posteriormente foram metalizadas com

ouro (Metalizador Shimadzu –IC-50) utilizando uma corrente de 4mA por um período de 12 minutos)

As micrografias das superfícies foram obtidas a partir de um Microscópio Eletrônico de Varredura SS-550 SUPERSCAN (Shimadzu®) operado a 10 keV.

Estudo da transmissão de vapor d'água (TVA)

A análise da transmissão de vapor d'água (TVA) foi realizada seguindo metodologia da *American Society for Testing and Materials* (ASTM-E96-00), método “B”.

Primeiramente os filmes inteiros foram transferidos para estufa à temperatura de 35 °C, onde permaneceram por um período de 15 horas para a perda total da umidade residual. Após este período as placas foram armazenadas em dessecadores com sílica gel.

Em seguida os mesmos foram acoplados e fixados as cúpulas de permeabilidade (*Payne permeability cup*) com área de abertura de 10 cm² contendo 10 mL de água destilada em seu interior (Figura 3). O conjunto foi pesado e colocado em dessecador contendo sílica gel desidratada e termo higrômetro e posteriormente armazenado em incubadora BOD à temperatura de 37 +/- 1 °C e umidade relativa de 25 %. Os testes foram realizados em triplicata com pesagens nos intervalos de tempo: 0; 24; 48; 72; 96 e 120 horas. A diminuição de peso de cada cúpula foi utilizada para calcular a taxa de transmissão de vapor de água através dos filmes (Scapim, 2009)

A TVA foi padronizada para um período de 24 horas e calculada utilizando a Equação 1:

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

Onde: *g* é a massa perdida em gramas, *t* representa o tempo em horas durante o qual o teste foi realizado e *a* representa a área do filme de 0,1 m².



Figura 3: Cúpula de Permeabilidade utilizadas para estudo de transmissão de vapor de água.

Determinação do índice de intumescimento (Ii%) - Hidratação

Na avaliação da hidratação os filmes nas suas variadas composições foram cortados em amostras com aproximadamente 1 cm² com a utilização de uma tesoura cirúrgica e inseridas em placas de Petri identificadas em seguida foram transferidas para estufa à temperatura de 35 °C, onde permaneceram por um período de 15 horas para a retirada da umidade residual. Após este período as placas foram armazenadas em dessecadores com sílica gel até a realização do experimento.

Esta avaliação submete as amostras à pesagem em balança analítica para determinação do peso seco, as quais serão imediatamente imersas em meios contendo fluido de simulação gástrica ou fluido de simulação intestinal, ambos sem adição de enzimas, nos períodos de tempo de 1, 5, 10, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos.

Seguindo a metodologia sugerida e adotada Ghafari *et al.* (2007), após transcorridos os intervalos predeterminados para hidratação dos filmes estes foram cuidadosamente removidos dos meios onde estavam imersos com a utilização de uma pinça. O excesso de água foi retirado por meio de duas folhas de papel de filtro (Whatman[®], grau I). Em seguida, as amostras, em triplicata, foram novamente pesadas para determinação do índice de intumescimento.

As características de hidratação dos filmes representantes de todas as associações poliméricas testadas foram quantificadas a partir do cálculo de determinação do índice de intumescimento (Ii%), seguindo a Equação 2:

$$Ii\% = \frac{W_i - W_s}{W_s} \times 100 \quad (2)$$

Onde, W_i é a massa do filme após período de intumescimento e W_s a massa do filme seco.

Análise estatística

Após a realização dos testes os resultados das análises de espessura, transmissão de vapor de água (TVA) e índice de intumescimento das formulações (100:00, 95:05, 90:10, 85:15 e 80:20) os resultados foram expressos na forma de média, desvio padrão e coeficiente de variação.

Para os testes de espessura, TVA e intumescimento as amostras foram analisadas estatisticamente frente ao filme controle (100:00) através de análise de variância (ANOVA) e Teste de Tukey quando aplicável, considerando $P < 0,05$, utilizando o software Minitab® 17.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Características macroscópicas, morfológica e determinação da espessura

Com relação a características macroscópicas e morfológicas as diferentes formulações propostas neste trabalho geraram a formação de filmes isolados homogêneos, sem rachaduras ou bolhas de ar. A verificação destas características são importantes, pois garantem a reprodutibilidade dos resultados (Bunhak, 2007a).

Na Tabela II são apresentados os resultados para análise macroscópica e morfológica das amostras de filmes isolados de AcPV adicionados de AH.

TABELA II. Avaliação macroscópica e morfológica dos filmes isolados de AcPV adicionados de AH

Associação Polimérica	Homogêneo	Presença de rachaduras	Presença de bolhas	Transparência	Flexibilidade
100 : 00	+++	0	0	+++	+++
95 : 05	+++	0	0	+++	+++
90 : 10	+++	0	0	++	++
85 : 15	+++	0	0	++	++
80 : 20	+++	0	0	+	+
00 : 100	+++	0	0	+	+

0: Alteração não observada, +: Presença leve, ++: Presença moderada, +++, Presença forte

Observou-se uma redução da transparência e da flexibilidade das amostras proporcional ao aumento da proporção de AH na mistura polimérica (Figura 4). Bunhak *et al.* (2007a)

desenvolveram filmes isolados de polimetacrilatos associados ao sulfato de condroitina e obtiveram resultados semelhantes quanto a redução da flexibilidade e da transparência, ambos dependentes do aumento da concentração do polissacarídeo adicionado.

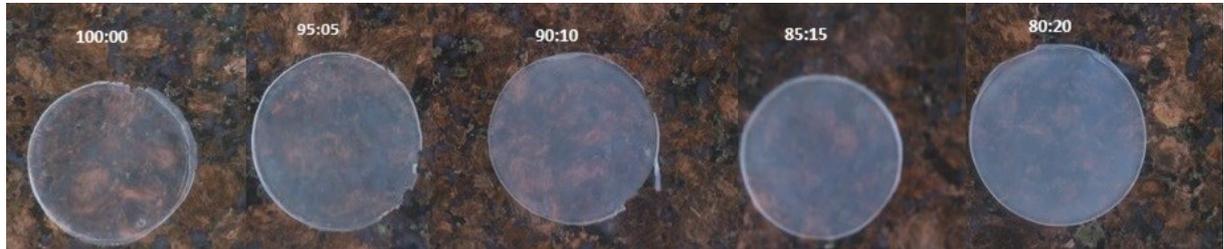


FIGURA 4. Visualização da redução da transparência nos filmes isolados de AcPV adicionados de AH

Na Tabela III são apresentados os resultados referentes a espessura dos filmes desenvolvidos.

