



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 1101627-2 A2

(22) Data do Depósito: 15/04/2011

(43) Data da Publicação: 31/07/2018



(54) Título: FILMES MULTICAMADAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE SUBSTÂNCIAS VOLÁTEIS ADSORVIDAS EM UM SUPORTE SÓLIDO E USO

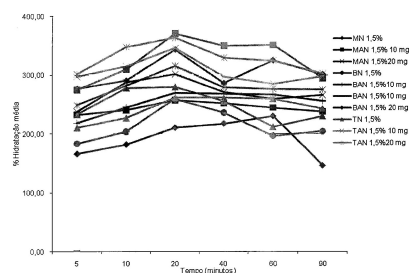
(51) Int. Cl.: A61K 47/36; A61K 31/722; A61K 31/045; A61P 33/02

(73) Titular(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

(72) Inventor(es): ANDRÉ AUGUSTO GOMES FARACO; TATIANA GOMES RIBEIRO; RACHEL OLIVEIRA CASTILHO

(85) Data do Início da Fase Nacional: 15/04/2011

(57) Resumo: FILMES MULTICAMADAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE SUBSTÂNCIAS VOLÁTEIS ADSORVIDAS EM UM SUPORTE SÓLIDO E USO. A presente invenção descreve dispositivos mono e/ou multicamadas de liberação controlada de substâncias líquidas voláteis e sua obtenção. Os filmes multicamadas são constituídos por uma ou mais camadas de polímero natural e biodegradável e uma camada contendo o polímero e a substância líquida volátil adsorvida em um suporte sólido. Os filmes foram testados e apresentaram atividade antileishmanial.



FILMES MULTICAMADAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE SUBSTÂNCIAS VOLÁTEIS ADSORVIDAS EM UM SUPORTE SÓLIDO E USO

A presente invenção descreve dispositivos mono e/ou multicamadas de liberação controlada de substâncias líquidas voláteis e sua obtenção. Os filmes multicamadas são constituídos por uma ou mais camadas de polímero natural e biodegradável e uma camada contendo o polímero e a substância líquida volátil adsorvida em um suporte sólido. Os filmes foram testados e apresentaram atividade antileishmanial.

Existe uma tendência atual em se adotar a administração de medicamentos segundo as técnicas de liberação controlada de fármacos. Esses sistemas podem permitir uma liberação contínua, constante e prolongada do princípio ativo, mantendo um nível constante no organismo do paciente, evitando assim efeitos colaterais provocados por superdosagem, que podem ocorrer na administração convencional.

A liberação de fármacos no local de ação utilizando dispositivos de liberação adequados apresenta vantagem sobre o sistema convencional de liberação de fármacos (por via oral). Nos últimos anos tem sido demonstrado que a liberação de fármacos, no local de ação, incrementa a eficiência do tratamento, bem como diminui a toxicidade na utilização de fármacos antineoplásicos, por exemplo. Uma das formas de liberação controlada de fármacos no local de ação é através do uso de sistemas matriciais.

Sistemas matriciais são sistemas elaborados com o intuito de prolongar a liberação de um fármaco, dissolvido ou disperso em um suporte resistente à degradação. São considerados dispositivos monolíticos, nos quais o fármaco é disperso em uma matriz polimérica e sua liberação é controlada por difusão a partir dessa matriz (PRISTA, L.N.; ALVES, A.C.; MORGADO, R.M.R. *Técnica farmacêutica e farmácia galênica*. 3.ed., Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1990. v.3.).

Em contato com um meio aquoso, uma matriz polimérica hidrofílica gradualmente começa a hidratar-se da periferia em direção ao centro, formando uma massa gelatinosa intumescida, a qual controla a difusão de moléculas do fármaco, através do material polimérico, em direção ao sistema aquoso. A liberação do

princípio ativo depende do seu poder de difusão através da rede formada pelo gel, da capacidade de erosão da matriz ou da combinação de ambos os processos. Fármacos solúveis são liberados por difusão através da parede gelatinosa e, também, pela exposição do conteúdo devido à erosão. Fármacos insolúveis são liberados exclusivamente pela exposição do conteúdo devido à erosão do sistema matricial (CAVALCANTI, O.A. *Sistemas de liberação modificada de fármacos*. Módulo de farmacotécnica da pós-graduação em ciências farmacêuticas. UNIVALI. Fev. 2001).

