



Universidade do Algarve

Faculdade de Ciências e Tecnologia

**Abordagem Tecnológica da Administração Colónica:
Aplicação à Doença de Crohn**

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

João Carlos Nóbrega Gouveia

Faro, 2011



Universidade do Algarve

Faculdade de Ciências e Tecnologia

**Abordagem Tecnológica da Administração Colónica:
Aplicação à Doença de Crohn**

Dissertação

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

João Carlos Nóbrega Gouveia

Orientador:

Prof. Doutora Ana Grenha

Faro, 2011

Agradecimentos

A minha orientadora Professora Doutora Ana Grenha, pela sua disponibilidade e prontidão no esclarecimento das muitas dúvidas que me preocuparam tanto no desenvolvimento do trabalho como também na sua elaboração.

Aos meus pais em especial, pelo amor, esforço, orgulho e confiança que sempre depositaram em mim, acreditando sempre nas minhas plenas capacidades, e sem os quais todo este trajecto não seria possível.

Ao meu irmão e a minha irmã, que sempre estiveram presentes neste percurso, e deram todo o apoio necessário para um futuro de sucesso.

A toda a minha família, que funcionou como uma fonte inesgotável de apoio e carinho em todos os momentos que precisei.

À minha namorada, Rita, pelo seu amor e dedicação, foi onde muitas vezes encontrei o amor e a força necessária para chegar a este objectivo.

À minha segunda família, os meus amigos, com quem partilhei 5 anos de vivências e onde no seio desta família acabei por crescer em conjunto, criando fortes laços de amizade, e apoio para os momentos mais difíceis.

Em resumo, a todos os que contribuíram de forma directa ou indirecta para a realização deste trabalho, um enorme muito obrigado.

Resumo

O presente trabalho pretende identificar quais as abordagens existentes do ponto de vista tecnológico para a veiculação específica de fármacos para o cólon, as quais poderão ser úteis em doenças como a doença de Crohn.

A doença de Crohn é caracterizada por um processo inflamatório generalizado, que pode atingir qualquer parte do tracto gastrointestinal, embora seja mais comum afectar o cólon, íleo e a região perianal.

Uma das abordagens mais típicas consiste na utilização de polissacarídeos como constituintes de sistemas de administração, pelo facto de não apresentarem toxicidade e serem facilmente acessíveis. A utilização destes compostos está em ampla expansão, devido a serem facilmente degradados pela microflora presente no cólon. Além disso, verifica-se que o conteúdo da microflora é um dos que apresenta menor variabilidade intra-individual e intra-espécies.

Neste momento as estratégias de tratamento passam pela tentativa de atingir e manter a remissão da doença, uma vez que não existe ainda terapêutica capaz de curar os doentes.

Palavras-Chave:

Administração colónica, doença de Crohn, sistemas microflora-dependentes, sistemas pH-dependentes, sistemas pressão-dependentes, sistemas tempo-dependentes, veiculação para o cólon.

Abstract

This work intends to identify the possible approaches for the specific transportation of drugs into the colon from the technological point of view, which could be useful in diseases such as Crohn's disease.

Crohn's disease is characterized by a general inflammatory process, which could affect any part of the gastrointestinal tract, although it's most common effects are in the colon, ileum and perianal area.

One of the most typical approaches consists in using polysaccharides as components of administrating systems, due to their non-toxicity and easy attainability. The use of these compounds is in wide expansion, for they are easily degraded by the microflora inhabiting the colon. Furthermore, it has been shown that the content of this microflora presents one of the least variable intraindividual and intraspecies variety.

At the present time, treatment strategies attempt to obtain and maintain the disease's remission, although there isn't yet a therapy capable of curing patients.

Keywords:

Colon delivery, colonic administration, colonic microflora-dependent systems, Crohn's disease, pH-dependent systems, pressure-dependent systems, time-dependent systems.

Índice

Índice de figuras	Pág. VIII
Índice de quadros.....	Pág. IX
Lista de abreviaturas	Pág. X
1. Introdução	Pág. 1
2. Anatomia do sistema digestivo	Pág. 4
2.1 Factores fisiológico	Pág. 6
2.2 Factores biológicos	Pág. 7
3. Doença de Crohn.....	Pág. 9
3.1 Etiologia.....	Pág. 11
4. Administração colónica como forma de tratamento de afecções intestinais	Pág. 14
5. Sistemas de administração colónica: diferentes abordagens	Pág. 17
5.1 Sistemas de libertação em função do pH	Pág. 18
Matrizes	Pág. 20
Hidrogéis.....	Pág. 20
Outros estudos.....	Pág. 21
5.2 Sistemas de libertação em função da microflora do cólon.....	Pág. 22
Amilase	Pág. 24
Celulose	Pág. 25
Inulina	Pág. 26
Quitano	Pág. 28
Pectina.....	Pág. 29
Ciclodextrinas	Pág. 31
Curdano.....	Pág. 32
Alginato	Pág. 33
Escleroglucano.....	Pág. 34
Dextranos	Pág. 35
Goma guar.....	Pág. 36
Goma alfarroba	Pág. 38
Glucomanano	Pág. 39
Sulfato de Condroitina.....	Pág. 40

Ácido hialurónico	Pág. 42
Angélica	Pág. 43
5.3 Sistemas de libertação em função do tempo	Pág. 43
5.4 Sistemas de libertação em função da pressão	Pág. 45
6. Casos concretos.....	Pág. 47
6.1 Sistemas multiparticulados	Pág. 47
6.2 Revestimento com pectina e galactomanano	Pág. 49
6.3 Sistemas com microesponjas	Pág. 50
6.4 Tecnologia codes	Pág. 50
7. Conclusão.....	Pág. 52
8. Bibliografia	Pág. 53

Índice de figuras

Figura 1- Anatomia do aparelho digestivo	Pág. 5
Figura 2- Aspecto de um cólon saudável e aspecto cólon afectado pela doença	Pág. 9
Figura 3- Zonas mais frequentemente afectadas pela doença	Pág. 10
Figura 4- Diferentes factores envolvidos na etiologia da doença.....	Pág. 11
Figura 5- Estrutura química da amilose.....	Pág. 25
Figura 6- Estrutura química da celulose	Pág. 26
Figura 7- Estrutura química da inulina	Pág. 27
Figura 8- Estrutura química do quitosano	Pág. 29
Figura 9- Estrutura química da pectina.....	Pág. 31
Figura 10- Estrutura química das ciclodextrinas	Pág. 32
Figura 11- Estrutura química da curdlana	Pág. 33
Figura 12- Estrutura química do alginato	Pág. 34
Figura 13- Estrutura química do escleroglucano.....	Pág. 34
Figura 14- Estrutura química do dextrano.....	Pág. 36
Figura 15- Estrutura química da goma de guar	Pág. 37
Figura 16- Estrutura química da goma de alfarroba	Pág. 38
Figura 17- Estrutura química do glucomanano	Pág. 39
Figura 18- Estrutura química do sulfato de condroitina.....	Pág. 41
Figura 19- Estrutura química do ácido hialurónico	Pág. 42
Figura 20- Tecnologia codes	Pág. 51

Índice de quadros

Quadro 1- Mutações nos genes associados a doença de Crohn, e respectiva função de cada genePág. 12

Quadro 2- Exemplos de fármacos usados no tratamento da doença de Crohn e métodos usadosPág. 13

Quadro 3- Possíveis abordagens na veiculação de fármacos para cólon, principais vantagens e desvantagensPág. 15

Lista de abreviaturas

5-ASA	5-aminossalicilato
CD	Ciclodextrinas
DC	Doença de Crohn
IBD	Doença inflamatória do intestino
HPC	Hidroxipropilcelulose
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
PBS	Solução tampão
ScIg	Escleroglucano

1. Introdução

Hoje em dia, várias vias de administração têm sido exploradas para uma entrega efectiva de fármacos, sendo a via oral o percurso considerado genericamente mais conveniente para a administração de fármacos aos doentes. Na via de administração oral, as formulações dissolvem-se normalmente nos fluidos gastrointestinais e são absorvidas a partir da região gastrointestinal, com um perfil dependente das propriedades físico-químicas do fármaco em questão e das condições do meio envolvente [1].

A utilização da via de administração oral como forma de direccionar fármacos para o cólon é extremamente útil para o tratamento de uma variedade de doenças intestinais, como a doença de Crohn e a colite ulcerosa, que são doenças inflamatórias intestinais, e o cancro do cólon. No entanto, o cólon é igualmente reconhecido como um local de absorção adequado para peptídeos e proteínas, bem como de outros fármacos, principalmente porque existe uma menor diversidade e intensidade das enzimas digestivas, e a actividade proteolítica da mucosa colónica é significativamente menor com a observada no intestino delgado. Por exemplo, moléculas que são degradadas ou mal absorvidas na parte superior do tracto gastrointestinal, como o caso de proteínas e peptídeos são tipicamente melhor absorvidas na zona colónica [1-3].

Embora, a via oral seja a mais conveniente para alcançar a região colónica, outras vias de administração podem ser utilizadas, como é o caso da via rectal. Esta via oferece um caminho mais curto até à região colónica, mas a administração rectal não possibilita facilmente atingir a parte proximal do cólon, além de que pode existir sempre algum desconforto para os pacientes [2].

Em qualquer dos casos de uma acção sistémica ou local, não é fácil conseguir que o fármaco alcance o cólon de forma intacta, sem ter perdido parcial ou totalmente as suas propriedades. É neste sentido que se tem proposto a utilização de sistemas transportadores especificamente direccionados para libertação colónica, os quais devem ser capazes de proteger o fármaco no trajecto até ao cólon, ou seja, a libertação do fármaco e a sua absorção não devem ocorrer no estômago nem no intestino delgado, não podendo o fármaco ser degradado em nenhum destes locais. Desta forma, o sistema

transportador protege o fármaco encapsulado da hidrólise e da degradação enzimática no duodeno e no jejuno, libertando o princípio activo no íleo ou cólon, dando origem a uma maior biodisponibilidade. Além disso, como o conteúdo colónico permanece nesta região por um longo período de tempo (até 5 dias) e a zona é altamente susceptível à acção de promotores de absorção, é possível aumentar a absorção de agentes que normalmente são pouco absorvidos [1,3].

No caso de uma administração com fins locais, o desenvolvimento de sistemas de administração colónica garante um tratamento directo no local da afecção, sendo necessária uma menor dosagem, o que levará a uma redução nos efeitos adversos [3].

O cólon humano tem mais de 400 espécies de bactérias distintas na flora, num grama de conteúdo do cólon existe a probabilidade de existirem cerca de 10¹⁰ bactérias [4].

Entre as acções realizadas por essa flora intestinal são características as reacções de oxidação-redução e clivagens enzimáticas, as quais constituem processos metabólicos responsáveis pelo metabolismo de muitos fármacos [2].

Os princípios usados no desenvolvimento das diferentes abordagens para a administração colónica de fármacos, assentam nos factores biológicos e nos factores fisiológicos que vão interferir com os novos sistemas desenvolvidos [3].

Este tipo de sistemas assume principal importância nos casos de doença inflamatória do intestino.

A doença de Crohn é uma doença inflamatória que pode afectar qualquer parte do tracto gastrointestinal, embora as zonas mais predominantemente afectadas sejam o cólon, o íleo terminal e a região perianal.

A doença é caracterizada por um sistema imunitário desregulado, o que origina um padrão inflamatório, embora também possa apresentar o desenvolvimento de fístulas e outros sintomas heterogéneos característicos.

O tratamento desta patologia visa atingir a remissão dos sintomas e, quando atingida essa remissão, o objectivo é mantê-la pelo maior período de tempo possível.

Existem diferentes abordagens terapêuticas para a Doença de Crohn, incluindo terapias mais leves para casos menos graves e esquemas terapêuticos mais agressivos para os

estados activos e graves da doença. Esta dissertação tem como objectivo numa primeira fase, discutir a doença de Crohn, a sua etiologia e sintomas. Numa fase posterior será discutido os diferentes métodos usados na veiculação de fármacos para o cólon.

2. Anatomia do sistema digestivo

O aparelho digestivo é constituído pelo tubo digestivo, que se estende desde a boca ao ânus, e pelas glândulas anexas, que segregam fluidos para o tubo digestivo [5].

Após a ingestão, os alimentos passam pelo esófago, um tubo muscular cujas paredes impulsionam os alimentos no sentido descendente até ao estômago, onde os alimentos são misturados com vários sucos gástricos, muco e várias enzimas que começam a degradar as proteínas, a principal função do estômago é iniciar a digestão das proteínas por meio da pepsina, é muito efectiva, devido ao ambiente ácido do estômago [6, 7].

O estômago é um segmento dilatado do tubo digestivo localizado na parte superior esquerda do abdómen. A sua configuração e tamanho variam de pessoa para pessoa, variando o seu tamanho e forma inclusive no mesmo indivíduo, dependendo do volume do conteúdo e postura corporal. É nesta secção que se inicia o processo digestivo, sendo as proteínas digeridas pela acção do ácido clorídrico e da pepsina, e com excepção de algumas substâncias como a, água e o álcool, verifica-se pouca actividade absorptiva. As ondas peristálticas do estômago movem o seu conteúdo até ao intestino delgado [8].

O intestino delgado é dividido em três porções: (I) duodeno, (II) jejuno, (III) íleo, medindo aproximadamente 6 m. Na cavidade abdominal o duodeno forma quase um arco de 180 graus, no qual a cabeça do pâncreas se apoia. O duodeno inicia-se numa pequena porção superior, onde termina o piloro e termina numa curvatura pronunciada, no final da qual se une ao jejuno [7].

A digestão no intestino delgado ocorre por meio de enzimas provenientes do pâncreas e da mucosa intestinal que completam a degradação das moléculas dos alimentos. As pregas circulares, as vilosidades e microvilosidades presentes aumentam a superfície de absorção, pelo que maioria dos nutrientes é absorvida nesta porção do tracto gastrointestinal [8].