TABELA III. Avaliação da espessura dos filmes isolados de AcPV adicionados de AH

	100 : 00	95 : 05	90 : 10	85 : 15	80 : 20	00 : 100
Média (μm)	121,87	113,33	104,07	95,33	83,20	25,00
s (μm)	15,07	9,57	6,84	9,40	4,77	2,55
CV (%)	12,57	8,52	6,66	9,87	5,78	10,32

n= 3; 5 medidas aleatórias em cada amostra; s = Desvio padrão; CV= Coeficiente de variação

O filme isolado constituído somente ácido hialurônico (00:100) apresentou uma espessura de 25 μm e o controle (100:00) de 121,87 μm . As amostras associadas de AcPV:AH obtiveram os resultados médios de 113,33, 104,07, 95,33 e 83,20 μm respectivamente para as formulações (95:05), (90:10), (85:15) e (80:20). Assim, verificou-se que a adição de AH ocasionou uma redução na espessura dos filmes proporcional ao aumento de sua concentração.

Através dos testes de variância constatou-se que apenas as amostras (85:15) e (80:20) possuem diferença significativa com relação ao filme controle (100:00) em um intervalo de 95 % de confiança obtendo valores de p igual a 0,006 e 0,002 respectivamente.

A liberação sustentada de ativos pode ser determinada pela espessura do revestimento, sem contudo alterar o mecanismo de liberação, existindo uma relação direta deste parâmetro nos sólidos orais submetidos ao processo de revestimento pelicular (Shao *et al.*, 2002; Bühler, 2007). Neste sentido, com o aumento da espessura do revestimento a taxa de liberação diminui.

Assim, a aplicação de uma maior quantidade de dispersão de polímero é uma forma de diminuir a velocidade de difusão do ativo através de revestimento conforme também concluiu Jeong e Park (2008). Nossos resultados sugerem que poderemos modular a liberação de ativos aplicando nas películas de AcPV diferentes concentrações do AH. Assim, o aumento da espessura do revestimento através da aplicação de uma maior quantidade da dispersão do polímero sintético, pode ser considerado como ferramenta para mitigar a velocidade de difusão através de revestimento,

Dashevsky *et al* (2005) estudaram o perfil de liberação de péletes de cloridrato de propranolol revestidos com AcPV e concluíram que a liberação do ativo diminuía conforme o aumento da carga polimérica aplicada no revestimento. No mesmo sentido, Chen *et al.* (2012), avaliaram os principais polímeros comercializados para utilização em liberação sustentada de fármacos e também concluíram que uma maior espessura dos filmes de revestimento causou uma menor capacidade de absorção e isto resultou em uma permeação de água retardada ocasionando uma redução nas taxas de liberação de losartana.

Espectroscopia de absorção no infravermelho (FT-IR)

O objetivo deste teste foi verificar as possíveis interações moleculares e/ou ligações químicas entre os componentes da mistura após a adição de AH ao polímero AcPV.

As bandas de absorção característicos do AcPV são visualizados em 1739 e 1245 cm^{-1} que correspondem as bandas relacionadas aos estiramentos vibracionais das ligações de $\text{C}=\text{O}$ e $\text{C}-\text{O}$ respectivamente conforme também evidenciaram Wei *et al.* (2009b).

Já para o espectro infravermelho do filme 00:100 verifica-se a banda de 1.411 que corresponde à presença de um grupo C-O em combinação com C=O do grupo ácido carboxílico; em 1619 indica o grupo amida secundária e em 3420 uma banda larga atribuída ao estiramento dos grupos N-H e OH presentes na molécula do AH como também evidenciados por Reddy e Karunakaran (2013).

A Figura 5 apresenta o resultado dos espectros experimentais dos filmes desenvolvidos.

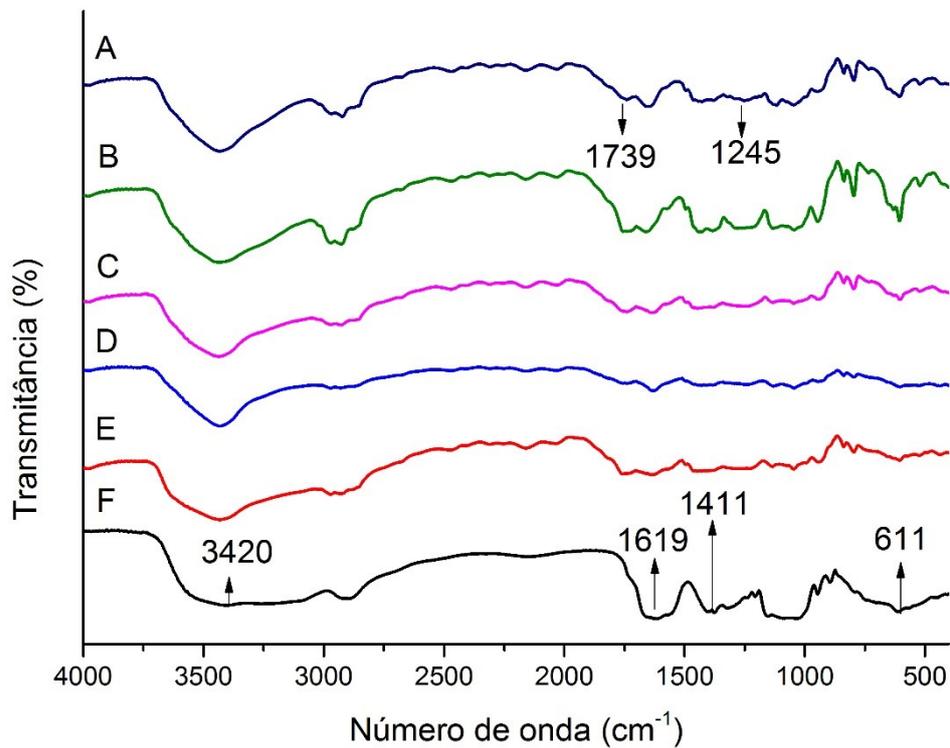


FIGURA 5. Espectros FT-IR das amostras de filmes nas composições AcPV:AH: A (100:00) B (95:05), C (90:10), D (85:15), E (80:20) e F (00:100).

A preservação destas bandas nas formulações (95:05), (90:10), (85:15) e (80:20) sugere que não houve interação química entre o AH e o AcPV, ocorrendo somente uma mistura física entre os componentes das formulações. Esta observação é importante, uma vez que a molécula de AH não sofreu alterações nos seus grupos ligantes e como consequência poderá interagir com seus receptores exercendo assim sua função de sítio alvo especificidade.

Análises térmicas (TG) e (DSC)

Nas Figuras 6 e 7 são apresentadas as curvas de TG e DSC respectivamente.