O uso de materiais poliméricos para a liberação de fármacos é relatado extensamente na literatura. Os polímeros naturais possuem vantagens sobre os sintéticos por apresentarem, em alguns casos, compatibilidade biológica, biodegradabilidade e baixa imunogenicidade. Além disso, no campo cirúrgico de dispositivos implantáveis, os polímeros naturais e biodegradáveis não necessitam serem retirados por intermédio de processo cirúrgico, ao contrário dos sintéticos não biodegradáveis.

Dispositivos de liberação de droga com polímeros também são utilizados como implantes rígidos. Esta forma farmacêutica prejudica a adaptação do dispositivo às diferentes formas das cavidades corpóreas onde o implante é administrado. Assim, a elaboração destes dispositivos na forma de filmes poliméricos tem sido utilizada para liberação de fármacos por ter uma maior maleabilidade e permitir melhor adaptação aos locais de administração.

Polímeros biodegradáveis têm sido explorados como um biomaterial na área de sistema de liberação de fármacos. A pesquisa por biomateriais ideais, ainda está em curso, para administração de fármacos, os quais têm suas propriedades de dispositivos ditadas, por exemplo, pela biocompatibilidade, biodegradabilidade, propriedades físico-químicas, não toxicidade e outras (LUDWIG, A., 2005. The use of mucoadhesive polymers in ocular drug delivery. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 57, 1595-1639; FELT, O.; FURRER, P.; MAYER, J. M.; PLAZONNET, B.; BURI, P.; GURNY, R. 1999. Topical use of chitosan in ophthalmology: tolerance assessment and evaluation of precorneal retention. *Int. J. Pharm.*, 180, 185-193).

Filmes que apresentam polímeros naturais em sua composição têm sido descritos na literatura, incluindo misturas poliméricas com sistema sólido e de filmes

cuja matriz é composta do polímero e material lipídico. Entretanto, estes filmes apresentam diferenças em suas composições, nos tempos de liberação da droga e no fato de promoverem reações secundárias provenientes dos materiais lipídicos, como a oxidação. Além disso, tem se abordado pouco sobre a utilização de filmes duplos (ou em dupla camada). Em especial, pós dos filmes apresentam dificuldade de se fixarem no local de aplicação e, também, em reterem a droga em seu interior para que uma liberação controlada e prolongada do fármaco ocorra. Conseqüentemente, alternativas os sistemas poliméricos em forma de filmes para liberação controlada e prolongada de droga foram investigadas. Os sistemas da liberação da droga, incluindo materiais baseados em óleo e dispositivos cerâmicos são conhecidos no domínio da arte.

Dentre os polímeros naturais biodegradáveis o quitosana é um polímero bastante visado pelos pesquisadores nos mais diferentes campos de atuação. Exemplos da versatilidade desse material podem ser vistos desde sua aplicação em sistemas de embalagem de frutas e comidas em geral, passando por seu emprego em tratamento de água e resíduos industriais, até a utilização na área médica, onde tanto as fibras quanto os sistemas matriciais desse polímero têm atraído interesse.

O quitosana é um polímero natural facilmente derivado da quitina por um processo de N-desacetilação. A quitina é largamente encontrada na natureza como o maior componente da parede celular de vários fungos e carapaças de insetos e crustáceos. Nas últimas duas décadas, o quitosana tem sido relatado na literatura como um polímero promissor devido às suas propriedades de biodegradabilidade, baixa imunogenicidade e disponibilidade abundante.

Em outro aspecto o quitosana tem sido usado em uma grande variedade de aplicações biomédicas (FELT, O.; FURRER, P.; MAYER, J. M.; PLAZONNET, B.; BURI, P.; GURNY, R. 1999. Topical use of chitosan in ophthalmology: tolerance assessment and evaluation of precorneal retention. *Int. J. Pharm.*, 180, 185-193.). Diversos carreadores derivados de quitosana têm sido desenvolvidos como sistemas de liberação de fármacos, entretanto, as aplicações clínicas permanecem sob investigação (FELT, O.; FURRER, P.; MAYER, J. M.; PLAZONNET, B.; BURI, P.; GURNY, R. 1999. Topical use of chitosan in ophthalmology: tolerance assessment and evaluation of precorneal retention. *Int. J. Pharm.*, 180, 185-193-).).