O intestino grosso é a porção do tubo digestivo que se estende da junção ileocecal até ao ânus. É composto pelo cego, cólon, recto e canal anal. O cego é a porção proximal do intestino grosso, sendo o local onde o intestino delgado e o intestino grosso se unem na junção ileocecal. O cólon mede 1.5-1.8m de comprimento e divide-se em quatro partes:

cólon ascendente, transverso, descendente e sigmoideu. A camada de músculo circular é completa, mas o músculo longitudinal é incompleto, não envolvendo completamente a parede intestinal.

Na metade proximal do cólon é onde ocorre a absorção de sais, água e vitaminas. A metade distal do cólon proporciona armazenamento das fezes até estas serem eliminadas. São verificados movimentos segmentares de mistura, estes movimentos propulsionam as fezes até ao ânus onde são eliminadas [7,8].

O segmento superior do intestino, jejuno, onde grande parte das proteínas é absorvida, encontra-se muitas vezes comprometido em pacientes com doença de Crohn, embora distúrbios no jejuno sejam menos frequente que noutras zonas do tracto gastrointestinal [6].

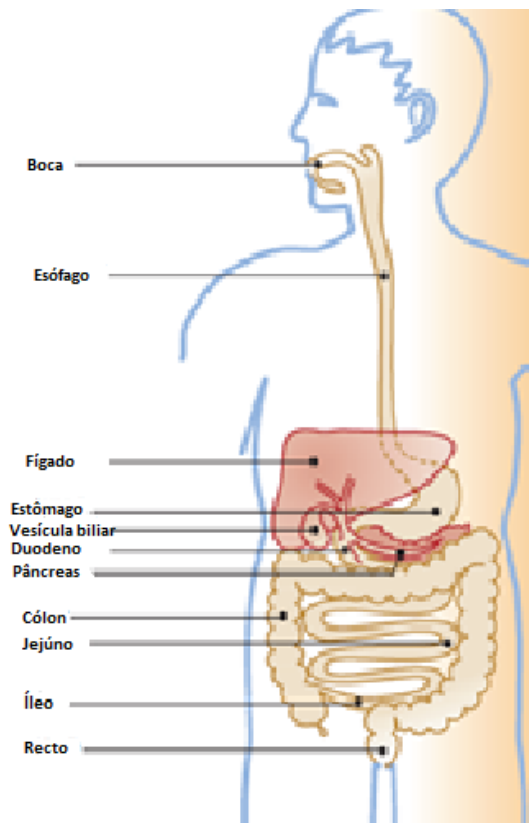


Figura 1: Anatomia do aparelho digestivo [6]

2.1 Factores fisiológicos

O tracto gastrointestinal é composto pelo estômago, o intestino delgado e o intestino grosso. Todo o comprimento do tracto gastrointestinal é de cerca de 500-700 cm e tem uma área de cerca 200.000 cm² [4].

A superfície de contacto das várias estruturas é coberta de vilosidades e microvilosidades, que aumentam a área de contacto, e contêm enzimas digestivas e transportadoras. Desta forma quase todos os nutrientes e moléculas pequenas, como muitos fármacos, são absorvidos no intestino delgado e integram a circulação sistémica [9].

O pH dos fluidos intestinais afecta a eficácia dos fármacos veiculados para o cólon, após administração oral. O pH do estômago humano em repouso varia entre 1.3-1.7, mas aumenta depois da ingestão de alimentos. O pH duodenal de humano é de 6.4. O valor de pH no cólon varia consoante o tipo de alimentação praticada. Por exemplo, o pH cai para uma faixa de 5.0-6.0 devido à acidificação dos produtos da fermentação bacteriana. A presença de condições muito ácidas no estômago é um dos grandes entraves para a entrega específica e intacta de fármacos no cólon. Estas mudanças de pH afectam o grau de ionização de ácidos fracos, de bases e de pró-fármacos básicos.

O tempo de trânsito intestinal afecta a eficácia dos fármacos. Este parâmetro do tracto gastrointestinal é muito variável e depende de muitos factores, que incluem, a motilidade gastrointestinal, a qualidade e quantidade de comida ingerida e outros factores fisiológicos. O tempo de trânsito intestinal em humanos pode variar entre 24 até 72 h. Geralmente, o tempo desde a inserção na boca até ao intestino delgado varia entre 0.5 a 2 horas, no entanto esses valores podem passar para 3-6 horas ou 5-8 dependendo se as refeições são ligeiras ou pesadas, respectivamente. Um fármaco especificamente direccionado para o cólon, deveria ser suficientemente estável até chegar à região colónica, mas o longo tempo de trânsito intestinal é suficiente para comprometer a sua estabilidade. É necessário lembrar que todas estas situações são agravadas pelo aumento da idade, pelas doenças existentes, bem como outros factores fisiológicos. Assim todas estas alterações têm de ser tidos em conta não apenas no

desenho e desenvolvimento de formulações específicas para o cólon, mas também nos regimes posológicos [4,9].

2.2 Factores biológicos

A microflora presente no tracto gastrointestinal é um complexo ecossistema, que contém vários microrganismos aeróbios e anaeróbios. As enzimas produzidas por estes microrganismos poderão ter a capacidade de metabolizar os sistemas transportadores de fármacos administrados por via oral, libertando assim os fármacos no cólon.

A saliva humana contém cerca de 10^7 unidades formadoras de colónias de bactérias aeróbias e anaeróbias. Essas bactérias podem chegar ao estômago quando a saliva é ingerida. O número de bactérias depende da presença de comida no estômago e de mudanças no pH. A natureza e o número de bactérias no intestino delgado são semelhantes ao verificado no estômago. Por outro lado, a concentração bacteriana aumenta na parte inferior do intestino delgado, ileum, ceco ou recto, onde existe uma presença predominante de bactérias anaeróbias. Um terço do peso de matéria fecal seca, consiste em bactérias, na qual existe cerca de 400 diferentes espécies de bactérias. As espécies predominantes no cólon são *bacteroides*, *bifidibacteria* e *eubacteria*. Várias enzimas produzidas por estas bactérias têm um papel importante no metabolismo de compostos endógenos ou exógenos nesta região do intestino [4,9].

Todos estes factores têm de ser tidos em conta no desenvolvimento de sistemas de administração específicos para libertação colónica.

A referida microflora sobrevive através da fermentação de vários substratos que não foram digeridos no intestino delgado. Os hidratos de carbono provenientes do intestino delgado são a principal fonte de energia das bactérias presentes no cólon [10]. Estas bactérias produzem uma ampla gama de enzimas como, *β -glucuronidase*, *β -xylosidase*, *α -arabinose*, *β -galactosidase*, *azoreductase*. O estômago contém poucas bactérias, todas aeróbias, à medida que se vai progredindo no tracto gastrointestinal a contagem total aumenta, até atingir o seu valor máximo quando se chega ao cólon. Os valores mais

baixos verificados no estômago e no intestino delgado, devem-se ao curto tempo de trânsito intestinal nesta parte do sistema digestivo, e também devido ao baixo valor de pH observado na área [5].

Os hidratos de carbono são divididos em compostos de cadeia curta, em ácidos gordos, dióxido de carbono e outros produtos, pelas *glicosidases* e enzima *polissacarídase*. A actividade das proteases no cólon pode resultar na clivagem de proteínas e péptidos. O pH da parte inicial do cólon é menor do que no final do intestino delgado, o que se deve à presença de ácidos gordos de cadeia curta e outros produtos resultantes da fermentação [10].

Em estudos já realizados foi mostrado que a composição da microflora humana é praticamente independente da dieta, idade e localização geográfica, embora existam dados, que mostram variações nas concentrações de *bifidobacterias* e *eubacterias* em pessoas que vivem com dietas diferentes [5].

Tendo em conta estas variações inter-individuais, decorrentes do consumo de certos alimentos ou fármacos, que posteriormente vão influenciar o tipo de microflora presente, tem de ser considerado seriamente se o uso da microflora será vantajoso para a veiculação de fármacos para o cólon, pois a libertação do fármaco está dependente da degradação do sistema por parte desta microflora. Determinadas doenças, ou o tratamento com antibióticos afectam a microflora. Numa situação de patologia em que se verifique uma diminuição da secreção de ácido clorídrico no estômago, situação conhecida por hipocloridria, pode observar-se o aumento do número de bactérias [5,9].

Em alguns mamíferos como o rato, o estômago e o intestino delgado podem conter quantidades consideráveis de bactérias, semelhantes aquelas às encontradas nos humanos, tornando assim viável a utilização modelos animais em muitos dos ensaios farmacológicos realizados [5].

3. Doença de Crohn

A doença de Crohn é assim designada em homenagem ao médico que a descobriu, um gastroenterologista americano de nome Burril B. Crohn [6].

É caracterizada pela activação inapropriada e persistente do sistema imunitário, pode ter um padrão fistulizante ou inflamatório, como é demonstrado na figura 2. Pode afectar qualquer parte do tracto gastrointestinal, desde a boca até ao ânus [6,11,12].



Figura 2: a) aspecto de um cólon normal b) aspecto de um cólon afectado pela doença (padrão inflamatório) [6]

É predominantemente encontrada no íleo terminal, no cólon, e na região perianal, como é demonstrado na figura 3. Os sintomas, geralmente heterogéneos, incluem sintomas gastrointestinais de diarreia crónica (muitas vezes com sangue ou muco nas fezes), dor abdominal e perda de peso, frequentemente acompanhados de mal-estar, anorexia, febre e alterações a nível do aparelho locomotor. No momento do diagnóstico, cerca de 10 % dos indivíduos já apresentam fístulas perianais e abscessos [11-13].

O tratamento da doença de Crohn é sempre dirigido no sentido de minimizar o impacto da doença e, atingir a remissão, que deve ser mantida quando se atinge. A cicatrização da mucosa a longo prazo tem emergido como objectivo terapêutico emergente. Ainda não existe um consenso sobre o momento ideal para avaliação da cicatrização da mucosa, mas acredita-se que seja um dos melhores métodos para determinação da resposta terapêutica [14].

A doença de Crohn e a colite ulcerosa são doenças crónicas recorrentes, associadas a factores imunológicos, sendo geralmente referidas colectivamente como doenças inflamatórias do intestino (IBD). A grande diferença entre a colite ulcerosa e a doença de Crohn é a área que cada uma afecta, dado que na colite ulcerosa a inflamação é limitada ao cólon, enquanto no caso da doença de Crohn se estende até as regiões distais do cólon com inclusão do íleo [15,16].

Num estudo realizado, foi esclarecido que as mortes ocorridas durante o curso da doença de Crohn são atribuíveis a complicações clínicas ou cirúrgicas, e as mortes por cancro gastrointestinal ocorrem numa fase mais tardia do curso da doença. Até á data apenas um único estudo demonstrou haver uma ocorrência de cancro colo rectal em todos os doentes com DC [17].

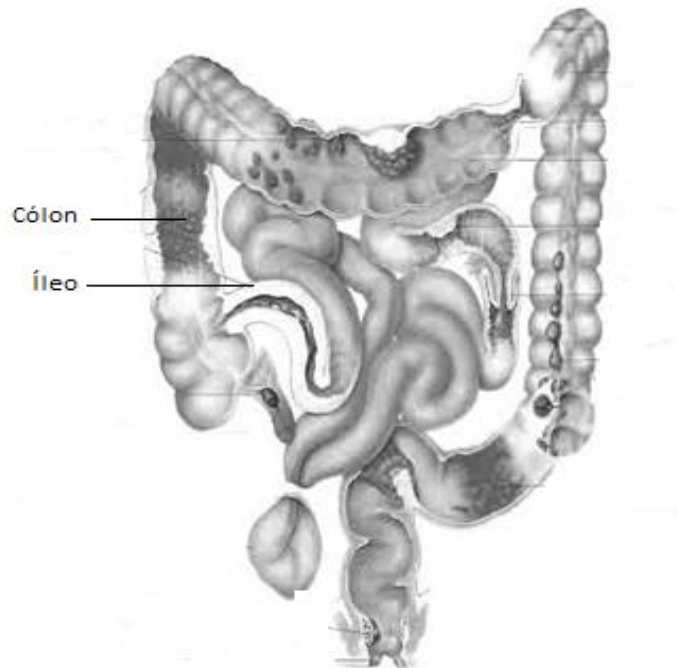


Figura 3: Zonas mais frequentemente afectadas pela doença [imagem alterada 5]

3.1 Etiologia

A etiologia desta doença permanece um verdadeiro enigma. Porém, estudos efectuados nos últimos anos com modelos animais, genética avançada e ciências básicas e clínica, têm fornecido novos conhecimentos sobre a patogénese da doença [15].

A hipótese mais defendida está associada a células T com um comportamento demasiado agressivo, e uma resposta imunitária exacerbada a um subconjunto de bactérias entéricas que se desenvolvem no hospedeiro, associada a susceptibilidade a factores ambientais que fazem precipitar o início ou uma reactivação da doença [15,18].

Esta teoria complexa envolve quatro componentes separadas que se devem cruzar em múltiplos caminhos de forma a precipitar a doença, como é demonstrado na figura 4 [19,20].