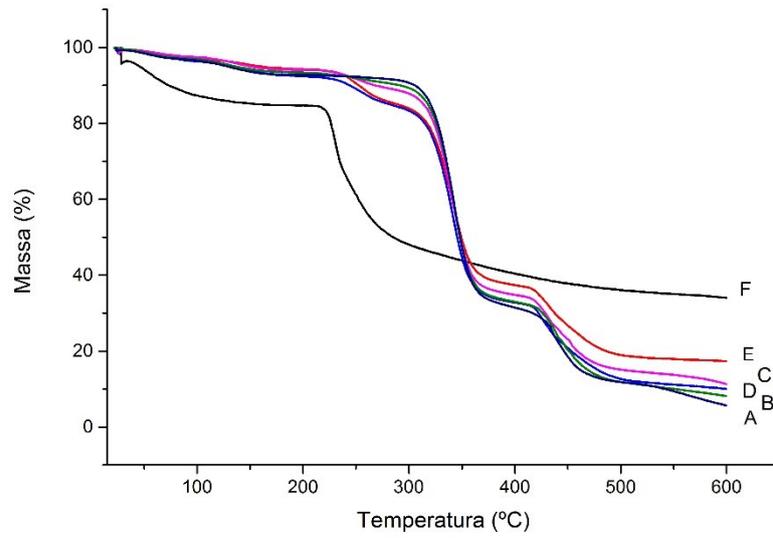


FIGURA 6. Curvas TG das amostras de filmes nas composições AcPV:AH: A (100:00) B (95:05), C (90:10), D (85:15), E (80:20) e F (00:100).

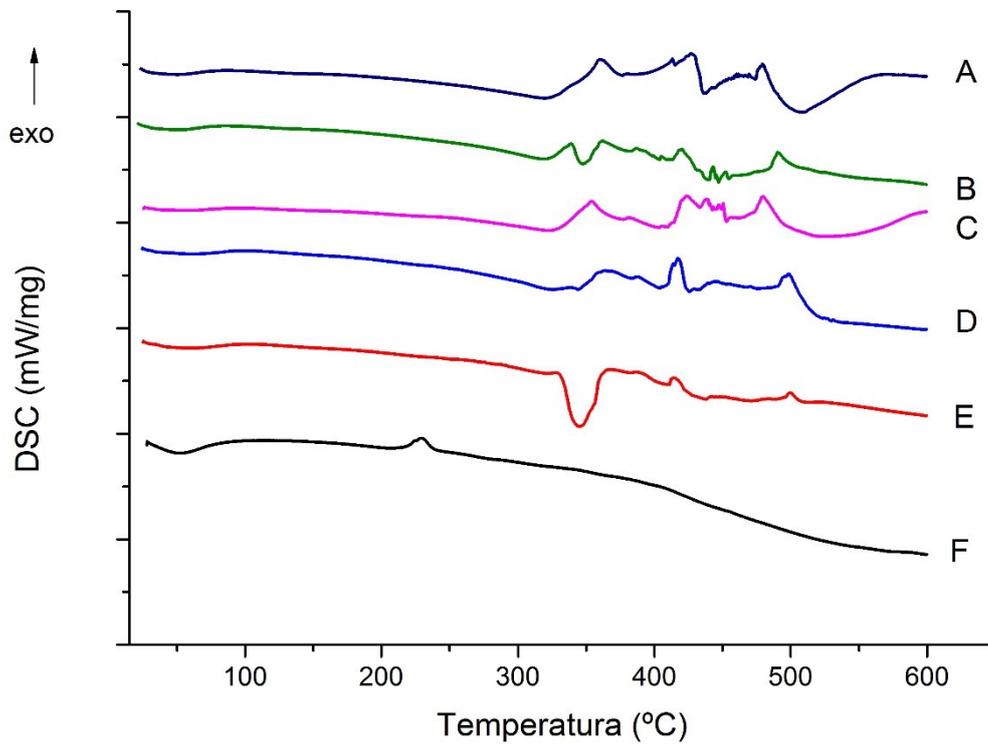


FIGURA 7. Curvas DSC das amostras de filmes nas composições AcPV:AH: A (100:00) B (95:05), C (90:10), D (85:15), E (80:20) e F (00:100).

É possível observar com os resultados da curva de TG que o primeiro evento térmico ocorreu entre as temperaturas de 25 e 100 °C, com uma perda de cerca de 15 % de massa para o filme 00:100 e 5 % para as demais, referente a umidade residual das amostras, confirmados pela curva DSC através de um evento endotérmico bem definido entre estas temperaturas.

A temperatura de decomposição inicial do filme composto somente por AH (00:100) foi de cerca de 200 °C e de 330 °C para as amostras 100:00, 95:05 e 90:10 enquanto que para as amostras 85:15 e 80:20 esta temperatura foi de 260 °C continuando este processo para todas as amostras até cerca de 600 °C. Assim, a adição de AH nas razões 85:15 e 80:20 deslocaram a temperatura de início de degradação. Outra alteração notada foi uma redução na perda de massa por decomposição com o aumento do teor de AH nos filmes mistos, de cerca de 85 % para amostra composta somente por AcPV para cerca de 80 % para a amostra 80:20 provavelmente referente ao perfil de degradação do ácido hialurônico.

Os perfis de degradação indicaram que os filmes de AcPV:AH são termicamente estáveis até a temperatura de 200 °C, podendo assim ser utilizado para o revestimento pelicular, uma vez que este processo geralmente é realizado em temperaturas menores que 60 °C.

Tanto nas curvas DSC quanto na derivada de TG (DTG) não foi possível observar a temperatura de transição vítrea (T_g) das composições, possivelmente em virtude da absorção de água sofrida pelos filmes. As análises térmicas realizadas também sugerem ter ocorrido apenas mistura física entre os componentes das formulações.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As análises das micrografias das amostras secas não revelaram alterações morfológicas nas superfícies dos filmes. Porém, nas amostras que foram imersas em FSG foi possível observar poros com diâmetro entre 3 e 5 μm na superfície da amostra 85:15 e um profundo desarranjo na malha polimérica da formulação 80:20.

Já nos filmes imersos em FSI foi possível observar rugosidades na superfície dos filmes controle e no 95:05. Já para as formulações 90:10, 85:15 e 80:20 verificar uma desorganização estrutural da malha polimérica proporcional ao aumento da concentração de AH.

Verificou-se assim, que os amostras adicionados de AH, após imersas em FSG e FSI, apresentaram alterações morfológicas nas superfícies dos filmes ficando estas mais acentuadas conforme o aumento da concentração de AH. Estas alterações na malha polimérica estão provavelmente relacionadas com a hidrossolubilidade proporcionada pelo AH. Para os filmes

85:15 e 80:20 este fenômeno parece estar relacionado também com a cedência de AH para o meio confirmado através do teste de intumescimento.

Na Figura 8 são apresentadas as micrografias das superfícies dos filmes e AcPV:AH.