Por outro lado, inserções erodíveis e não erodíveis são sistemas mais lógicos de liberação de fármacos de forma prolongada na cavidade frontal do olho. (LUDWIG, A., 2005. The use of mucoadhesive polymers in ocular drug delivery. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 57, 1595-1639.). Esses sistemas sustentam e controlam a liberação do fármaco, evitando assim o efeito "burst", caracterizado por uma overdose transitória, depois por um período relativamente curto de dosagem aceitável, o qual é seguido por outro período prolongado de subdosagem (LUDWIG, A., 2005. The use of mucoadhesive polymers in ocular drug delivery. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 57, 1595-1639.). Assim, se um carreador de quitosana contendo fármaco puder ser aplicado sobre o foco de uma doença, os fármacos poderão ser liberados gradualmente e melhorar a eficácia terapêutica (FELT, O.; FURRER, P.; MAYER, J. M.; PLAZONNET, B.; BURI, P.; GURNY, R. 1999. Topical use of chitosan in ophthalmology: tolerance assessment and evaluation of precorneal retention. *Int. J. Pharm.*, 180, 185-193-; SARASAM, A.; MADIHALLY, S. V. 2005. Characterization of chitosan-polycaprolactone blends for tissue engineering applications. *Biomaterials*, 26, 5500-5508; LANG, J. C. 1995. Ocular drug delivery conventional ocular formulations. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 16, 39-43).

A fim de se obter melhor atividade do fármaco por via tópica em doenças, sem efeitos colaterais induzidos por materiais biomédicos, a qualidade e a forma do material devem ser avaliadas (CALVO, P.; REMUNÁN-LOPES, C.; VILLA-JATO, J. L.; ALONSO, M. J. 1997. Chitosan and chitosan ethylene oxide propylene oxide block copolymer nanoparticles as novel carriers for proteins and vaccines. *Pharm. Res.*, 14, 1431-1436).

Atualmente, encontram-se disponíveis documentos de patentes relacionados a dispositivos utilizando filmes poliméricos, inclusive de quitosana e seus derivados, para administração de fármacos. Os documentos mais significativos são relacionados abaixo.

A patente US5300494 intitulada "Delivery systems for quaternary and related compounds" descreve a confecção de dispositivos para a liberação de fármacos, possuindo matriz polimérica constituída de derivados do quitosana e não do polímero natural, o que aumenta o número de etapas de obtenção do dispositivo, onerando o processo. Além disso, é proposta a aplicação do sistema na forma de

solução, para que seja formado um filme sobre a área aplicada após a secagem, de forma que a liberação do ativo não está condicionada ao sistema polimérico, fazendo com que a droga esteja disponível imediatamente após aplicação.

A patente US20050196351A1 ("Film compositions") descreve a confecção de filmes poliméricos cuja composição é uma mistura de polímeros, apresentando um processo de obtenção bastante distinto do apresentado no relatório descritivo no presente pedido de patente. Outro fator importante a ser considerado é o tempo de liberação da droga, que é curto comparado a outros dispositivos de liberação prolongada (até 12 horas).

A patente US20070042045A1 ("Multilayer dosage form comprising a matrix that influences release of a modulatory substance") descreve a confecção de filmes multicamadas para liberação de fármacos, utilizando polímeros derivados do ácido acrílico em uma camada, seguida de camadas do mesmo polímero ou de composição diferente. As camadas constituintes do sistema são obtidas por compressão.

O documento de patente US20080026040A1 ("Active agent-releasing dosage forms") descreve a produção de filmes poliméricos por processo no qual utiliza-se um sistema de jateamento ("Ink Jet") da solução polimérica, bem como da solução com o fármaco. Utilizam-se solventes orgânicos na obtenção do sistema e selagem térmica do material polimérico. Os polímeros utilizados são de composição variada. Além disso, o documento americano de patente não relata de forma clara o prolongamento da liberação do fármaco.