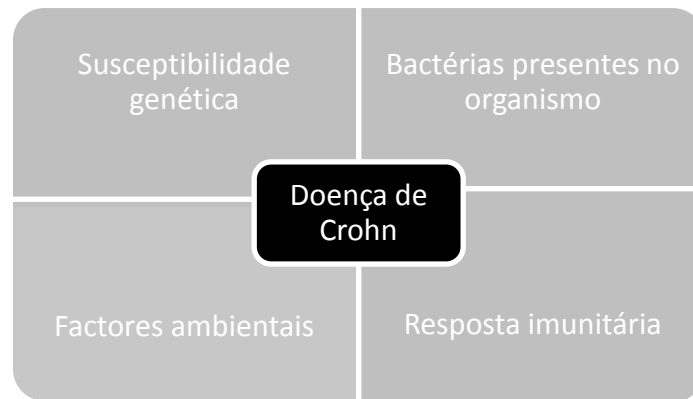


Figura 4: Diferentes factores envolvidos na etiologia da doença [15]

A nível genético tem-se verificado alguns avanços, que permitem compreender a componente genética associada a IBD. Estes avanços permitiram perceber quais os genes implicados na regulação de várias funções biológicas importantes, tais como a imunorregulação, a integridade das barreiras constituídas pelas diferentes mucosas, assim como a alteração da hemóstase microbiana. Em estudos realizados em ratos o gene CARD 15 foi o primeiro a ser associado a Doença de Crohn. A deleção deste gene, revelou uma diminuição da produção de α -defensinas com um respectivo aumento da

susceptibilidade a uma possível infecção experimental, processo que ocorre nos doentes afectados pela doença [15,19].

Além deste gene, existem mais três, associados ao desenvolvimento da doença, que são apresentados no quadro seguinte [15].

Quadro 1: mutações nos genes associados a doença de Crohn, e respectiva função de cada gene [15]

Gene	Cromossoma	Função
CARD15	16	Produção de α defensinas
SLC22A4 e SLC22A5	5	Possível transportador de substâncias xenobióticas, transportador de carnitina
DLG5	10	Inibição da actividade de NF κ B
PPARG	3	Inibição intracelular de NF κ B e activação celular

Um outro factor associado a etiologia da doença, é o facto de se assistir a uma ruptura do equilíbrio da mucosa, como consequência do desregulado, e anormal sistema imunológico. Caracterizado principalmente pela activação de linfócitos e pela super-expressão de citocinas [15].

A doença activa a resposta imunitária inata (macrófagos e neutrófilos) e adquirida (Células E e B) e verifica-se uma perda de tolerância a bactérias entéricas comensais [21].

O sistema imunológico deve ser capaz de discriminar entre as bactérias comensais, os inofensivos dos potencialmente patogénicos. Assim o sistema imunológico intestinal, deve tolerar a flora comensal que está constantemente presente e manter a resposta imunológica controlada [22,23].

Existem investigadores a defender a ideia, de que a normal flora do intestino tem um papel crucial na patogénese da DC, e que resulta da perda de tolerância contra os organismos comensais que é o evento central da doença. Existem vários factores

complementares a contribuir para a referida perda de tolerância, como a inadequada estimulação de células T [23].

Um estudo realizado veio afirmar que um dos mecanismos que despoleta a doença é o facto de factores genéticos do homem favorecem o crescimento de certas bactérias presentes no tracto gastrointestinal. No entanto permanecem ainda desconhecidos quais os factores que levam a esse acontecimento [24].

Estudos revelaram que alguns factores ambientais têm também implicação na patogénese da doença. Esses factores incluem o fumo, a dieta, o uso de antibióticos assim como fármacos anti-inflamatórios não esteróides, e o stress [15].

Infelizmente, os mecanismos pelos quais estes factores despoletam a doença ainda não são conhecidos. Numa ampla perspectiva, estes acontecimentos podem alterar a integridade da barreira presente na mucosa, tendo impacto sobre a susceptibilidade de inflamação [15].

No quadro 2, encontram-se descritos alguns princípios activos usados no tratamento da doença de Crohn, com a respectiva tecnologia usada no desenvolvimento do sistema.

Quadro 2: Exemplos de fármacos usados no tratamento da doença de Crohn e método usado [10,3]

Fármacos usados	Técnica usada
5-aminossalicilato	pH-dependente (revestimento com polissacarídeos)
Messalazina	pH-dependente (revestimento com polissacarídeos)
Indometacina	Tempo dependente/ controlo enzimático (baseado em polissacarídeos)
Budesonida	Controlo enzimático (baseado em pró-fármaco)
Prednisolona	Controlo enzimático (baseado em polissacarídeos)
Dexametasona	Controlo enzimático (baseado em polissacarídeos)

4. A administração colónica como forma de tratamento de afecções intestinais

No caso de afecções locais da zona do cólon, a entrega específica de fármacos no local afectado pela doença, permite uma menor dosagem de fármaco e consequentemente menos efeitos adversos. Doenças como a colite ulcerosa e a Doença de Crohn podem beneficiar desta estratégia. No quadro 3, encontram-se as possíveis abordagens usadas no desenho de fármacos para o cólon, assim como as suas principais vantagens e desvantagens.

A administração direccionada para o cólon tem sido particularmente vantajosa para formulações que incluem fármacos polares, as quais são susceptíveis de degradação química e enzimática no tracto gastrointestinal superior, sendo também frequentemente afectadas pelo metabolismo hepático [5].

Um desafio ao desenvolvimento deste tipo de sistemas específicos é encontrar um método adequado de dissolução para avaliar o sistema *in vitro*, o que é um indicador da sua viabilidade. O cólon como local específico de entrega de fármacos apresenta um pH neutro ou aproximadamente neutro, uma actividade enzimática reduzida e um elevado tempo de trânsito intestinal. No entanto, o direccionamento de fármacos para o cólon torna-se complicado devido, à sua localização na parte terminal do tubo digestivo, pelo que os sistemas farmacêuticos administrados têm de sobreviver a uma ampla gama de valores de pH e diferentes enzimas até atingirem o local alvo [25].

A estabilidade do fármaco durante todo o trajecto também pode ser afectada por outros factores, como a possibilidade de estabelecimento de ligações específicas, a presença concomitante de alimentos, as secreções intestinais, o muco produzido pelo próprio organismo, bem como a eventual acção da microflora residente do tracto gastrointestinal, que pode afectar o desempenho do fármaco através da degradação da formulação [1,25].

Quadro 3: Possíveis abordagens na veiculação de fármacos para cólon, principais vantagens e desvantagens [3]

Variável base do sistema	Vantagens	Desvantagens
pH	<ul style="list-style-type: none"> Abordagem versátil que permite utilizar muitas combinações de polímeros combinados com um revestimento pH dependente. Método simples em comparação com outras abordagens. 	<ul style="list-style-type: none"> Difícil previsão do local da libertação do fármaco, devido às diferenças inter e intra-indivíduos, e semelhança de pH entre intestino delgado e o cólon. Limitação a nível da avaliação <i>in-vivo</i>.
Tempo	<ul style="list-style-type: none"> Versatilidade como os sistemas dependentes do pH. Método simples em comparação com outras abordagens. 	<ul style="list-style-type: none"> Alta variação ao nível da retenção gástrica, o que torna difícil prever o local da libertação do fármaco. Limitação a nível da avaliação <i>in-vivo</i>.
Pressão	<ul style="list-style-type: none"> Eliminação dos problemas de estabilidade de certos fármacos a nível da parte superior do tracto gastrointestinal. 	<ul style="list-style-type: none"> Efeito da comida a nível da pressão luminal. Falta de dados sobre a pressão luminal em diferentes regiões do tracto gastrointestinal e efeitos das variações inter e intra-indivíduos.
Microflora	<ul style="list-style-type: none"> Apresentam especificidade local. Grande quantidade de polissacarídeos disponíveis para utilização Eliminação dos problemas de estabilidade de certos fármacos a nível da parte superior do tracto gastrointestinal. 	<ul style="list-style-type: none"> A degradação enzimática de polissacarídeos é um processo lento por vezes lento. Possível alteração da microflora intestinal, devido a patologia.

Teoricamente, qualquer molécula pode ser um candidato para a veiculação de fármacos específicos para o cólon [1].

No entanto, apenas as moléculas que mostram uma baixa biodisponibilidade no estômago e intestino delgado, são adequadas na veiculação para o cólon. O ideal são os princípios activos que são úteis para os distúrbios associados a doença inflamatória intestinal, doença de Crohn (DC) e colite ulcerosa [1].

Tendo em conta as dificuldades particularmente relacionadas com a degradação dos fármacos, no percurso até ao cólon, as actuais estratégias de administração colónica incluem a encapsulação de fármacos em sistemas de micropartículas, que têm como principal função proteger o fármaco até ao local alvo e proporcionar uma adequada libertação [1]. As características destes sistemas serão abordadas nas seguintes secções.

5. Sistemas de administração colónica:

diferentes abordagens

Têm sido propostas diferentes abordagens para a criação de sistemas específicos de entrega de fármacos no cólon, mas a maioria delas tem por base uma das seguintes propriedades: (i) aproximação ao tempo de trânsito do intestino, (ii) diferentes condições fisiológicas do tracto gastrointestinal, (iii) especificidade para enzimas bacterianas localizadas no cólon, (iv) direccionamento de sistemas usando moléculas específicas do cólon [2].

O uso do tempo de trânsito intestinal para a veiculação colónica é limitado por variações inter-individuais significativas desse parâmetro, pela dependência do tempo de esvaziamento gástrico em casos patológicos, assim como por diferentes estados nutricionais e outros factores fisiológicos. Do mesmo modo, grandes variações no valor de pH no tracto gastrointestinal limitam a eficácia dos sistemas de administração com base em variações do pH.

Os polissacarídeos naturais têm sido amplamente utilizados para o desenvolvimento de formas farmacêuticas direccionadas para o cólon. A justificação para o uso destes compostos está relacionada com os altos níveis de polissacaridasas de origem microbiana presentes no cólon humano, com capacidade de degradar estes compostos de origem natural. Os polissacarídeos podem ser usados em múltiplas aplicações, entre as quais como constituintes dos núcleos dos fármacos incorporados em revestimentos fermentáveis, como matrizes biodegradáveis, ou ainda como conjugados fármaco-sacarídeos que actuam como pró- fármacos [3].

Estes compostos podem ser obtidos a partir de plantas, como é o caso da goma guar, da pectina e da inulina; ou ser extraídos de algas, como o alginato. Podem ainda ser de origem animal como é o caso do quitosano, e do sulfato de condroitina; ou ter origem microbiana, como o dextrano.

A microflora colónica, e especificamente as *bifidobactérias* e *bacteroides*, actua sobre estas moléculas transformando-as em sacarídeos simples.

Os sistemas de administração desenvolvidos com estes polímeros devem retardar ao máximo a libertação do fármaco no estômago e no intestino delgado e permitir a libertação completa do fármaco no cólon [5].

O facto de o sistema ser exposto a variadas condições gastrointestinais até ser entregue no cólon, coloca uma série de desafios no seu desenvolvimento, que serão abordados em seguida [3].

Existe uma necessidade de padronizar os modelos de avaliação *in vitro* relativos à avaliação da degradação bem como da utilização de modelos animais, isto para que seja possível comparar os resultados entre diferentes ensaios, permitindo também estabelecer correlações *in vitro* – *in vivo* [1,3,5].

5.1 Sistemas de libertação em função do pH

Existe um gradiente de pH no tracto gastrointestinal com valores a variar entre 1 e 2 no estômago, 6.6 na parte proximal do intestino para um pico de 7.5 na parte distal do intestino delgado. Por sua vez o pH do cólon apresenta oscilações de 5.7 a 7.0 dependendo do segmento do cólon em questão [2,10].

Estas oscilações entre o pH do estômago e do intestino delgado têm sido historicamente exploradas no desenvolvimento de sistemas de administração direccionados para o intestino delgado, por meio de revestimento entérico sensível ao pH. Estes revestimentos poliméricos não são afectados pelas condições ácidas do estômago, mas são ionizados e começam a dissolver-se na parte terminal do intestino delgado, devido aos valores de pH verificados, muito próximos dos valores verificados no cólon. Desta mesma forma, é possível aplicar este conceito para o direccionamento de fármacos para o cólon, através do uso de polímeros entéricos com um valor de pH relativamente alto para a dissolução, apesar desta dissolução na maior parte dos casos começar a ocorrer ainda no intestino delgado [2,25,26].

Os sistemas descritos como dependentes do pH do cólon são insolúveis num pH baixo, mas tornam-se cada vez mais solúveis com o aumento progressivo do pH [10].

Esses sistemas devem ser capazes de suportar o pH mais ácido do estômago e da parte proximal do intestino delgado e ainda ser capaz de se desintegrarem num pH neutro ou ligeiramente alcalino do íleo terminal e de preferência na junção ileocecal [3].

O grande problema associado a esta abordagem é o facto do pH gastrointestinal variar entre e em cada indivíduo. No que se refere a indivíduos em fase aguda de doença inflamatória intestinal, sabe-se que o pH do cólon apresenta valores significativamente mais baixos do que o normal.

Mesmo um sistema com perfil de libertação dependente do pH pode começar a dissolver-se na parte final do intestino delgado. Um longo tempo de retenção da formulação na junção íleo-cecal ou aumento do tempo de trânsito no cólon ascendente pode resultar em problemas a nível do revestimento da formulação.

Os polímeros dependentes do pH mais usados são os revestimentos de ácido metacrílico, vulgarmente conhecido como Eudragit[®] S, Eudragit[®] L [10].

Num estudo realizado utilizaram dois diferentes polímeros no revestimento de comprimidos contendo messalazina, Eudragit[®] L100-55 e Eudragit[®] S100, o revestimento em utilização foi estudado com diferentes proporções de cada polímero. Os resultados deste estudo, confirmaram que os perfis de libertação do fármaco, podem ser alterados através da manipulação da relação de Eudragit[®] L100-55 e Eudragit[®] S100 dentro da faixa de pH de 5.5 para 7.0 em que os polímeros individuais são solúveis. O desenvolvimento de revestimentos que consistem numa combinação de dois copolímeros poderá superar a questão da alta variabilidade do pH gastrointestinal inter-individual [3].

● Matrizes

Neste tipo de sistemas, as moléculas do fármaco encontram-se no interior de uma matriz polimérica, que inclui uma vasta rede de canalículos formados pelos excipientes utilizados [1, 27].