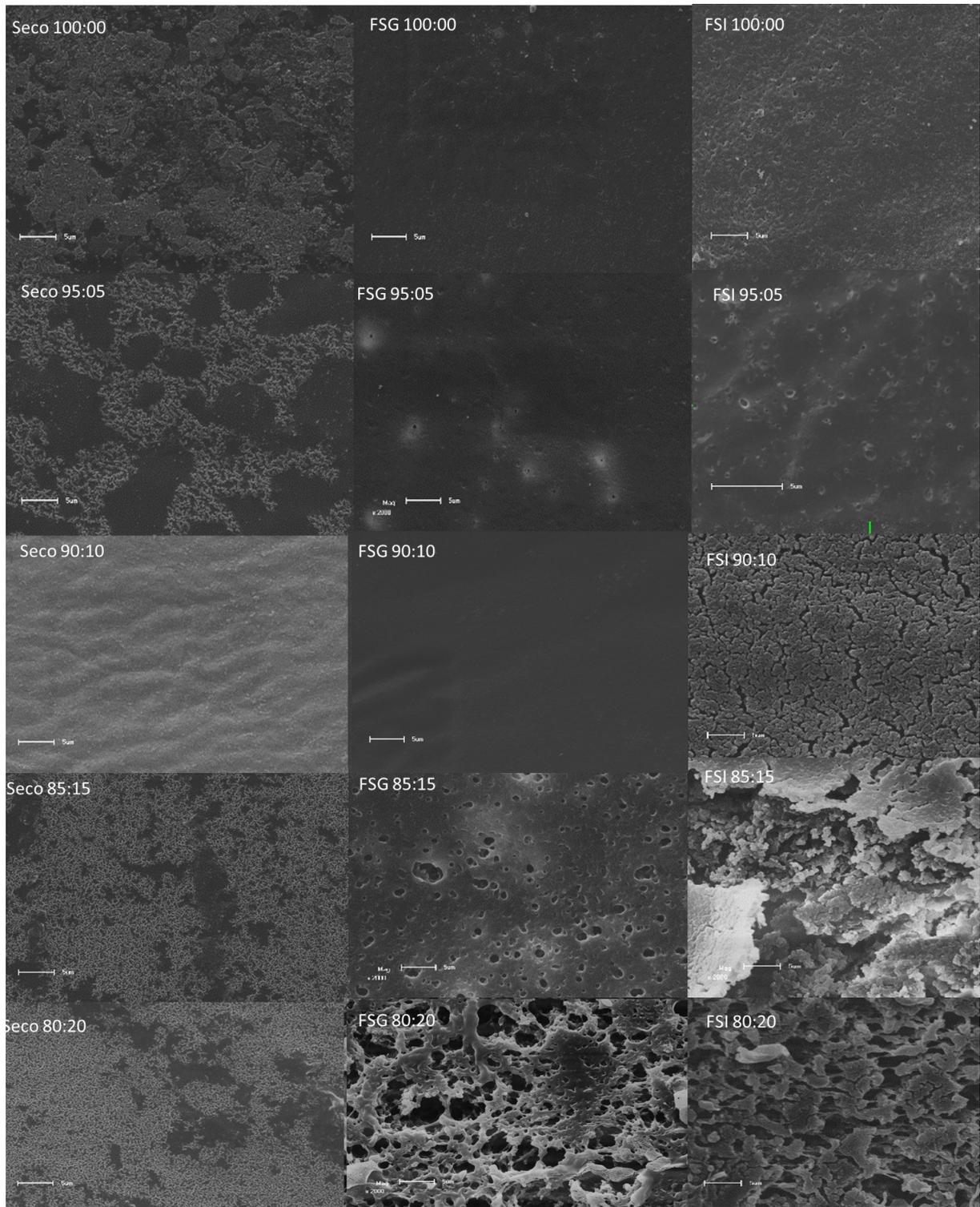


FIGURA 8. MEV das amostras de filmes isolados secos e após imersão em FSG e FSI.

Transmissão de vapor d'água (TVA)

A verificação da taxa de transmissão de vapor de água constitui um método de avaliação simples para a determinação *in vitro* das características de difusão dos materiais aplicados nos processos de revestimentos e fornecem informações precisas para a fase de pré-formulação, pois evidencia o comportamento e habilidades das associações poliméricas frente as condições fisiológicas, podendo assim, verificar as potencialidades dos materiais candidatos ao processo de revestimento pelicular (Cavalcanti *et al.*, 2002; Souto-Maior *et al.*, 2008).

As análises de TVA são importantes por fornecer informações a respeito dos mecanismos de transferência de vapor e as interações poliméricas que podem acontecer nos filmes. A permeabilidade de um filme é influenciada por fatores como a natureza hidrofílica ou hidrofóbica das substâncias de sua composição, presença de fissuras, rachaduras, bolhas e poros (Bertuzzi *et al.*, 2007; Meneguim, Cury, Evangelista, 2014).

Na Figura 9 são apresentados os valores das perdas de massa de vapor de água durante a realização do ensaio de TVA. Observa-se neste gráfico que estas perdas foram constantes no decorrer dos tempos, levando a taxas de permeabilidade ao vapor de água uniformes. Visando esta comprovação realizou-se uma análise de regressão linear utilizando a equação da reta de forma a relacionar a perda de massa (em porcentagem) decorrente da permeabilidade dos filmes ao vapor de água *versus* tempo o qual resultou um coeficiente de correlação (R^2) superior a 0,99 para todas as amostras.

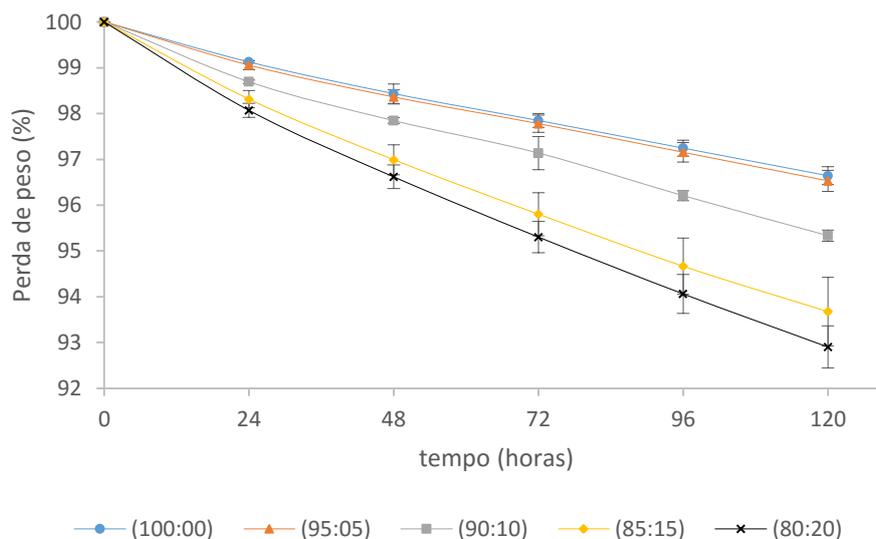


FIGURA 9. Perdas de peso e desvio padrão das amostras de filmes isolados AcPV adicionados de AH