A patente WO2005089825A2 ("Medical articles having regions with polyelectrolyte multilayer coatings for regulating drug release") descreve dispositivos de liberação de fármacos empregando arcabouço cerâmico. A desvantagem deste método está nos constituintes e função dos mesmos no dispositivo, especialmente a não biodegradabilidade de toda a preparação.

A patente WO2006102965A1 ("Multiparticulate pharmaceutical form comprising pellets with a matrix which influences the delivery of a modulatory substance") descreve a produção de "pellets" utilizando soluções poliméricas. Trata-se de sistema rígido que não se adapta às mais diferentes cavidades corpóreas.

Considerando os relatos dos documentos de patentes anteriormente descritos, é notório ressaltar que até o momento a literatura não descreve um sistema biodegradável na forma de filme em mono ou multicamadas de quitosana que permita uma forma de administração prolongada de fármacos voláteis.

5 Descrição Detalhada das Figuras

Figura 1: Resultado da hidratação das formulações preparadas em solução de ácido acético 1,5%.

Figura 1: Resultado da hidratação das formulações preparadas em solução de ácido acético 50%.

10 **Figura 3:** Perfil de liberação prolongada do filme TN 1,5%.

Figura 4: Perfil de liberação prolongada do filme TN 50%.

Figura 5: Perfil de liberação prolongada do filme TAN 10 mg 1,5%.

Figura 6: Perfil de liberação prolongada do filme TAN 10 mg 50.

Figura 7: Perfil de liberação prolongada do filme TAN 20 mg 1,5.

15 **Figura 8:** Perfil de liberação prolongada do filme TAN 20 mg 50.

Figura 9: Quantidade do nerolidol fixada nas formulações em porcentagem (%).

Figura 10: Micrografia eletrônica de varredura (MEV) das fraturas dos filmes (a) MN 50%; (b) BN 50%; (c) TA 10 50%, (d) TAN 10 50% (e) TA 20 50%; (f) TAN 20 50%. Aumento de 500x.

20 **Figura 11:** Resultado da atividade antileishmanial das formulações sem o nerolidol.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

A presente invenção descreve dispositivos mono e/ou multicamadas de liberação controlada de substâncias líquidas voláteis e sua obtenção. Os filmes multicamadas são constituídos por uma ou mais camadas de polímero natural e
25 biodegradável e uma camada contendo o polímero e a substância líquida volátil adsorvida em um suporte sólido. Os filmes foram testados e apresentaram atividade antileishmanial.

A invenção aqui descrita utiliza o quitosana como único polímero constituinte das camadas. O fato de se ter um único polímero leva a um processo de obtenção
30 mais econômico de fabricação. Descreve-se um sistema obtido através de um

processo de dissolução/evaporação. Além disso, trata-se de um sistema que permite a adaptação do dispositivo às cavidades corpóreas, por se tratar de um filme.

Nos filmes desenvolvidos a liberação do fármaco ocorreu gradativamente durante aproximadamente 4 semanas. Assim, é possível veicular uma pequena
5 quantidade de fármaco volátil por um longo período de tempo, evitando as constantes readministrações (doses de manutenção do fármaco).

O presente dispositivo tornou o tempo de liberação dos fármacos mais longo do que as formas de dosagem convencionais, pois permitiu uma maior inclusão de água (capacidade de hidratação dos filmes) através da formação de ligações de
10 hidrogênio entre a água e o polímero. Estas interações "extras" provenientes das moléculas de água funcionam como uma cola, unindo as camadas do polímero, dificultando assim, o processo de difusão do fármaco. (MUCHA, M.; PAWLAK, A. 2005. Thermal analysis of chitosan and its blends. *Thermochim. Acta*, 427, 69-76; RODRIGUES, L. B.; LEITE, H. F.; YOSHIDA, M. I.; SALIBA, J. B.; CUNHA JÚNIOR, A. S.; FARACO, A. A. G. In vitro release and characterization of chitosan films as
15 dexamethasone, *Int. J. Pharm.*, v. 368, p. 1-6, 2009). A incorporação de uma segunda camada de filme de quitosana modifica, significativamente, o perfil de liberação do fármaco agindo como se fosse um sistema matricial em que o fármaco é liberado pela camada impregnada pela droga e a camada de polímero apresenta a
20 função de dificultar a saída da substância ativa, levando assim ao maior tempo de liberação descrito (RODRIGUES, L. B.; LEITE, H. F.; YOSHIDA, M. I.; SALIBA, J. B.; CUNHA JÚNIOR, A. S.; FARACO A. A. G. In vitro release and characterization of chitosan films as dexamethasone, *Int. J. Pharm.*, v. 368, p. 1-6, 2009).