Alguns polissacarídeos têm sido utilizados na produção de matrizes. Sendo os mais utilizados a pectina, a goma guar e o quitosano. Estas matrizes apresentam a desvantagem de usarem polímeros de elevado carácter hidrofílico, o que limita a sua utilização como sistemas de administração para fármacos pouco solúveis. Outro inconveniente é o facto do elevado tempo de degradação enzimática da matriz. Tendo em conta esta situação, alguns investigadores têm trabalhado no sentido de reduzir a solubilidade dos polímeros [28,29].

● Hidrogeles

Hidrogeles sensíveis ao pH são compostos por redes tridimensionais com uma estrutura central composta por um polímero, água e ligações cruzadas. Quando presentes em meio aquoso aumentam o volume consideravelmente, sem que haja dissolução, em resposta a mudanças no pH externo.

Os hidrogeles sensíveis ao pH diminuem o volume num pH baixo e aumentam de volume a um pH maior. Os fármacos transportados por meio de hidrogeles sofrem uma diminuição do volume nos valores de pH verificados no estômago, não permitindo a libertação do fármaco, que será libertado quando os sistemas se movem em direcção a um pH mais elevado, em que os hidrogeles aumentam o volume libertando o fármaco [3].

O factor mais importante no desenvolvimento destes sistemas é a selecção do polissacarídeo mais adequado, sendo muito importante que se verifique uma proporção ideal de partes hidrofóbicas e hidrofílicas [25].

● Outros estudos

Foi realizado um estudo, com o objectivo de comparar dois polímeros sensíveis ao pH. Os polímeros em causa eram o Eudragit[®] S100 que tem sido utilizado com êxito quando em presença de pH alcalino e o Eudragit[®] FS30 que tem mostrado resultados mais específicos quando comparado com o outro polímero. O interesse desta comparação recai no facto de se saber que doentes com patologias a nível do cólon, podem registar uma diminuição do pH intestinal, o que vai afectar o comportamento de sistemas cuja acção se baseia nos valores de pH.

Foi seleccionado como fármaco o diclofenac de sódio. Demonstrou-se que Eudragit[®] 30D FS é o mais adequado como polímero entérico para o direccionamento de fármacos para a região do cólon.

Para minimizar o risco da formulação percorrer o cólon e ser excretada quase na forma intacta, os ensaios realizados devem assegurar a libertação do fármaco após um intervalo de tempo de três a quatro horas em pH alcalino.

Os ensaios *in vivo*, demonstraram que os dois polímeros se desintegraram de forma adequada no cólon, mas que o caso do Eudragit[®] FS30D essa desintegração só foi bem sucedida com a inclusão na formulação de um super-desintegrante, que ajuda à desintegração do comprimido na região do cólon, independente do pH em que o polímero se encontra. Este sistema pode ser facilmente fabricado em larga escala e num tempo razoável de processamento, usando técnicas de revestimento convencionais. Este tipo de revestimento com Eudragit[®] FS30D não requer solventes orgânicos para a sua preparação o que resulta numa redução do custo, menor poluição ambiental e redução do risco durante o processamento [30].

5.2 Sistemas de libertação em função da microflora do cólon

A presença de microflora do cólon tornou-se uma base para desenvolvimento de sistemas específicos para libertação colónica [10].

Um dos problemas associados a este tipo de sistemas é o facto da microflora colónica variar substancialmente inter e intra-individualmente, reflectindo a dieta do indivíduo, a idade, assim como patologias que o afectem. Todas estas variações têm de ser tidas em conta no desenvolvimento de formulações específicas para o cólon. Verifica-se também uma actividade proteolítica significativa no cólon, embora seja 20 a 60 vezes inferior comparativamente à observada no intestino delgado. Mesmo quando a actividade proteolítica é relativamente baixa, um fármaco pode permanecer muito mais tempo no cólon do que no intestino delgado, o que leva a um maior tempo de exposição a esta actividade [10,26].

Os pró-fármacos, que são compostos farmacologicamente inactivos derivados de uma molécula e que requerem a transformação espontânea ou enzimática *in vivo* para libertação do fármaco, são projectados para sofrer uma absorção e hidrólise mínima no tracto gastrointestinal superior, para que ocorra posteriormente uma hidrólise e redução enzimática no cólon, libertando a molécula activa. Um exemplo de um pró-fármaco segmentado para o cólon é o caso da sulfassalazina, que no cólon sofre um processo de redução bacteriana, dando origem a 5-ASA e sulfapiridina [3,10].

É necessário cuidado na extrapolação para humanos, de resultados obtidos sobre a degradação enzimática de polissacarídeos no cólon em animais. Um estudo realizado comparou as diferenças a nível da microflora residente em humanos, ratos, ratinhos e coelhos, e revelou algumas diferenças significativas na sua constituição. Tendo em conta destas diferenças, um polissacarídeo que seja degradado num destes animais usados no estudos, pode servir de indicador para a possível degradação ou não no cólon humano [5].

O cólon humano produz uma vasta gama de glicosidasas capazes de hidrolisar glicosídeos e polissacarídeos. Num estudo com glicosídeos de glucocorticóides testados em roedores, observou-se a hidrólise de uma parte do fármaco no intestino delgado, ou seja antes do que é previsto. No entanto, em roedores a actividade de glicosidasas bacterianas no intestino delgado é cerca de 100 vezes superior a verificada no homem. Tendo em conta estas condições, poder-se-ia especular que em humanos a entrega do fármaco, ocorreria da forma pretendida [10].

Neste momento existe uma grande quantidade de polissacarídeos em utilização neste campo, os quais serão abordados em seguida.

Os polissacarídeos são amplamente utilizados no desenvolvimento de sistemas de administração colónica, uma vez que estes polímeros existem na natureza em abundância, tendo por isso um baixo custo, são facilmente modificados tanto quimicamente como bioquimicamente, apresentam grande estabilidade, são seguros, não tóxicos e biodegradáveis. Estes incluem polissacarídeos obtidos de plantas, animais, algas ou de origem microbiana [1,3].

Os polissacarídeos têm sido utilizados nos referidos sistemas como materiais formadores de matrizes ou de revestimento. No caso das matrizes é geralmente necessária uma alta concentração de polímero. A sua utilização também tem sido descrita como aglutinantes em comprimidos. Neste caso, variando o tipo de polissacarídeo a sua concentração, haverá alterações na libertação do fármaco incluído no comprimido [31].

Quando em contacto com a microflora residente do cólon, os polissacarídeos são degradados, transformando-se em sacarídeos simples. Os sistemas veiculados com base em polissacarídeos têm como principal função a protecção dos fármacos de ambientes hostis do tracto gastrointestinal superior. Quando estes sistemas atingem o cólon, as ligações polissacarídicas são hidrolisadas libertando o fármaco [3].

● Amilose

A amilose é um polissacarídeo natural, extraída a partir do amido. No geral, a amilose (figura 5) constitui 20% de cada grânulo de amido sendo a fracção restante amilopectina. O amido, presente naturalmente na dieta tem a vantagem de ser seguro, e não apresentar toxicidade, além de uma grande disponibilidade na natureza. É resistente à α -amilase pancreática, mas é degradado pelas enzimas bacterianas do cólon [5].

No organismo, a ligação α -1, presente em ambos os compostos é hidrolisada por amilases, e a ligação 1,6 na amilopectina é hidrolisada por glucosidades.

Filmes mistos de amilose e etilcelulose têm sido testados como revestimento, e os resultados apresentados demonstram grande potencial na veiculação de fármacos para o cólon [5,25].

Milojevic et al. preparou e avaliou o potencial *in vitro* do um revestimento de amilose e etilcelulose num sistema específico para o cólon. Pellets de 5-aminossalicilato (5-ASA) foram revestidos com as substâncias referidas, tornando-os desta forma resistentes à acção gástrica e às enzimas intestinais. Nos estudos efectuados *in vitro*, após 4 horas, num fluido que simulava o ambiente colónico, e que continha bactérias cecais de origem humana, ocorreu a libertação.

Neste mesmo estudo, com a amilose como possível veículo de fármacos para o cólon, foi realizado utilizando pequenas partículas de glicose preparadas por extrusão e esferonização. Foram analisadas várias formulações, mas glicose e Avicel[®] PH101 (celulose microcristalina) em estudo foram sempre os mesmos, enquanto o aglutinante usado para retardar a libertação de glicose, foi alterado. Nos testes de dissolução (400 mL a $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$), foi usada água com ácido clorídrico (pH 1.2 durante 3h), e 0.2 M de tampão fosfato (pH 7.2 durante 9h), para simulação das condições gástricas e intestinais, respectivamente. Pellets contendo um núcleo de 20 % de monoestearato de glicerol, 50% de glicose e 30% de Avicel[®] PH101, revestidos com amilose-etilcelulose, apresentaram resistência gástrica no intestino delgado, ao mesmo tempo que apresentavam susceptibilidade ao ataque enzimático bacteriano nas condições simuladas

do cólon. Os resultados demonstrados neste estudo são que a libertação do fármaco é dependente da espessura da camada de revestimento em utilização [32].

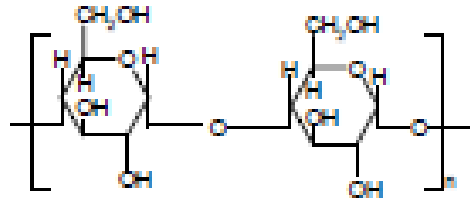


Figura 5: Estrutura química da amilose [5]

• Celulose

A celulose foi isolada pela primeira vez, há cerca de 150 anos atrás. Este polissacarídeo difere em alguns aspectos de outros produzidos por plantas, já que tem uma cadeia molecular muito extensa, constituída por repetições de unidades de celobiose, como demonstra a figura 6. É um polímero de elevado peso molecular, insolúvel em quase todos os solventes. Devido à sua insolubilidade, geralmente é convertido em vários derivados para ter um processamento mais fácil.

Alguns fungos podem segregar enzimas que catalisam reacções de oxidação da celulose, em compostos de menor peso molecular. Nestes casos, as peroxidases, podem oferecer peróxido de hidrogénio para o ataque aos radicais livres nas posições C2-C3 da celulose. Bactérias segregam endo e exoenzimas, algumas das quais formam complexos que agem em conjunto, degradando a celulose para formar hidratos de carbono que são usados como fonte de alimentação pelos microrganismos [5].

Já foi identificado um número importante de factores físicos que explicam as diferenças observadas no grau de degradação de diferentes componentes de fibras no cólon. A taxa de decomposição da celulose está relacionada com a forma e o tamanho das partículas de celulose que determina a área de superfície que está acessível às polissacaridases presentes no cólon. É por este motivo que a celulose pura, isolada a partir de madeira,

não é tão bem digerida comparativamente com as formas de celulose obtidas a partir de frutas e legumes. A digestão da celulose é um processo lento e o tempo de contacto entre o substrato e a enzima vão afectar a digestão. O processo de degradação da celulose geralmente é mais lento do que o tempo de trânsito intestinal [33].

Num estudo realizado, foram testados três éteres de celulose para o transporte de indometacina até ao cólon. Os derivados de celulose utilizados foram, metilcelulose, e dois tipos hidroxietilcelulose com diferentes pesos moleculares.

Os diferentes valores de degradação obtidos *in vitro*, são devidos as características hidrofílicas de cada composto e devido aos grupos substituintes presentes em cada derivado. Foi estudada a estabilidade dos conjugados num líquido que simulava as condições verificadas no estômago e intestino delgado, e o que se assistiu foi que a libertação era inferior a 2% no estômago, e mesmo sobre alguma degradação enzimática de enzimas presentes no intestino delgado a libertação do fármaco foi muito reduzida. Assistiu-se a uma libertação controlada do fármaco no cólon, através de um modelo de fermentação utilizado [34].

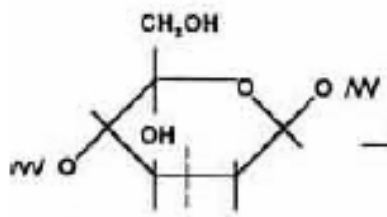


Figura 6: Estrutura química da celulose [5]

● Inulina

A inulina é um polissacarídeo natural armazenado em muitas plantas, como a cebola, alcachofra e chicória. Quimicamente consiste numa mistura de oligómeros e polímeros contendo duas a sessenta ou mais ligações β -2-1 a moléculas de D-frutose, como

mostrado na figura 7. A maioria destas cadeias de frutose tem uma molécula de glicose como molécula iniciadora. Este polissacarídeo não é hidrolisado pelas secreções endógenas do tracto digestivo humano, mas sim pelas *bifidobactérias* presentes no cólon [5,25].

A inulina tem sido incorporada com Eudragit[®] RS na preparação de filmes mistos que resistem à degradação no tracto gastrointestinal superior. Têm sido desenvolvidos vários hidrogeles de inulina para utilização em sistemas específicos para o cólon [5].

Maris et al. sintetizou e caracterizou um novo hidrogel, composto por metacrilato de inulina, copolimerizado com um agente aromático. Os geles foram estudados quanto ao seu equilíbrio dinâmico, equilíbrio de intumescimento e degradação *in vitro*. Os dados mais importantes revelam uma taxa de transporte de água bastante elevada que se traduziu numa anormal dinâmica do comportamento a nível do aumento de volume. Foi ainda observado que a digestão dos hidrogeles de inulina parece ser reforçada por um tempo de degradação prolongada, uma maior concentração de inulinase e um menor grau de substituição da inulina. Os hidrogeles apresentaram um aumento de volume superior após a degradação enzimática comparativamente com os valores obtidos antes da degradação, demonstrando desta forma o importante papel das enzimas presentes no cólon [35,36].