Conforme a Tabela IV as formulações de filmes isolados apresentaram os seguintes resultados no teste de TVA ao final de 120 horas: (89,86), (89,01), (126,31), (158,88) e (176,45) g/m².24 h, respectivamente para as amostras 100:00, 95:05, 90:10, 85:15 e 80:20. Estes resultados demonstraram, exceto para a amostra 95:05, que a adição de AH nos filmes de AcPV causou um aumento estatisticamente significativo das a taxas de TVA frente ao filme controle, demonstrados com um *p* valor (*p*<0,05) para os filmes 80:20, 85:15, 90:10 respectivamente.

Tabela IV: Perda de peso após 120 horas, Taxa de Transmissão de Vapor de água, perda de peso por hora e coeficiente de correlação das amostras de filmes isolados de AcPV adicionados de AH

Associação Polimérica	Perdas de peso (g/120 h)	TVA (g/m ² 24 h±s)	g/h	Coefficiente de correlação (R ²)
100 : 00	4,4930	89,86 ± 3,75	0,0374	0,9942
95 : 05	4,4506	89,01 ± 1,65	0,0370	0,9927
90 : 10	6,3157	126,31 ± 1,15	0,0502	0,9925
85 : 15	7,9441	158,88 ± 4,30	0,0662	0,9919
80 : 20	8,8227	176,45 ± 2,20	0,0735	0,9914

s=desvio padrão, n= 3

O aumento da taxa de transmissão vapor provavelmente deve-se ao elevado número de grupamentos OH presentes no AH que eleva a hidroflicidade do sistema favorecendo a permeabilidade das moléculas de água através do filme.

A permeabilidade é influenciada pela natureza hidrofílica ou hidrofóbica do material, pela presença de espaços vazios, fissuras, tortuosidades na estrutura e por impedimento estérico. O aumento da natureza hidrofílica do filme polimérico induz a uma propensão de transmissão do vapor de água com consequente aumento de sua permeação (Wang, Padua, 2005; Akhgari *et al.*; 2006).

Ademais, segundo Ghanbarzadehe *et al.* (2007) e Meneguín, Cury e Evangelista (2014) durante o processo de permeabilidade podem ocorrer interações entre a água e os grupos funcionais polares das substâncias hidrofílicas através de pontes de hidrogênio, o que pode levar à plastificação da matriz do filme, conduzindo assim, a uma estrutura menos densa, a alterando a mobilidade das cadeias e facilitando o processo de difusão, uma vez que a água tem o mesmo mecanismo de mudança estrutural dos plastificantes.

Resultados análogos aos encontrados neste trabalho com relação a taxa de permeabilidade ao vapor de água também foram encontrados por outros autores. Wei *et al.* (2009a), desenvolveram filmes de Kollicoat[®] SR 30D adicionados a pectina para liberação colônica e constataram que os filmes com proporção acima de 10 % (90:10) também

aumentaram a taxa de transmissão de vapor de água e concluíram que este resultado deveu-se as boas propriedades hidrofílicas da pectina. Já Melo *et al* (2010) que acrescentaram alfa/gama ciclodextrinas (CD) a filmes de polimetacrilatos (Eudragit® FS30D). A TVA para o filme adicionados de alfa-CD foram maiores para aqueles acrescidos de gama-CD, este valor foi atribuído a estrutura dos oligossacarídeos, já que a interação por pontes de hidrogênio é maior para α -CD do que a γ -CD. Alves *et al*, (2010) incluíram o prebiótico α -glucooligossacarídeo em filmes isolados de etilcelulose e correlacionaram o aumento da permeabilidade das moléculas de água a natureza hidrofílica do α -glucooligossacarídeo.

Índice de intumescimento

O intumescimento da amostra permite avaliar a hidrofília da composição polimérica dos filmes através do seu comportamento de hidratação nos líquidos fisiológicos. Nas Figuras 10 e 11 são apresentados os índices de Intumescimento (Ii%) dos filmes de AcPV adicionados de AH nos tempos de 1, 5, 10, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos, respectivamente nos FSG e FSI.

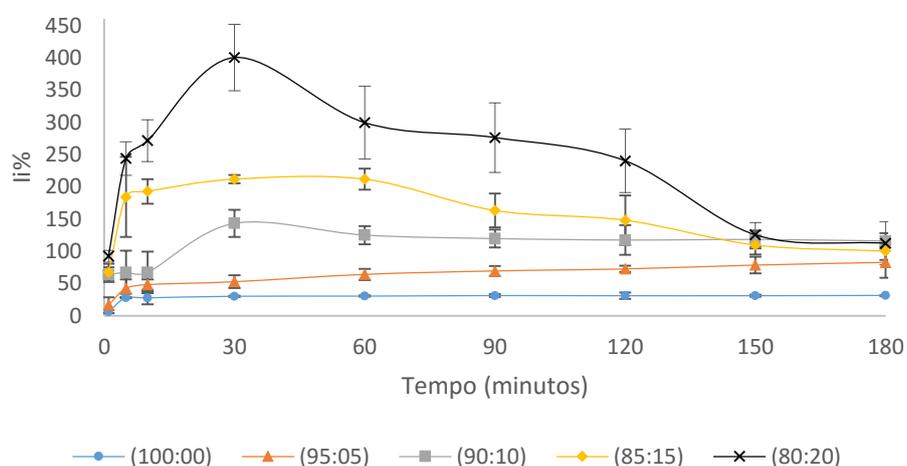


Figura 10. Ii% e desvio padrão das amostras de filmes isolados após imersão em FSG.

As taxas de hidratação das amostras dos filmes isolados quando imersas em FSG aumentaram significativamente com a adição de AH na razão acima de 10 % ($p < 0,05$). Verificou-se também que os filmes adicionados de AH na proporção de 10, 15 e 20 % obtiveram maior Ii% no tempo de 30 minutos 143,42, 211,81 e 400,20 % respectivamente, porém nos tempos seguintes estes índices foram diminuindo gradativamente atingindo ao final de 180

minutos 116,06, 100,42 e 112,49 % respectivamente. Esta redução provavelmente deve-se a hidrossolubilidade do AH que após sua hidratação foi cedendo para o meio.