A incorporação de uma terceira camada prolonga ainda mais esse perfil de
25 liberação, uma vez que é introduzida mais uma barreira à liberação do princípio ativo. O suporte sólido em que a substância volátil é adsorvida antes de ser incorporada a matriz polimérica contribui para a fixação das substâncias voláteis na formulação e para um perfil de liberação mais prolongado. Além disso, a adição de camadas, bem como a utilização do suporte sólido atuam como fixadores das
30 substâncias voláteis na formulação, impedindo sua volatilização e conseqüente perda. Esse fato, em termos industriais, é de imensa importância, uma vez que há

uma grande economia do princípio ativo. Por isso, os filmes preparados são carreadores potenciais para liberação de fármacos voláteis durante semanas.

A presente invenção é descrita pelos seguintes exemplos, não limitantes:

Exemplo 1 - Preparação dos filmes de quitosana

- 5 Foram desenvolvidos filmes na matriz polimérica quitosana, em ácido acético, com e sem o nerolidol adsorvidos em um suporte sólido (amido/talco). O grau de desacetilação da quitosana utilizada foi de cerca de 85%.

Método para a preparação dos filmes de quitosana com e sem o nerolidol

- 10 Os filmes foram preparados pela técnica de "solvent casting" (REDESHI, M. C. M. Preparação e caracterização de filmes a base de xiloglucana extraída de sementes de *Hymenaea courbaril* (jatobá). 2006. 95f. *Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas* – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho". Araraquara, 2006). Foi
15 utilizada como matriz polimérica 5 mL de uma solução de quitosana a 2%, em ácido acético 1,5% a 50%, que corresponde a uma massa de 100 mg de quitosana. Variou-se a quantidade de suporte sólido utilizado (0,10 a 20 mg). O suporte sólido foi selecionado do grupo compreendendo amido e talco. Nos filmes que possuíam o nerolidol, foram adicionados 30 μ L ($m = 26,25$ mg) do nerolidol com grau de pureza
20 de 98%.

- Inicialmente, preparou-se uma solução de ácido acético em água destilada na concentração de 1,5% a 25% v/v. A seguir, pesou-se 2,0 g de quitosana. A solução ácida foi vertida gradualmente sobre a quitosana e o sistema foi mantido sob agitação magnética e à temperatura ambiente, por cerca de 24 horas até completa
25 dissolução do polímero.

- Em recipiente adequado adicionou-se 30 μ L (massa = 26,25 mg) do nerolidol com grau de pureza de 98%, seguido da adição de 0,10 a 20 mg de amido ou talco e homogeneizou-se. A seguir, adicionou-se 5 mL da solução de quitosana e homogeneizou-se, a fim de dispersar a mistura. O solvente foi evaporado à
30 temperatura ambiente até a produção de uma fina película de filme.

Os filmes bicamadas foram obtidos, partindo-se do filme monocamada, por meio da adição de uma segunda camada da dispersão de quitosana em ácido acético entre 1,5% a 50% sobre a película anteriormente formada, seguida do mesmo processo de secagem que foi realizado para o filme monocamada.

5 Os filmes tricamadas foram obtidos através da adição de uma primeira camada utilizando 5 mL da dispersão de quitosana, em ácido acético entre 1,5% a 50% cujo o solvente foi evaporado à temperatura ambiente até à produção de uma fina película de filme. A seguir, foi adicionada a camada carreadora, preparada à parte da forma citada anteriormente, que continha o nerolidol e o excipiente em
10 diferentes proporções. No próximo passo, adicionou-se mais uma camada de quitosana, uso de 5 mL da dispersão, em ácido acético entre 1,5% a 50% cujo o solvente foi evaporado à temperatura ambiente até à produção de uma fina película de filme.

Os filmes brancos foram preparados da mesma forma descrita acima, porém
15 sem a adição do nerolidol.