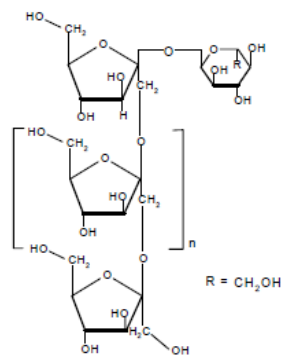


Figura 7: Estrutura química da inulina [5]

• Quitosano

O quitosano é um polissacarídeo catiónico de elevado peso molecular, obtido por desacetilação da quitina presente nas conchas de caranguejo e camarões. A sua estrutura química é apresentada na figura 8. Este polímero não é tóxico, é biocompatível, biodegradável e amplamente utilizado na indústria alimentar. É o polissacarídeo mais abundante a seguir à celulose. É susceptível a hidrólise glicosídica pelas enzimas microbianas presentes no cólon, porque possui ligações glicosídeas semelhantes a outros polissacarídeos. Possui na sua constituição elevada proporção de glucosamina. A solubilidade do quitosano é dependente do pH do meio, e reage prontamente em contacto com superfícies carregadas negativamente, incluindo polímeros e DNA [4,5,37].

Ao atingir o cólon é assimilado por microorganismos, e através de um processo de degradação enzimática, dá-se a quebra da estrutura central do composto, com uma consequente redução do peso molecular, assiste-se então a uma redução da resistência do quitosano com posterior libertação do fármaco [38].

A degradação no tracto gastrointestinal superior pode ser atenuada reticulando o quitosano com substâncias como os aldeídos. No entanto, esta reacção tem associado o problema da toxicidade dos aldeídos, o que limita a exploração desta solução, além de que a reticulação afecta a libertação do fármaco encapsulado [39].

Foi proposto um modelo para formular comprimidos de budesonida, revestidos com misturas aquosas contendo diferentes proporções de dois polissacarídeos com elevada solubilidade, o quitosano juntamente com sulfato de crondroitina.

No estudo os revestimentos com diferentes proporções foram sujeitos a diferentes tipos de testes, entre os quais foram testados em soluções que simulavam os ambientes típicos do estômago e do intestino delgado, para verificar a resistência do revestimento nestes ambientes.

Os resultados deste estudo, vieram revelar que revestimentos de 50:50 ou 40:60 de quitosano/Sulfato de condroitina mostraram-se mais eficazes na não libertação do fármaco em pH gástrico, do que comprimidos revestidos com Eudragit® L100-55.

Desta forma o estudo conclui que comprimidos revestidos com uma relação de 40:60 de quitosano e sulfato de condroitina, é eficaz na veiculação de budesonida para o cólon, o que permite uma terapia mais eficaz com este princípio activo [37].

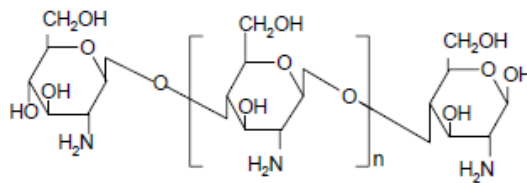


Figura 8: Estrutura química do quitosano [5]

• Pectina

A pectina é um polissacarídeo não linear, constituída por ácido galacturónico, ramnose, galactose e arabinose com um peso molecular entre 50.000 e 150.000 Da. Dependendo da planta de origem e da preparação realizada a pectina contém diferentes graus de grupos metil éster. É altamente solúvel em água, colocando alguns entraves no desenvolvimento de sistemas específicos para o cólon. A sua estrutura está representada na figura 9. Quando é usada em isolado, aumenta o seu volume ao contactar com os fluidos aquosos do tracto gastrointestinal o que provoca uma libertação do fármaco, por difusão. Deste modo, o fármaco não chega a atingir o cólon uma vez que já se difundiu previamente. O problema da alta solubilidade pode ser evitado usando diferentes tipos de pectina ou pela utilização de aditivos. Uma forma de ultrapassar este problema é utilizar em conjunto polímeros hidrofóbicos como a etilcelulose, que vai restringir a entrada de água, evitando o aumento de volume e conseqüente difusão do fármaco.

Outra forma de reduzir a solubilidade aquosa da pectina é aplicando o seu sal de cálcio, que é insolúvel, pelo que o polímero permanece intacto quando percorre o estômago e o intestino delgado, sendo apenas degradado pelas bactérias do cólon humano, especialmente por *bacteroides*. Em testes *in vitro*, comprimidos com uma matriz de pectinato de cálcio têm mostrado resultados promissores [3,5].

O grau de metilação tem uma influência essencial sobre as propriedades da pectina, especialmente sobre a sua solubilidade e os seus requisitos para a formação de um gel. O grau de metilação divide as pectinas em pectinas ricas em grupos metoxi, e pectina pobres em grupos metoxi. As pectinas ricas em grupos metoxi necessitam de um pH próximo a 3 para formar geles, enquanto as pectinas pobres em grupos metoxi necessitam de uma quantidade controlada de iões de cálcio para formar um gel [5].

No caso de fármacos insolúveis em água, o revestimento por compressão do núcleo tem-se revelado bastante adequado, sendo mais eficaz em comparação com as matrizes. No entanto, em testes *in vivo*, o desempenho de ambos os tipos de comprimidos para a entrega de insulina em cães pancreatectomizados, mostraram uma libertação inicial de insulina antes de atingir o alvo [3].

Num estudo realizado com o objectivo de chegar ao desenvolvimento de uma matriz com um revestimento entérico de pectina para entrega específica no cólon, o fármaco usado foi a teofilina, uma vez que é bem absorvida no intestino grosso. Foi seleccionado Eudragit[®] S100 com um pH limiar de 7, como material de revestimento, o qual deve ser capaz de suportar os valores de pH no estômago e no intestino delgado e apenas degradar-se em pH neutro ou ligeiramente alcalino, o que se verifica no íleo terminal. A solução de revestimento entérico foi preparado através da dissolução de Eudragit[®] S100 em acetona a 12%. Este solvente orgânico foi o escolhido pois permitiu a dissolução do polímero entérico, mantendo a integridade da pectina com o Emdex[®]. O revestimento dos comprimidos foi realizado por imersão na solução de revestimento, seguida da evaporação dos solventes num evaporador rotativo. O processo foi repetido até ser alcançada a quantidade desejada de revestimento. Verificou-se que o revestimento aplicado era dependente do pH, protegendo o fármaco da degradação na parte superior do tracto gastrointestinal. O nível de libertação de fármaco foi claramente influenciado pela presença de enzimas pectinolíticas no fluido gástrico simulado, quando não existiam estas enzimas a libertação ocorria em menor grau [21].

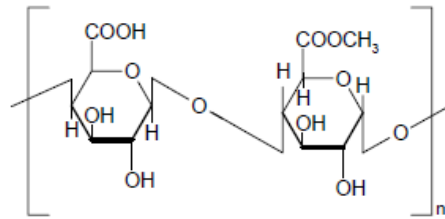


Figura 9: Estrutura química da pectina [5]

● Ciclodextrinas

Este polissacarídeo apresenta características distintas dos restantes, pois é cónico e possui um interior lipofílico e exterior hidrofílico [40].

As ciclodextrinas (CD) são oligossacarídeos cíclicos que consistem em 6-8 unidades de glicose ligadas, (figura 10), obtidos a partir da degradação enzimática do amido, por acção da glucosiltransferase. Podendo ser obtidas com 6, 7, ou 8 unidades de glicose, são conhecidas por α -CD, β -CD e γ -CD respectivamente. As CD são bastantes estáveis em meio alcalino, hidrolisando-se facilmente em meio fortemente ácido. São totalmente resistentes à β -amilase, mas susceptíveis de ataque pela α -amilase. Não sofrem hidrólise nem absorção no estômago e intestino delgado. No entanto, a vasta microflora do cólon especialmente, *bacteróides*, quebram as suas ligações, transformando-a em sacarídeos [3,40].

As CD formam complexos de inclusão com os fármacos, devido ao facto do interior da molécula ser relativamente lipofílico e o exterior hidrofílico. Um estudo em voluntários humanos saudáveis revelou que as CD- β , são degradadas numa extensão muito curta no intestino delgado, mas completamente digeridas no intestino grosso. Também está descrito que a maioria das colónias de bactérias isoladas em humanos tem capacidade para degradar as ciclodextrinas [5,40].

A formulação de pró-fármacos com ciclodextrinas pode fornecer uma forma versátil para o desenvolvimento de sistemas não apenas específicos no cólon, mas também sistemas de libertação controlada [5].

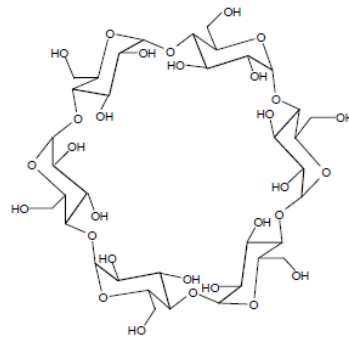


Figura 10: Estrutura química das ciclodextrinas [5]

• Curdlana

A Curdlana é um polímero neutro e linear, como se observa na sua estrutura química apresentada na figura 11. Possui boas propriedades reológicas, sendo usada como gelificante em alimentos. A principal característica deste polímero é que o processo de aquecimento por si só produz diferentes formas de gel de curdlana e com diferente qualidade de textura, estabilidade física e capacidade de retenção de água [5].

De facto geles de força variável são formados de acordo com a temperatura de aquecimento, tempo de tratamento térmico e concentração de curdlana. Sabe-se que é degradado pelas enzimas presentes no cólon mas é necessária mais investigação para verificar a sua adequada utilização em sistemas específicos para o cólon, sendo que tudo indica que possa vir a ser utilizado com grande sucesso [3].

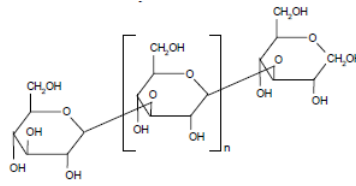


Figura 11: Estrutura química da curdlana [5]

• Alginato

O alginato (figura 12) é polissacarídeo derivado de algas marinhas, que gelifica facilmente na presença de um catião divalente, como o cálcio. Apresenta a vantagem de não ser tóxico, sendo bastante utilizado na produção de sistemas de liberação controlada.

Um sistema de revestimento de grânulos de alginato de cálcio com Aquacoat[®] que é um polímero pH-independente, seguido de um revestimento de Eudragit[®] L-30D, demonstrou ausência de liberação do fármaco em meio ácido, tendo a liberação sido desencadeada a pH alcalino e controlada pela espessura de Aquacoat[®]. Quando o alginato de cálcio começa a aumentar o seu volume, devido ao gradiente osmótico que leva à incorporação de água, excede a resistência do revestimento exterior, libertando desta a forma o fármaco para o exterior [5].

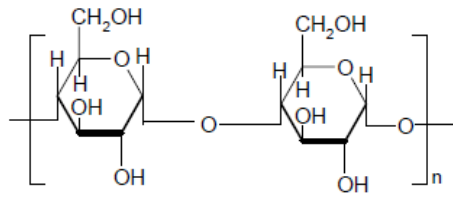


Figura 12: Estrutura química do alginato [5]

• Escleroglucano

O escleroglucano (Scgl), é um polissacarídeo ramificado que consiste numa cadeia principal de β -D glicopiranosil, (figura 13). É resistente à hidrólise na parte superior do tracto gastrointestinal e as soluções com este composto, mostram um comportamento interessante em termos de viscosidade, já que esta permanece constante mesmo em presença de força iónica elevada [5,41].

O Scgl é produzido por fungos e devido á sua peculiar propriedade reológica e à sua resistência à hidrólise, temperatura e electrólitos, tem varias aplicações industriais. O seu uso em desenho de compostos anti tumorais, antiviral e antimicrobiano tem sido investigado. Por estas razões devem ser investigadas todas as suas potencialidades, na veiculação de sistemas para distúrbios colónicos [5].

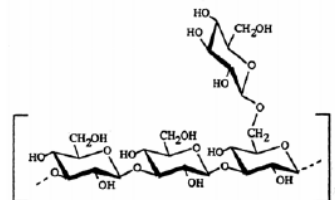


Figura 13: Estrutura química do escleroglucano [5]

● Dextranos

Os dextranos são compostos por cadeias lineares de moléculas de α -D glucose, unidas por ligações glicosídicas que podem sofrer hidrólise por dextranases, presentes no cólon. A sua estrutura química apresenta-se na figura 14 [3,5].

Os dextranos são obtidos a partir de microorganismos da família de *Lactobacillus*. Têm sido estudados dextranos de vários pesos moleculares nos sistemas específicos para o cólon. Vários pró-fármacos de ésteres de dextranos foram preparados e avaliados quanto à sua eficácia neste tipo de sistemas [5,25].

Hidrogeles de dextrano mostraram resultados promissores no transporte de fármacos para o cólon. Brondsted e Somonsen prepararam hidrogeles utilizando um reticulado de diidocianato que mostrou ser degradável *in vitro* e *in vivo* no ceco de ratos. No entanto estes promissores resultados foram contrariados quando se demonstrou que a degradação no cólon humano, através de um modelo de fermentação colónica, só se iniciou após 24h, o que causaria um grande atraso na libertação do fármaco. Os hidrogeles foram também estudados para administração colónica de hidrocortisona, tendo-se concluído que alterando a composição dos hidrogeles é possível controlar o grau de equilíbrio entre o aumento de volume do polímero e o seu processo de degradação. Nos ratos, os hidrogeles foram degradados no ceco e não no estômago. *In vitro* usando um modelo de fermentação colónica foram degradados, o que vem comprovar a presença de dextranases no cólon humano. A libertação de hidrocortisona ocorreu, assim, devido a presença de dextranases presentes no meio de libertação [42,43].

Cápsulas normais de dextrano parecem ser excelentes candidatos, para a entrega específica de fármacos no cólon, para quase todas as moléculas, pelo facto de a composição do polímero comandar o perfil de libertação pretendido [5].