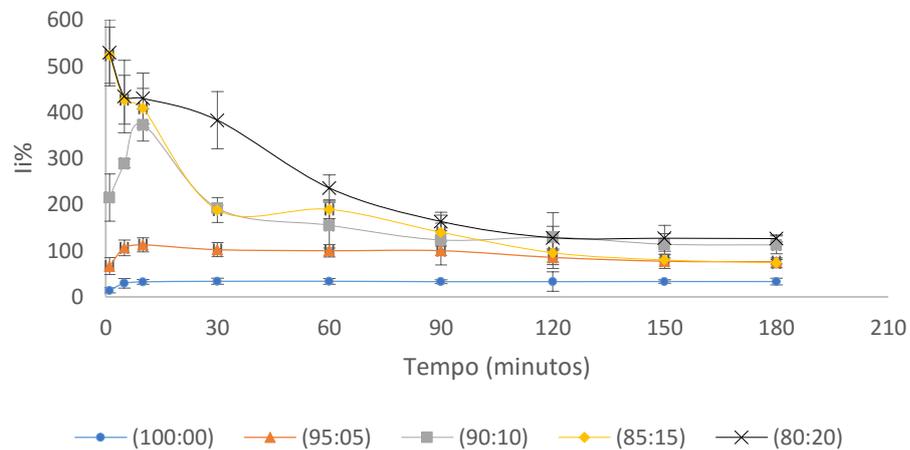


Figura 11. Ii% e desvio padrão s amostras de filmes isolados após imersão em FSI.

Com relação ao ensaio para determinação do índice de intumescimento em fluido de simulação intestinal observou-se que a taxa de hidratação (n=3) para o filme controle (100:00) manteve-se constante durante os tempos analisados. Todavia, as amostras 80:20, 85:15 e 90:10 intumesceram rapidamente alcançando seus maiores índices de hidratação no tempo de 1 minuto, apresentando os seguintes valores percentuais: 529,23, 524,20 e 215,39 % respectivamente.

Justifica-se este elevado de Ii% em FSI, pois conforme sugerido por Ogradowski (2006) e Lorenzo *et al.*(2013) o AH em pH próximo ao neutro hidrata rapidamente formando um hidrogel em decorrência da formação de pontes de hidrogênio entre as moléculas de água e os grupos carboxila e N-acetil, limitando a sua flexibilidade estrutural e conferindo-lhe sua característica de capacidade de retenção de água e dureza conformacional, porém este intumescimento é impedido na presença de íons, como por exemplo quando emergido em FSG que possui pH de 1,2.

Após a rápida hidratação das amostras adicionadas de AH foi possível observar uma redução nos índices de intumescimento, possivelmente em virtude da alta hidrossolubilidade do AH que foi cedido para o meio conforme também demonstrados através das alterações da malha polimérica observados nas micrografias eletrônicas dos filmes isolados.

Ao analisar a hidratação dos filmes em FSI verificou-se que todas as formulações de associação entre o AcPV e o AH apresentaram Ii% significativamente diferentes com relação ao filme controle ($p < 0,05$).

Resultado semelhante a este também foram encontrados por Bunhak e colaboradores (2007b) quando estudaram a influência do sulfato de condroitina na formação de filmes isolados de etilcelulose. Estes pesquisadores verificaram um aumento no I (%) dos filmes adicionados de sulfato de condroitina nas proporções (90:10) e (80: 20) quando de submetidos ao FSG. Porém, quando os filmes foram expostos ao FSI a amostra (80:20) apresentou perda de massa com desintegração parcial dos filmes, provavelmente devido a elevada hidrossolubilidade do sulfato de condroitina no meio alcalino. Já Santos *et al.* (2013) também detectaram aumento na hidratação em filmes isolados de polimetacrilatos (Eudragit® RS 30D) adicionados do exopolissacarídeo levan nas proporções 95: 5 e 90:10.

A incorporação de compostos que aumentem a hidrossolubilidade dos filmes isolados tem a capacidade de elevar tanto as taxas de transmissão de vapor de água como o índice de hidratação. Conhecer estas características são de fundamental importância no desenvolvimento de sistemas, reservatórios ou matriciais, de liberação modificada de fármacos, pois elas influenciam diretamente a difusão de um ativo e sua consequente liberação.

CONCLUSÃO

Foi possível elaborar filmes isolados de AcPV:AH através do método de evaporação do solvente com características macroscópicas e morfológicas semelhantes ao controle. A adição de ácido hialurônico reduziu proporcionalmente a espessura a transparência e a flexibilidade dos filmes.

As análises dos espectros no infravermelho demonstraram que não houveram interações químicas entre o acetato polivinílico e o ácido hialurônico já que não foi observado o aparecimento, ausência ou deslocamento das bandas nos espectros das formulações propostas.

As curvas de TG e DSC corroboram com os resultados do FT-IR no sentido de demonstrarem a ocorrência de uma mistura física entre os componentes das formulações e também que os filmes formados pela mistura polimérica são termicamente estáveis até a temperatura de 200 °C.

Nas micrografias das superfícies dos filmes isolados foi possível observar o afrouxamento/desarranjo da malha polimérica para as formulações 85:15 e 80:20 após a

imersão em FSG, este desarranjo foi mais pronunciado nos filmes submergidos em FSI sendo possível observar a lixiviação do AH para o meio.

As composições apresentaram um aumento nas taxas de transmissão de vapor proporcionais ao acréscimo de ácido hialurônico nas proporções superiores a 10 % (80:20 > 85:15 > 90:10 > 100:00).

No mesmo sentido foi possível observar também a elevação dos índices de hidratação dos filmes adicionados de AH frente ao controle. Esta elevação ocorreu de maneira mais pronunciada e em um menor tempo em FSI devido a uma maior hidratação do AH em pH neutro que em ácido. Estas alterações observadas nos ensaios de MEV, TVA e I (%) devem-se, possivelmente, ao aumento da hidrossolubilidade do sistema, causado pela adição do AH.

Priorizando a perspectiva de aplicação dos filmes formados e avaliados, destacamos as composições 95:05 e 90:10, as quais sugerem maior potencial para aplicação em formas farmacêuticas para liberação modificada de fármacos uma vez que foram os mais semelhantes ao filme padrão e que mantiveram a possível capacidade de sítio alvo especificidade. Contudo, vale ressaltar a necessidade de ensaios complementares *in vitro* e *in vivo* no sentido de avaliar o comportamento da cinética de liberação de fármacos quando esta composição estiver sendo utilizada em uma forma farmacêutica.

REFERÊNCIAS

- AKHTER, A.; RONI, M. A.; ABSAR, M. S.; KIBRIA, G.; JALIL, R. U. Formulation and Evaluation of Release Kinetics of iltiazem Hydrochloride from Kollicoat SR 30 D Coated Pellets Prepared by Air Suspension Technique. *Bangladesh journal of scientific and industrial research*, v.43, n.3, p.321-332, 2008.
- 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. *European journal of pharmaceutical sciences*, v.28, n.4, p.307–314, 2006.
- ALVES, B. R. V.; REIS, A. V.; REIS, A. L.; CAVALCANTI, O. A. Caracterização de Filmes Isolados de Etilcelulose: Avaliação das Propriedades de Hidratação e Permeabilidade. *Latin American Journal of Pharmacy*, v.29, n.4, p.586-93, 2010.
- American Society for Testing Materials (ASTM). *Guidelines, E 96-00: Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials*, 2000.
- BARBOSA, L. H. F.; RAMOAS, H. V. L.; NEVES, L. R.; BIASE, N. G.; OSHIMA, C.; PEDROSO, J. E. S.; PONTES, P. A. L. Detecção de receptor de ácido hialurônico em prega vocal humana por método imunohistoquímico, *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia*, v.74 n.2, p.201-206, 2008.
- BASF, *Kollicoat SR 30D – Informativo técnico*, 2010. Disponível em: <http://www.pharma-ingredients.basf.com/Statements/Technical%20Informations/EN/Pharma%20Solutions/03_030727e_Kollicoat%20SR%2030%20D.pdf>. Acesso em: 21 fev. 2014.
- BERTUZZI, M. A.; VIDAURRE, E. F.; ARMADA, M. GOTTIFREDI, J. C. Watervapor permeability of edible starch based films. *Journal of Food Engineering*, v.80, n.3, p.972–978, 2007.
- BÜHLER, V. *Kollicoat grades: Functional polymers for the pharmaceutical industry*, BASF, 2007. Disponível em: <<http://www.pharma-ingredients.basf.com/Documents/ENP/Brochure/EN/Book%20-%20Kollicoat.pdf>>. Acesso em: 12 fev. 2014.
- 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. *Química Nova*, v.30, n.2, p.312-317, 2007a.
- 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*, v.26, n.1, p.89-95, 2007b.
- CAVALCANTI, O. A.; VAN DEN MOTTER, G.; CARAMICO SOARES, I.; KINGET, R. Polysaccharides as excipients for colon-specific coatings, permeability and swelling properties of casted films. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v.28, n.2, p.157-164, 2002.

CHEN, Y. C.; LEE, L. W.; HO, H.; SHA, C.; SHEU, M. T. Evaluation of Water Uptake and Mechanical Properties of Blended Polymer Films for Preparing Gas-Generated Multiple-Unit Floating Drug Delivery Systems, *Journal of pharmaceutical sciences*, v.101, n.10, p.3811-3822, 2012.

DASHEVSKY, A.; WAGNER, K.; KOLTER, K.; BODMEIER R. Physicochemical and release properties of pellets coated with Kollicoat® SR 30 D, a new aqueous polyvinyl acetate dispersion for extended release. *International Journal of Pharmaceutics*, v.290, n.1, p.15–23, 2005.

DOH, K.; YEO, Y. Application of polysaccharides for surface modification of nanomedicines. *Therapeutic Deliver*, v.3, n.12, p.1447-1456, 2012.

DU, L.; WANG, H.; HE, H.; ZHANG, J.; NI, B.; WANG, X.; JIN, H.; CAHUZAC, N.; MEHRPOUR, M.; LU, Y.; CHEN, Q. CD44 is of Functional Importance for Colorectal Cancer Stem Cells. *Clinical Cancer Research*, v.14, n.21, p.6751-6760, 2008.

FIEBER, C.; PLUG, R.; SLEEMAN, J.; DALL, P.; PONTA, H.; HOFMANN, M. Characterisation of the murine gene encoding the intracellular hyaluronan receptor IHABP (RHAMM). *Gene*, v.226, p.41-50. 1999.

FIGUEIRÊDO, E. S.; MACEDO, A. C.; FIGUEIRÊDO, P. F. R.; FIGUEIRÊDO, R. S. Aplicações oftalmológicas do ácido hialurônico. *Arquivos brasileiros de oftalmologia*, v.73, n.1, p.92-95, 2010.

FRANK, D.; TYAGI, C.; TOMAR, L.; ECHOONARA, Y.; TOIT, L.C.; KUMAR, P. Overview of the role of nanotechnological innovations in the detection and treatment of solid tumors. *International Journal of Nanomedicine*, v.9, n.1, p.589-613, 2014.

GABAS, V.G.S.; CAVALCANTI, O.A. Influência da adição de goma arábica em filmes isolados de polímero acrílico. Estudo das propriedades de intumescimento e de permeabilidade. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v.39, n.4, p. 441-448, 2003.

GAVA, C. M.; BERMUDEZ, J. A. Z.; PEPE, V. L. E.; REIS, A. L. A. Novos medicamentos registrados no Brasil: podem ser considerados como avanço terapêutico? *Ciência & Saúde coletiva*, v.15, supl.3, p. 3403-3423, 2010.

GHAFFARI, A.; NAVAEI, K.; OSKOU, M.; BAYATI, K.; TEHRANI, M. R. Preparation and characterization of free mixed-film of pectin/chitosan/Eudragit RS intended for sigmoidal drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.67, n.1, p.175-186, 2007.

GHANBARZADEH, B.; MUSAVI, M.; OROMIEHIE, A. R.; REZAYI, K.; RAD, E.R.; MILANI, J. Effect of plasticizing sugars on water vapor permeability, surface energy and microstructure properties of zein films. *LWT—Food Science and Technology*, v.40, n.7, p.1191-1197, 2007.

JAIN, A.; JAIN, S. K.; GANESH, N. BARVE, J.; BEG, A. M. Design and development of ligand-appended polysaccharidic nanoparticles for the delivery of oxaliplatin in colorectal cancer. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, v.6, n.1, 2010.