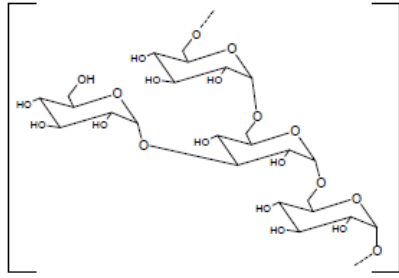


Figura 14: Estrutura química do dextrano [5]

● Goma Guar

A goma guar é um polissacarídeo natural, obtido a partir das sementes da planta da Índia, *Cyamopsis Tetragonolobus* ou *Cyamopsis Psoraloide*. Tem elevado peso molecular, sendo composto por unidades de manose e galactose na proporção 2:1 unidas entre si através de ligações glicosídicas, (figura 15) [5,3,44].

Em formulações farmacêuticas é usado como aglutinante, desintegrante, agente suspensor e estabilizador, sendo susceptível de degradação microbiana no cólon. É hidrofílica e altamente viscosa em solução, solúvel em água fria, hidratante, apresentando um comportamento pseudo-plástico [5,25,45].

A propriedade gelificante que possui retarda a libertação do fármaco a partir da forma farmacêutica quando faz parte da constituição da matriz. Para reduzir a sua capacidade de incorporação de água, tem-se proposto a utilização de glutaraldeído como reticulante, verificando-se no entanto que se forma um hidrogel incapaz de reter com sucesso fármacos solúveis em água [25].

Tem sido descrito que a goma guar pode ser usada como revestimento de compressão e como potencial material a usar na produção de transportadores de fármacos específicos para o cólon. Alguns estudos revelaram que é necessária uma espessura considerável de goma guar para que se verifique uma protecção eficaz do princípio activo no núcleo do comprimido, tendo-se verificado igualmente que um revestimento contendo apenas

gomar guar é um revestimento demasiado sensível. Justamente por isso a gomar guar é muitas vezes usada em conjunto com hidroxil propil celulose numa proporção de 80:20, demonstrando uma protecção adequada no tracto gastrointestinal superior [45].

Num outro estudo foram preparados comprimidos com uma matriz de goma guar, contendo o núcleo dexametasona e budesonida. Verificou-se uma maior libertação do fármaco quando os estudos foram realizados em fluidos que simulavam as condições no cólon, não se tendo verificado o mesmo em condições do intestino delgado e do estômago, onde se verificou uma pequena libertação do fármaco. A libertação de budesonida e dexametasona demonstrou ainda ser afectada pela concentração de galactomananase, havendo um aumento da libertação dos fármacos para concentrações superiores a 0.01 mg/ml.

Comprimidos contendo diferentes proporções de goma guar, a nível da matriz, foram testados para direccionamento colónico e verificou-se que a presença da goma modula a libertação do fármaco, limitando-a 2-4% na região gastrointestinal e aumentando-a substancialmente em condições que simulam as da região colónica, utilizando conteúdo fecal de ratos [39].

Esta goma tem sido utilizada na produção de microcápsula e matriz de um comprimido para fármacos insolúveis em água. Estes testes têm mostrado resultados promissores *in vitro* e *in vivo* [3].

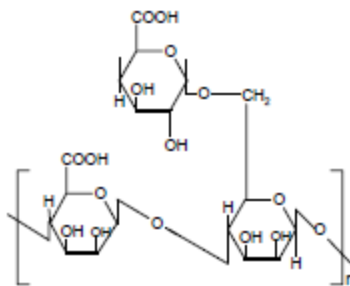


Figura 15: Estrutura química da goma guar [5]

• Goma de alfarroba

A goma de alfarroba (figura 16), tal como a goma guar, compõe-se de unidades de manose e galactose, mas desta vez numa proporção de 4:1 [32].

É um polímero ligeiramente solúvel em água fria e necessita de um aporte de calor para atingir a viscosidade máxima. Comprimidos para administração colónica de messalazina foram preparados com um revestimento de goma de alfarroba e quitosano, em proporções de 2:3, 3:2 e 4:1. Os estudos *in vitro* a pH 6.8 e material cecal de ratos, mostraram a seguinte libertação percentual acumulada de messalazina após 26 horas: 32.25 ± 0.56 ; 46.25 ± 0.96 ; 97.5 ± 0.26 , respectivamente. Estudos *in vivo* realizados em nove indivíduos do sexo masculino, mostraram que a libertação do fármaco só foi iniciada após 5 horas, que é o tempo de trânsito intestinal do intestino delgado [5,46].

Estes estudos vieram demonstrar que o revestimento de goma de alfarroba e quitosano, permitiu proteger o fármaco, não ocorrendo libertação no intestino delgado, registando-se uma libertação a nível colónico, o que revela a desejada susceptibilidade à acção bacteriana colónica [5,46].

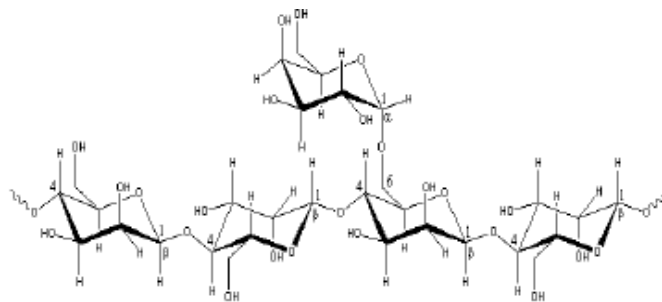


Figura 16: Estrutura química da goma de alfarroba [5]

● Glucomanano

O glucomanano é um polissacarídeo alto peso molecular, solúvel em água, extraído dos tubérculos da planta de *Konjac Amorphophallus*, cuja estrutura química é apresentada na figura 17 [5,47].

É constituído por unidades de manose e glucose, numa proporção de 1.6:1, tendo um baixo grau de grupos acetilo, que controla o grau de solubilidade [5].

É semelhante à pectina, não é hidrolisado por enzimas digestivas presentes nos humanos, e não é digerido na dieta. A sua utilização tem sido no âmbito da redução do risco do desenvolvimento de diabetes e de doenças cardíacas. Além desta, este extracto de planta tem um comportamento elástico forte e forma geles estáveis quando aquecido com compostos alcalinos [5,47].

Este polissacarídeo pode ser degradado facilmente em vários derivados, devido a sua biocompatibilidade e actividade biodegradável, pelo que pode ser muito promissora a sua aplicação em sistemas específicos para o cólon. No entanto, até a data tem tido uma utilização limitada em sistemas para o cólon [5].

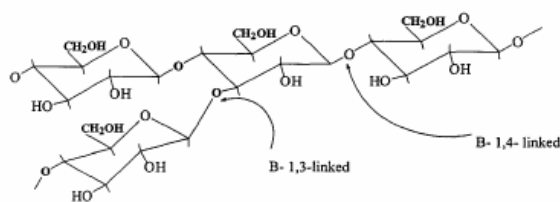


Figura 17: Estrutura química do glucomanano [5]

● Sulfato de condroitina

O sulfato de condroitina é um mucopolissacarídeo de origem animal, usado como substrato pelas bactérias do cólon, principalmente por *Bacteroides Thetaiotaomicron* e *B. ovatus*. A sua estrutura química está representada na figura 18.

Este polissacarídeo é facilmente solúvel em água, o que pode não proporcionar a protecção mais adequada aos fármacos, no entanto as ligações cruzadas de sulfato de condroitina torna menor a hidrofília, proporcionando maior protecção [5,16].

O sulfato de condroitina foi utilizado com 1,12 diaminododecano usando dicitlohexilcarbodimida como catalisador e formulado numa matriz com indometacina.

Observou-se que a libertação de indometacina ocorre em função da biodegradação induzida pelo conteúdo cecal. O prolongamento da incubação em PBS com conteúdo cecal de ratos aumentou a libertação de fármaco e, após duas horas, os níveis de indometacina libertados eram significativamente maiores do que aqueles obtidos nos controlos com PBS.

Neste mesmo estudo foi estabelecida uma correlação linear entre o grau de reticulação da formulação e a quantidade de fármaco libertado na presença do conteúdo cecal, o que sugere que a quantidade de fármaco que será libertado no cólon pode ser controlada ajustando a quantidade de sulfato de condroitina presente nas matrizes preparadas [48,49].

Num outro estudo foi estudada a viabilidade da formação de um complexo entre dois polissacarídeos, usando quitosano e sulfato de condroitina, para aplicação como matriz de um comprimido contendo indometacina.

A partir de outros estudos já se sabe que ao variar o polissacarídeo, assim como a sua concentração, serão obtidos diferentes valores para a libertação do fármaco em questão. Com base nestes dados usou-se uma combinação de sulfato de condroitina com quitosano, que num pH 6.5 sofre uma ligeira erosão, e suprime a libertação do fármaco na parte superior do tracto gastrointestinal controlando a sua libertação quando o sistema atinge o cólon. A degradação desta combinação de polissacarídeos foi testada

com a presença ou ausência de conteúdo cecal de ratos, e ainda testada com cultura de *Bacteroides ovatus*, devido a sua reconhecida actividade de degradação de polissacarídeos.

A capacidade dos polímeros para mantarem a integridade do sistema na parte superior, foi testada numa solução de 0.1M HCl durante duas horas, e durante três horas num tampão fosfato a pH 7.4. Verificou-se que a diminuição da taxa de libertação no cólon está directamente relacionada com a concentração dos polissacarídeos presentes na matriz, o que pode ser explicado pelo facto de maiores concentrações implicarem alterações a nível da dureza e porosidade dos comprimidos. Estas condições levam a uma diminuição da absorção de água para o comprimido, reduzindo assim a desintegração e o conseqüente processo de dissolução do fármaco.

Quando o sistema foi testado na presença de conteúdo cecal de ratos assim como a cultura de *Bacteroides ovatus*, assistiu-se a um aumento da libertação, o que reforça a ideia destes compostos serem degradados por compostos presentes no cólon.

Verificou-se também que a dissolução de indometacina (fármaco insolúvel em água) ocorre essencialmente por erosão superficial, sendo praticamente nula a dissolução por difusão.

Quando foi testada a dissolução na presença de conteúdo cecal dos ratos, observou-se melhor libertação comparando com a ausência do conteúdo cecal, indicando que os polissacarídeos são degradados por bactérias presentes no cólon.

Com bases nestes resultados pode-se concluir que estes dois polissacarídeos combinados ajudam a melhorar a entrega específica de fármacos no cólon [31].

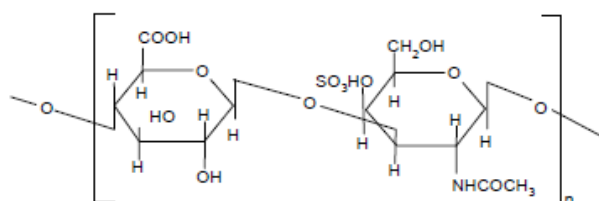


Figura 18: Estrutura química do sulfato de condroitina [5]

● Ácido hialurónico

O ácido hialurónico, cuja estrutura química se representa na figura 19, é um biopolímero de ocorrência natural que possui funções biológicas importantes em bactérias e animais incluindo os seres humanos. Pode ser encontrado em diversos tecidos animais, em especial no que preenche o espaço intercelular.

É encontrado em maiores concentrações no humor vítreo do olho e no líquido sinovial das articulações, e está frequentemente presente em tecidos humanos, o que contribui para a sua elevada biocompatibilidade, o que é sem dúvida uma das grandes vantagens deste polímero. Desde a sua descoberta no tecido humano que têm sido amplamente estudadas as suas aplicações em biomedicina.

A grande capacidade de ligação à água resulta do seu elevado peso molecular, sabendo-se que por cada grama de ácido hialurónico podem ser veiculados seis litros de água. Uma das características destas soluções é que são viscoelásticas e possuem um comportamento pseudoplástico, sendo a primeira uma propriedade muito importante nas suas aplicações como biomaterial [5].

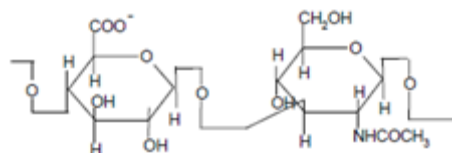


Figura 19: Estrutura química do ácido hialurónico [5]

● Angélica

Diels Angelica Sinensis, uma erva medicinal chinesa, tem sido utilizada para tratar doenças desde há milhares de anos. Existem algumas evidências de que o polissacarídeo extraído desta planta seja protector de fármacos a nível do tracto gastrointestinal, existindo estudos que revelam a sua utilização na veiculação de fármacos para o cólon.

Este polímero constitui-se essencialmente de glucose, mas na sua composição encontra-se também ácido glucorónico, galactose e arabinose. Num estudo em que se associou o polissacarídeo com dexametasona, estando o polissacarídeo num núcleo central, verificou-se que quando a dexametasona era administrada a ratos sem o polissacarídeo, quase nenhuma quantidade atingia o cólon, mas ao administrar o conjugado de dexametasona com angélica, observou-se que uma grande quantidade atingiu o cólon, grande parte dela entre as 6.0 e 10.5 horas após a administração [33,50].

O polímero tem ainda acção anti-inflamatória, actuando contra o stress oxidativo verificado na doença inflamatória intestinal. Todos estes factos vêm atestar a ideia de que este polissacarídeo terá um papel muito promissor na veiculação específica para o cólon [50].

5.3 Sistemas de libertação em função do tempo

Alguns estudos têm revelado que tanto as formulações compostas por apenas uma unidade como as que têm múltiplas unidades demoram entre 3-4 horas para passar pelo intestino delgado. Ou seja, o tempo de trânsito das formulações no intestino delgado não é afectado pelo tamanho da partícula, pela sua densidade, ou pela composição das refeições. O tempo necessário para que uma formulação deixe o estômago varia muito, pelo que não é possível prever com precisão o tempo necessário para que uma determinada formulação atinja o cólon [10,26].

No entanto, todos estes efeitos sobre a variação no tempo de trânsito intestinal podem ser minimizados através do uso de sistemas especificamente desenhados para providenciar algum controlo, evitando a libertação precoce do fármaco. Tais formulações passam pelo estômago e intestino delgado, e o fármaco é libertado apenas no final do intestino delgado ou no início do cólon [10].

Desta forma, este tipo de formulações também é dependente das mudanças do pH do tracto gastrointestinal. Observações efectuadas em pacientes afectados por doença de Crohn, colite ulcerosa ou síndrome do intestino irritável, têm permitido verificar que o tempo de trânsito intestinal nestes casos é mais rápido do que o normal. Com base nestas observações considera-se que formulações dependentes do tempo de trânsito gastrointestinal não são as mais adequadas para o tratamento de patologias associadas ao cólon [10,26].

Têm sido testadas combinações de hidroxil propil metilcelulose (HPMC) e polímeros hidrofóbicos, em revestimento de fármacos, do qual a libertação ocorre a partir do núcleo, após um intervalo de tempo. *In vivo* verificou-se que a libertação destes mesmos comprimidos ocorreu no cólon, após cerca de 5.5 horas. Este intervalo de tempo pode ser ajustado através da mudança na camada de espessura do polímero.

HPMC e hidroxipropilcelulose (HPC) foram usadas como polímeros modificadores de absorção em algumas formulações. Um estudo *in vivo*, refere que comprimidos com um núcleo revestidos com HPMC e um polímero entérico (Eudragit[®] L30D) permitem uma absorção retardada do fármaco que ocorre cerca de 7 horas após a administração para os comprimidos com maior espessura de polímero [10].

A primeira formulação introduzida com este princípio foi o Pulsincap[®], que liberta a sua carga após um tempo pré-programado. O Pulsincap[®] apresentava um desenho um pouco complexo, consistindo numa cápsula impermeável que contém o fármaco, cuja extremidade aberta está tapada com um tampão de hidrogel.

Em contacto com os fluidos gastrointestinais, o tampão aumenta de volume e depois de um intervalo de tempo definido ejecta o corpo da cápsula, o que permite a libertação do fármaco. O intervalo de tempo é controlado pelo tamanho e composição do tampão.

Num estudo em que se combinam um polímero de libertação dependente de pH Eudragit[®] S100 e Eudragit[®] L100 e outro dependente do tempo (Eudragit[®] RS) para

entrega específica de indometacina no cólon, observou-se *in vitro* que a libertação do fármaco pode ser controlada através da adição de Eudragit® RS.

Mastiholimath et al., 2004 investigou um sistema pulsátil pH e tempo-dependente direccionados para a entrega específica de teofilina no cólon. O projecto básico consistia numa cápsula de gelatina insolúvel, repleta de Eudragit® e microcápsulas de teofilina, selado com um tampão de hidrogel. Todo o sistema possuía um revestimento entérico, para que a variabilidade no tempo de esvaziamento gástrica não fosse um obstáculo. Os estudos *in vitro* de libertação do sistema pulsátil revelaram que o aumento do conteúdo de Eudragit® resultou numa libertação retardada de teofilina a partir das microcápsulas [51].

Foi desenvolvido um sistema oral para a entrega de fármacos no cólon de 5-aminossalicilato (5-ASA) usando uma combinação de abordagens dependentes do pH, do tempo e da degradação enzimática.

As partículas foram revestidas com 3 camadas funcionais: a camada exterior de Eudragit® 30D-55 que protege da degradação em presença de fluídos do tracto gastrointestinal, a camada intermédia de etilcelulose para inibir a libertação do fármaco na passagem pelo intestino delgado, e a camada mais interna de pectina, para evitar o aumento de volume precoce e a consequente degradação enzimática. Observou-se *in vitro* que a libertação precoce de grânulos foi evitada, quando testada numa solução de HCl a 0.1M, enquanto que numa solução tampão com um pH de 6.8 a libertação foi adiada por 3 a 4 horas [52].

5.4 Sistemas de libertação em função da pressão

A pressão gerada pela contracção muscular da parede intestinal varia de intensidade e duração ao longo do tracto gastrointestinal, sendo o cólon onde se verifica uma maior pressão devido ao processo de formação das fezes, o que pode ser utilizado para modular a libertação de fármacos [3,10,26].

O desenvolvimento de sistemas de administração que se baseiam nestas diferenças de pressão, permite resistir às pressões do trato gastrointestinal, ocorrendo ruptura como resposta ao aumento de pressão no cólon. Em sujeitos saudáveis a pressão do cólon pode ser tão elevada que quase atinge 110 mmHg para uma duração de 14 segundos [3].

Cápsulas produzidas com etilcelulose e, portanto, insolúveis em água demonstraram que a resistência a diferentes pressões pode alcançar-se, alterando o tamanho da cápsula e espessura da sua parede. No entanto, não houve resultados conclusivos quanto aos valores necessários para provocar uma ruptura no cólon, questionando-se qual a real influência de alimentos no estômago [53,54].

Takaya et al., descreveu que o revestimento de cápsulas de gelatina utilizando etilcelulose pode modular a libertação colónica em função da espessura do revestimento, o que foi observado tanto em cães Beagle como em voluntários humanos [53].

6. Casos concretos

Em alguns casos tem-se observado a utilização concomitante de várias abordagens referidas anteriormente.

Também se começa a observar a utilização de novas tecnologias, como sistemas multipartículas, microesferas, e lipossomas, partículas microencapsuladas [1].

6.1 Sistemas multiparticulados

Os sistemas multiparticulados aparecem em alternativa aos monolíticos, ditos convencionais, em que todo o sistema se compõe de uma única unidade.

Uma vez alcançada a região do cólon, a libertação do fármaco é desencadeada devido a degradação do sistema. Os sistemas compostos por uma forma de dosagem única, são baseados em polímeros sensíveis ao pH, não sendo os mais adequados para a veiculação de fármacos para o cólon. Estes novos sistemas apresentam várias vantagens comparativamente com os ditos sistemas convencionais, têm menos efeitos adversos, é mais fácil de prever o esvaziamento gástrico, entre outros [1,55].

Este tipo de sistemas permite veicular moléculas instáveis de forma estável, podem ser veiculados no mesmo sistema princípios activos incompatíveis, além destas vantagens a nível da veiculação, existem outras vantagens deste tipo de sistemas. A utilização deste tipo de sistemas diminui directamente a irritação da mucosa provocada por alguns fármacos, a possibilidade de mascarar maus odores e sabores, e ainda a possibilidade de conseguir uma libertação controlada e sustentada do princípio activo. Sabe-se que uma libertação controlada é possível ocorrer a partir de formas farmacêuticas tipo comprimido, cápsula, mas com sistemas multiparticulados consegue-se uma

distribuição mais homogénea do princípio activo, além de que o tempo de trânsito intestinal deste sistema é menos influenciável pela alimentação [1,55,56].

O desenho deste tipo de sistemas para direccionamento colónico, combina geralmente as abordagens de materiais sensíveis ao pH, ao tempo, e à microflora intestinal [1].

Uma formulação de microesferas para entrega específica de budesonida na região do cólon foi desenhada com um polímero que liberta em função do pH. As microesferas compõem-se de acetobutirato de celulose, que controla a libertação do fármaco, tendo sido revestidas com Eudragit® S, que é um polímero entérico, o que impede a libertação do fármaco num pH abaixo de 7. Uma maior ou menor libertação está dependente da concentração do polímero na formulação.

Um outro sistema multiparticulado tem por base micropartículas com quitosano. O sistema consiste num reservatório do fármaco, quitosano, e uma camada que regula a sua libertação, constituída por um polímero não solúvel em água e quitosano.

Também está reportada a aplicação de microesferas de quitosano revestida com um polímero pH sensível para direccionamento de metronidazol para o cólon. A libertação do fármaco foi a esperada após a dissolução do revestimento entérico e a degradação do quitosano no cólon por meio das polissacaridases presentes.

Durante o trajecto da formulação na parte superior do tracto gastrointestinal, ocorre a dissolução do revestimento entérico. As microesferas de quitosano são expostas, e ao atingir o cólon ocorre um aumento de volume do polímero e em conjunto com a acção das polissacaridases presentes no cólon, verifica-se a libertação do fármaco.

É necessário que estas microesferas tenham uma óptima esfericidade e uma boa superfície de textura para que a libertação ocorra como pretendido.

Este sistema foi testado em ratos, verificando-se que a presença do conteúdo cecal do rato estimula a libertação do fármaco. Após 12 horas, verificou-se a libertação de quase 98% do conteúdo das microesferas. Os resultados sugerem então que as enzimas presentes no cólon, representam um papel preponderante na libertação dos fármacos [55].

6.2 Revestimento com pectina e galactomanano

Este tipo de sistema consiste numa cápsula revestida com dois polissacarídeos específicos, ou seja pectina e galactomanano. Quando utilizadas em isolado, nem a pectina nem o galactomanano podem ser utilizados como um transportador de fármacos, devido à sua alta solubilidade.

No entanto, a solubilidade do revestimento produzido a partir da mistura dos dois polissacarídeos depende essencialmente da solução usada no revestimento.

O revestimento com uma solução aquosa $\text{pH} > 7$ de pectina e galactomanano mostrou-se forte, elástica e insolúvel numa simulação dos fluidos gástricos e intestinais. Desta forma, o revestimento pode evitar que o fármaco seja libertado no tracto gastrointestinal superior. De outra forma o revestimento da solução idêntica com $\text{pH} < 7$ foi completamente dissolvido nos fluidos intestinais.

Mesmo que este mecanismo necessite de ser ainda mais investigado, foi proposto que um complexo formado entre os dois polissacarídeos pode ser formado num $\text{pH} > 7$, devido a ligações de hidrogénio, a forças hidrofóbicas e à formação de uma zona de interjunção de mudanças conformacionais num pH elevado.

Foi demonstrado que a taxa de degradação pelas enzimas, e conseqüente libertação do fármaco, depende da proporção entre pectina e galactomanano.

Comparando estas combinações com uma associação de pectina e etilcelulose ou de amilose, os resultados obtidos neste estudo mostraram que esta tecnologia apresenta uma vantagem, porque têm uma degradação *in vivo* mais rápida e são facilmente degradáveis pela microflora do cólon [3].

6.3 Sistemas com microesponjas

As microesponjas são microesferas poliméricas porosas com uma grande quantidade de vasos comunicantes dentro de uma estrutura porosa [57].

Anteriormente eram apenas usadas para aplicação tópica, mas recentemente passaram a ser usadas em formulações para administração oral [3].

Orlu et al. apresentou umas modificações nas microesponjas tornando-as um sistema com grande potencial para direccionamento para o cólon. A compressibilidade apresentada por estes compostos é única, oferece uma maneira alternativa de produzir mecanicamente comprimidos fortes, devido à deformação plástica da esponja como estrutura.

Microesponjas contendo flurbiprofeno foram subsequentemente incluídas em comprimidos. Os comprimidos continham ainda pectina e HPMC (rácio 80/20) como revestimento ou como material formador de matriz. Em qualquer dos casos os polímeros foram digeridos pela microflora do cólon, e evitaram a libertação precoce no intestino delgado, assim como uma libertação no cólon de forma mais uniforme. A rápida e adequada libertação a partir deste tipo de formulações é atribuída a estrutura altamente porosa das microesponjas [58].

6.4 Tecnologia Codes

Esta tecnologia exclusiva para a entrega de fármacos no cólon, foi desenvolvida para ultrapassar os problemas associados aos sistemas pH-dependentes ou tempo-dependentes. O desenho da tecnologia CODES explora as vantagens de certos polissacarídeos que só são degradados por bactérias disponíveis no cólon. O polissacarídeo é associado a um revestimento com um outro polímero sensível ao pH.

Uma vez que a degradação do polissacarídeo ocorre apenas no cólon, este sistema exhibe uma capacidade, consistente e confiável, de libertar o fármaco apenas se libertar quando atinge esta zona do tracto digestivo.

Uma configuração típica deste sistema consiste num núcleo revestido com três camadas de polímero. A primeira camada de revestimento, camada mais interna, é um polímero solúvel em ácido (Eudragit® E), o revestimento externo é entérico e a camada intermédia é um polímero (HPMC) que funciona como barreira entre o revestimento mais interno e o mais externo para evitar qualquer possível interacção entre estes dois polímeros que possuem cargas opostas, demonstrado na figura 17.

O núcleo do comprimido é composto pela molécula activa, um ou mais polissacarídeos e outros excipientes desejáveis.

Os polissacarídeos, degradáveis por enterobactérias para gerar o ácido orgânico, incluem o manitol ou maltose. Durante o percurso pelo tracto gastrointestinal, o sistema permanece intacto no estômago devido à protecção como polímero entérico, mas quando atinge o intestino delgado, onde o pH é superior a 6 o revestimento entérico vai dissolver-se.

Após a entrada no cólon, o polissacarídeo dentro do núcleo do comprimido irá dissolver-se e difundir através do revestimento. As bactérias presentes no cólon degradam enzimaticamente o polissacarídeo em ácido orgânico. Isto diminui o pH em torno do sistema, sendo suficiente para afectar a dissolução do ácido solúvel e consequente libertação do fármaco [3].

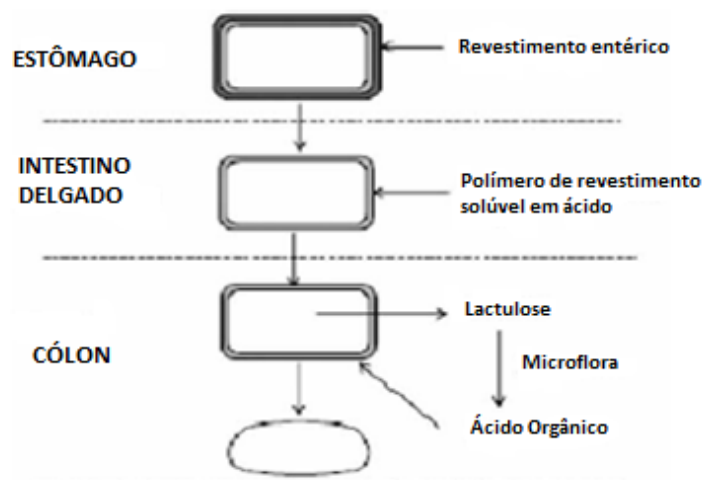


Figura 20: Tecnologia codes [3].