- JEONG, S. H., PARK, K. Development of sustained release fast-disintegrating tablets using various polymer-coated ion-exchange resin complexes. *International Journal of Pharmaceutics*, v.353, p.195–204, 2008.
- JIN, Yu-Jin, UBONAVAN, T., KIM, Dae-Duk. Hyaluronic Acid in Drug Delivery Systems. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, v.40, n. special issue, p.33-43; 2010.
- LI, C.; HEIDT, D. G.; DALERBA, P.; BURANT, C. F.; ZHANG, L.; ADSAY, V.; WICHA, M.; CLARKE, M. F.; SIMEONE, D. Identification of pancreatic cancer stem cells. *Cancer Research*, v.67 p. 030 -1037, 2007.
- LOPES, C. M.; LOBO, J. M. S.; COSTA, P.. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v.41, n.2, p. 143-154, 2005.
- LORENZO, C. A.; FERNANDEZ, B. B.; PUGA, A. M.; CONCHEIRO, A. Crosslinked ionic polysaccharides for stimuli-sensitive drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v.65, n.9, p.1148-1171, 2013.
- McGINITY, J.W.; FELTON, L.A. Adhesion of polymeric films, Aqueous Polymeric Coatings for Pharmaceutical Dosage Forms, *Drug and the pharmaceutical sciences*, v. 176, 2008.
- MELO, E. J.; ALVES, B. F. V.; FREITAS, A. A.; MUNIZ, E. C.; CAVALCANTI, O. A. Influence of the Addition of Alpha or Gamma-Cyclodextrin on the Formation of Free Films in the Polymethacrylates Eudragit® FS30D. *Latin American Journal of Pharmacy*, v.29, n.6, p.919-926, 2010.
- MENEGUIN, A. B.; CURY, B. S. F.; EVANGELISTA, R. C. Films from resistant starch-pectin dispersions intended for colonic drug delivery. *Carbohydrate Polymers*, v.99, p.140–149, 2014.
- NAOR, D.; NEDVETZKI, S.; GOLAN, I.; MELNIK, L; FAITELSON, Y. CD44 in cancer. *Critical Reviews In Clinical Laboratory Sciences*, v.39, n.6, p.527-579, 2002.
- OGRODOWSKI, C. S. *Produção de ácido hialurônico Streptococcus: estudo da fermentação e caracterização do produto*. Tese (Doutorado em engenharia química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006. Disponível em: <<http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=vtls000379878&fd=y>> Acesso em: 15 mai. 2013.
- OGAJI, I. J.; NEP, E. I.; AUDU-PETER, J. D. Advances in Natural Polymers as Pharmaceutical Excipients. *Pharmaceutica Analytica Acta*, v.3, p.146- 162, 2012.
- PATRAWALA, L.; CALHOUM, T.; SCHNEIDER-BROSSARD, R.; LI, H.; BHATIA, B.; TANG, S.; REILLY, J. G.; CHANDRA, D.; ZHOU, J.; CLAYPOOL, K.; COGHLAN, L.; TANG D. C. Highly purified CD44+ prostate cancer cells from xenograft human tumors are enriched in tumorigenic and metastatic progenitor cells. *Oncogene*, v.25, p.1696-1708, 2006.
- PETERSEN, S.; KAULE, S.; TESKE, M.; MINRATH, I.; SCHMITZ, K. P.; STERNBERG, K. Development and *In Vitro* Characterization of Hyaluronic Acid-Based Coatings for

Implant-Associated Local Drug Delivery Systems. *Journal of Chemistry*, v. 2013, p.1-11, 2013.

PUC, P. V.; NHAN, P. L. C.; NHUNG, T. H.; TAM, N. T.; HOANG, N. M.; TUE, V. G.; THUY, D. T.; NGOC, P. K. Downregulation of CD44 reduces doxorubicin resistance of CD44 +CD24⁻ breast cancer cells. *OncoTargets and Therapy*, v.4, p.71–78, 2011.

RAMOS, K, L, *Análise comparativa da distribuição espacial de moléculas envolvidas na migração e invasão de um tumor cerebral de rato in vivo*. Tese (Doutorado em Ciências biomédicas) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

REDDY, K. J.; KARUNAKARAN, K. T. Purification and characterization of hyaluronic acid produced by *Streptococcus zooepidemicus* strain 3523-7. *Journal bioscience and biotechnology*, v.2, n.3, p.173-179, 2013.

SANTOS, L. F.; PINEDA, E. A. G.; CELLIGOI, M. A. P. C.; CAVALCANTI, O. A. Levan as a new additive for colon-specific films: A new approach in the use of exopolysaccharides in time-dependent free films (Aminoalkyl Methacrylate Copolymer RS). *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, v.26, n.5, p.943-948, 2013.

SCAPIM, M. R. S. *Produção, caracterização, aplicação e biodegradabilidade de filmes de blendas de amido e poli (butileno adipato co-tereftalato) produzidos por extrusão*. Tese (Doutorado em Ciência de alimentos) - Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2009. Disponível em:

<<http://bibliotecadigital.uel.br/zeus/auth.php?back=http%3A%2F%2Fwww.bibliotecadigital.uel.br%2Fdocument%2F%3Fcode%3Dvtls000149540&go=x&code=x&unit=x>> Acesso em: 14 nov. 2013.

SHAO, Z. J.; MORALES, L.; DIAZ, S.; MUHAMMAD, N. A. Drug Release From Kollicoat SR 30D-Coated Nonpareil Beads: Evaluation of Coating Level, Plasticizer Type, and Curing Condition. *American Association of Pharmaceutical Scientists*, v.3, n.2, p.87-96, 2002.

SOUTO-MAIOR, J. P. A.; REIS, A. V.; PEDREIRO, L. N.; CAVALCANTI, O. A. Avaliação da pectina fosfatada aplicada na formação de filmes isolados. Material candidato a novos sistemas para liberação modificada de fármacos. *Brazilian journal of pharmaceutical sciences*, v.44, n.2, p 203-2013, 2008.

TRAPASSO, S.; ALLEGRA, E. Role of CD44 as a marker of cancer stem cells in head and neck cancer. *Biologics: Targets and Therapy*, v.6, p.379–383, 2012;

UNITED States Pharmacopeia USP 35; National Formulary NF30. Rockville: United Pharmacopeial Convention, 2012.

VILAR, G.; PUCHEA, J. T.; ALBERICIO, F. Polymers and Drug Delivery Systems. *Current Drug Delivery*, v.9, n.4, p.1-28, 2012.

WANG, Q.; PADUA, G. W. Properties of Zein Films Coated with Drying Oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, v.53, n.9, p.3444–3448, 2005.

WEN, H, PARK K., *Oral Controlled Release Formulation Design and Drug Delivery: Theory to Practice*, Hoboken: John Wiley & Sons, 2010.

WEI, H.; LI-FANG, F.; YONG-ZHEN, C.; BAI, X.; QING, D.; MIN, B.; FENT, W.; MIN, Q.; DE-YING, C. Pectin/Kollicoat SR30D isolated films for colonic delivery I: a comparison of normal and colitis-induced models to assess the efficiency of microbially triggered drug delivery. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v.61, n.2, p.167–176, 2009a.

WEI, H.; LI-FANG, F.; BAI, X.; CHN-LEI, L.; YONG-ZHEN, C.; DE-YING, C. An investigation into the characteristics of chitosan/Kollicoat SR30D free films for colonic drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.72, n.1, p.266–274, 2009b.

YADAV, A. K.; MISHRA, P.; MISHRA, A. K.; MISHRA, P.; JAIN, S.; AGRAWAL, G. P. Development and characterization of hyaluronic acid–anchored PLGA nanoparticulate carriers of doxorubicin. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, v.3, n.4, p.246–257; 2007.