7. Conclusão

A grande vantagem da veiculação de fármacos para o cólon na terapêutica de doenças colónicas é a redução da incidência de efeitos adversos, uma vez que é necessária uma menor dose de fármaco, pois estes sistemas apresentam uma utilização mais eficaz.

Para atingir uma veiculação bem sucedida a formulação necessita de uma protecção eficaz do fármaco, para evitar uma libertação e absorção precoce, bem como proporcionar protecção do ambiente hostil verificado na parte superior do tracto gastrointestinal.

De entre as possíveis abordagens, as mais afectadas pela alta variabilidade individual, são menos específicas, o que leva a um menor investimento em termos de investigação. Assim, têm tido mais ênfase as abordagens baseadas na libertação do fármaco por acção da microflora presente no cólon, já que é cada vez mais um factor reconhecido como o mais independente da variabilidade intra-indivíduos e intra-espécies.

De acordo com a abordagem efectuada neste trabalho, é perceptível que os polissacarídeos naturais são os agentes mais promissores para o desenvolvimento de sistemas especificamente direccionados para o cólon. A sua utilização deve-se ao facto de não serem tóxicos, à possibilidade de alterar facilmente as suas características químicas, à susceptibilidade de degradação colónica e ainda ao facto de alguns polissacarídeos já serem aprovados pela FDA.

A formulação ideal passa por um biomaterial a partir do qual se obtenha um filme não permeável mas facilmente degradado no cólon. O objectivo é conseguir curar os doentes e não apenas atingir a remissão dos casos.

8. Bibliografia

1. S. Wasnik, P. Parmar, 2011. The design of colon-specific drug delivery system and different approaches to treat colon disease. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6: 167-177.
2. A. K. Philip, B. Philip, 2010. Colon targeted drug delivery systems: a review on primary and novel approaches. *Oman Medical Journal*, 25.
3. P. Kumar, B. Mishra, 2008. Colon target drug delivery systems – an overview. *Current Drug Delivery*, 5: 186-198.
4. F. Hirayama, K. Uekama. Colonic delivery. Faculty of pharmaceutical sciences sojo university, kumamoto japan. 2.5.8: 684-696.
5. A. Jain, Y. Gupta, S. K. Jain, 2007. Perspective of biodegradable natural polysaccharides for site-specific drug delivery to the colon. *Journal Pharm Pharmaceut Sci*, 10 (1): 86-128.
6. J. Scholmerich, H. Herfarth, G. Rogler, 2010. Ulcerative colitis and Crohn's disease, an overview of the diseases and their treatment. *FALK FOUNDATION e.v*, 4-72.
7. G. J. Tortora. *Corpo humano, fundamentos de anatomia e fisiologia*. Artmed editora, Porto Alegre 2000, 4ª edição, cap. 19: 433-454.
8. R. R. Seeley, T. D. Stephens, P. Tate. *Anatomia & Fisiologia*, sexta edição, Lusociência, Cap 24: 874-915
9. O. Kanauchi, Y. Matsumoto, M. Matsumura, M. Fukuoka, T. Bamba, 2005. The beneficial effects of microflora, especially obligate anaerobes, and their products on the colonic environment in inflammatory bowel disease. *Current Pharmaceutical Design* 11: 1047-1053.

10. V.V. Rajguru, P.D. Gaikwad, V.H. Bankar, S.P. Pawar, 2011. An overview on colonic drug delivery system. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 6: 197-204.
11. J.Panés, F. Gomollón, C. Taxonera, J. Hinojosa, J.Clofent, P.Nos, 2007. Crohn's disease, a review of current treatment with a focus on biologics. *Drugs* 67(17): 2511-2537.
12. M. Ellis, A. Cole, 2011. Crohn's disease in children and adolescents. *Gastrointestinal Nursing*, 9: 41-46.
13. E. Cronin, 2010. Colorectal nursing, prednisolone in the management of patients with crohn's disease. *British Journal of Nursing*, 19: 1333-1336.
14. Review, 2010. Tumor necrosis factor (TNF) inhibitors are an effective option in the management of crohn's disease. *Drugs Ther Perspect*, 26.
15. R. B. Sartor, 2006. Mechanisms of disease: pathogenesis of crohn's disease and ulcerative colitis. *Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology*, 7: 390-407.
16. A. Lamprecht, 2003. Multiparticulate systems in the treatment of inflammatory bowel disease. *Current Drug Targets – Inflammation & Allergy*, 2: 137-144.
17. F. L. Wolters, M. G. V. M. Russel, R. W Stockbrugger, 2004. Systematic review: has disease outcome in crohn's disease changed during the last four decades. *Aliment Pharmacol Ther*, 20: 483-496.
18. J. Chan, 2008. The pharmacologic management of crohn's disease. *Formulary Journal*, 43: 93-104.
19. Y. Meissner, A. Lamprecht, 2008. Alternative drug delivery approaches for the therapy of inflammatory bowel disease. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 8: 2878-2891.

20. R. M. Penner, K. L. Madsen, 2005. Postoperative crohn's disease. *Inflamm bowel Dis*, 11: 765-777.
21. P. Mura, F. Maestrelli, M. Cirri, M. L. Rodriguez, A. Alvarez, 2003. Development of enteric-coated pectin-based matrix tablets for colonic delivery of theophylline. *Journal of Drug Targeting*, 11(6): 365-371.
22. J. Wehkamp, E. F. Stange, 2006. A new look at crohn's disease, a breakdown of the mucosal antibacterial defense. *New York Academy of Sciences*, 1072: 321-333.
23. M. Lowenberg, M. Pepeelenbosch, D. Hommes, 2006. Biological therapy in the management of recent-onset crohn's disease. *Drugs*, 66 (11): 1431-1439.
24. V.M. Hubbard, K. Cadwell, 2011. Viruses, autophagy genes, and crohn's disease. *Journal Viruses*, 3: 1281-1311.
25. R. Kumar, M.B. Patil, S.R. Patil, M.S. Paschapur, 2009. Polysaccharides based colon specific drug delivery: a review. *International Journal of PharmaTech Research*, 1: 334-346.
26. J. F. Pinto, 2010. Site-specific drug delivery systems within the gastro-intestinal tract: from the mouth to the colon. *International Journal of Pharmaceutics*, 395: 44-52.
27. L. N. Prista, A. C. Alves, R. Morgado. *Tecnologia farmacêutica*, III volume. Fundação Calouste Gulbenkian, 4ª edição: 2041-2044.
28. P. Barata, R. Oliveira, S. Delfim, 2007. Veiculação de fármacos para o cólon, *Revista da Faculdade de Ciências da Saúde*, 4: 134-143.

29. M. Lyra, J. Soares, O. Viana, P. Neto, 2007. Sistemas matriciais hidrofílicos e mucoadesivos para libertação controlada de fármacos. *Latin American Journal of Pharmacy* 26(5): 784-793.
30. S. J. Kshirsagar, M. R. Bhalekar, R. R. Umap, 2009. In vitro in vivo comparison of two pH sensitive eudragit polymers for colon specific drug delivery. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Reserch*, 1(4): 61-70.
31. J. R. Amrutkar, S. G. Gattani, 2009. Chitosan-chondroitin sulfate based matrix tablets for colon specific delivery of indomethacin. *American Association of Pharmaceutical Scientists*, 10: 670-677.
32. T. Coviello, F. Alhaique, A. Dorigo, P. Matricardi, M. Grassi, 2007. Two galactomannans and scleroglucan as matrices for drug delivery: preparation and release studies. *Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 66: 200-209.
33. K. S. Pawar, S.P. Pawar, V. A. Patel, 2011. Microbial polysaccharides in colon specific drug delivery. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 6: 188-196.
34. X. Cai, L. Yang, L. Zhang, Q. Wu, 2009. Synthesis and anaerobic biodegradation of indomethacin-conjugated cellulose ethers used for colon-specific drug delivery. *Biosource Technology*, 100(2009): 4164-4170.
35. Vervoort, L. Rombaut, P. Van den Mooter, G. Augustijns, P. Kinget, 1998. Inulin hydrogels, Dynamic and equilibrium swelling properties. *International Journal of Pharmaceutical*, 172: 127-135.

36. Vervoort, L. Rombaut, P. Van den Mooter, G. Augustijns, P. Kinget, 1998. Inulin hydrogels, *In vitro* degradation study, 172: 137-145. *International Journal of Pharmaceutical*, 172: 127-135.
37. G. Kaur, V. Rana, S. Jain, A. K. Tikwary, 2010. Colon delivery of budesonide: evaluation of chitosan-chondroitin sulfate interpolymer complex. *American Association of Pharmaceutical Scientists*, 11(1): 36-45.
38. M. R. Saboktakin, R. Tabatabaie, A. Maharramov, M. A. Ramazanov, 2010. Synthesis and characterization of superparamagnetic chitosan-dextran sulfate hydrogels as nano carriers for colo-specific drug delivery. *Carbohydrate Polymers*, 81: 372-376.
39. M. K. Chourasia, S. K. Jain, 2004. Polysaccharides for colon targeted drug delivery. *Drug Delivery*, 11: 129-148.
40. F. Veiga, C. Pecorelli, L. Ribeiro. *As ciclodextrinas em tecnologia farmacêutica*. Minerva Coimbra : 13-21.
41. T. Coviello, F. Alhaique, C. Parisi, P. Matricardi, G. Bocchinfuso, M. Grassi, 2005. A new polysaccharidic gel matrix for drug delivery: preparation and mechanical properties. *Journal of Controlled Release*, 102: 643-656.
42. Brondsted, H. Hovgaard, L. Simonsen, 1995. Dextran hydrogels for colon-specific drug delivery, *in vitro* and *in vivo* degradation. *Pharmaceutical Scientists*, 5: 60-60.
43. Brondsted, H. Hovgaard, L. Simonsen, 1995. Dextran hydrogels for colon-specific drug delivery, comparative release mechanism of hydrocortisone and prednisolone phosphate. *Pharmaceutical Scientists*, 5: 65-69.

44. D.R. Picout, S.B. Ross-Murphy, K. Jumel, S.E. Harding, 2002. Pressure cell assisted solution characterization of polysaccharides. 2. Locust bean gum and tara gum. American Chemical Society.
45. F. M. Hashem, D. S. Shaker, M. Nasr, I. E. Saad, R. Ragaey, 2011. Guarm gum and hydroxyl propyl methylcellulose compressed coated tablets for colonic drug delivery: in vitro and in vivo evaluation in healthy human volunteers. *Drug Discoveries & Therapeutics*, 5(2): 90-95.
46. Raghavan, C.V., Muthulingam, C. Leno Jenita, T.K. Tavi, 2002. Na in vitro and in vivo investigation into the suitability of bacterially triggered delivery system for colon targeting. *International Journal of Pharmaceutical*, 50: 892-895.
47. M. Alonso-Sande, D. Teijeiro-Osorio, C. Remuñán-López, M. J. Alonso, 2009. Glucomannan, a promising polysaccharide for biopharmaceutical purposes. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 72: 453-462.
48. A. Rubinstein, D. Nakar, A. Sintov, 1992. A colonic drug delivery, enhanced release of indomethacin from cross linked chondroitin matrix in rat caecal content. *Pharmaceutical Research*, 9: 276-278.
49. A. Rubinstein, D. Nakar, A. Sintov, 1992. A chondroitin sulphate, a potential prodrug for colon-specific drug delivery. *International Journal Pharmacy*, 84: 141-150.
50. S. Zhou, B. Zhang, X. Liu, Z. Teng, M. Huan, T. Yang, Z. Yang, M. Jia, Q. Mei, 2009. A new natural angelica polysaccharide based colon-specific drug delivery System. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 98: 4756-4768.

51. V.S Mastiholimath, P. M. Dandagi, S.Jain, A.P. Gadad, A.R. Kulkarnim, 2007. Time and pH dependent colon specific, pulsatile delivery of theophylline for nocturnal asthma, *International Journal of Pharmaceutics*, 328: 49-56.
52. C. Fude, Y. Lei, J. Jei, 2007. Preparation and in vitro evaluation of pH, time based and enzyme-degradable pellets for colonic delivery. *Drug Delivery Ind. Pharmacy*, 33(9): 999-1007.
53. T. Takaya, C. Ikeda, N. Imagawa, K. Niwa, K. Takada, 1995. Developmente of a colon delivery capsule and the pharmacological activity of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF) in beagle dogs. *Journal of Pharmacy and Pharmacoloy*, 47: 474-478.
54. M. Muraoka, G. Kimura, H. Zhaopeng, K. Takada, 1998. Ulcerative colits—colon delivery of 5-aminosalicylic acid, *Journal of Pharmaceutical and Pharmacoloy*, 56 (3): 788-794.
55. M.K. Chourasia, S.K. Jain, 2004. Design and development of multiparticulate system for targeted drug delivery to colon. *Drug Delivery*, 11: 201-207.
56. J. L. Jato. *Tecnología farmacéutica, Volume I: aspectos fundamentales de los sistemas farmacêuticos y operaciones básicas*. Editorial sintesis.
57. V. Jain, R. Singh, 2011. Design and characterization of colon-specific drug delivery system containing paracetamol microsponges. *Archives of Pharmcal Research*, 34: 733-740.

58. M. Orlu, E. Cevher, A. Araman, 2006. Design and evaluation of colon specific drug delivery system containing flurbiprofen microsponges. *International Journal of Pharmaceutics*, 318: 103-117.