Foram utilizadas as seguintes siglas para denominar as formulações desenvolvidas:

- MN 1,5% - Filme monocamada nerolidol produzido com solução de ácido acético 1,5%.
- 20 • MN 50% - Filme monocamada nerolidol produzido com solução de ácido acético 50%.
- BN 1,5% - Filme bicamada nerolidol produzido com solução de ácido acético 1,5%.
- BN 50% - Filme bicamada nerolidol produzido com solução de ácido acético
25 50%.
- TN 1,5% - Filme tricamada nerolidol produzido com solução de ácido acético 1,5%.
- TN 50% - Filme tricamada nerolidol produzido com solução de ácido acético 50%.
- 30 • MAN 10 1,5% - Filme monocamada amido nerolidol produzido com solução de ácido acético 1,5% e 10 mg de amido.

- MAN 10 50% - Filme monocamada amido nerolidol produzido com solução de ácido acético 50% e 10 mg de amido.
- MAN 20 1,5% - Filme monocamada amido nerolidol produzido com solução de ácido acético 1,5% e 20 mg de amido.
- 5 • MAN 20 50% - Filme monocamada amido nerolidol produzido com solução de ácido acético 50% e 20 mg de amido.
- MTN 10 1,5% - Filme monocamada amido nerolidol produzido com solução de ácido acético 1,5% e 10 mg de talco.
- MTN 10 50% - Filme monocamada amido nerolidol produzido com solução de
10 ácido acético 50% e 10 mg de talco.
- MTN 20 1,5% - Filme monocamada amido nerolidol produzido com solução de ácido acético 1,5% e 20 mg de talco.
- MTN 20 50% - Filme monocamada amido nerolidol produzido com solução de ácido acético 50% e 20 mg de talco.
- 15 • BAN 10 1,5% - Filme bicamada amido nerolidol produzido com solução de ácido acético 1,5% e 10 mg de amido.
- BAN 10 50% - Filme bicamada amido nerolidol produzido com solução de ácido acético 50% e 10 mg de amido.
- BAN 20 1,5% - Filme bicamada amido nerolidol produzido com solução de
20 ácido acético 1,5% e 20 mg de amido.
- BAN 20 50% - Filme bicamada amido nerolidol produzido com solução de ácido acético 50% e 20 mg de amido.
- BTN 10 1,5% - Filme bicamada amido nerolidol produzido com solução de ácido acético 1,5% e 10 mg de talco.
- 25 • BTN 10 50% - Filme bicamada amido nerolidol produzido com solução de ácido acético 50% e 10 mg de talco.
- BTN 20 1,5% - Filme bicamada amido nerolidol produzido com solução de ácido acético 1,5% e 20 mg de talco.
- BTN 20 50% - Filme bicamada amido nerolidol produzido com solução de
30 ácido acético 50% e 20 mg de talco.
- TAN 10 1,5% - Filme tricamada amido nerolidol produzido com solução de ácido acético 1,5% e 10 mg de amido.

- TAN 10 50% - Filme tricamada amido nerolidol produzido com solução de ácido acético 50% e 10 mg de amido.
- TAN 20 1,5% - Filme tricamada amido nerolidol produzido com solução de ácido acético 1,5% e 20 mg de amido.
- 5 • TAN 20 50% - Filme tricamada amido nerolidol produzido com solução de ácido acético 50% e 20 mg de amido.
- TTN 10 1,5% - Filme tricamada amido nerolidol produzido com solução de ácido acético 1,5% e 10 mg de talco.
- TTN 10 50% - Filme tricamada amido nerolidol produzido com solução de ácido acético 50% e 10 mg de talco.
- 10 • TTN 20 1,5% - Filme tricamada amido nerolidol produzido com solução de ácido acético 1,5% e 20 mg de talco.
- TTN 20 50% - Filme tricamada amido nerolidol produzido com solução de ácido acético 50% e 20 mg de talco.

15

Exemplo 2 - Estudos de hidratação dos filmes

As propriedades de absorção de água dos filmes foram avaliadas pela determinação da porcentagem de hidratação. Este teste é importante para caracterizar o sistema como hidrofílico e, também, para verificar a capacidade de absorção de água pelo dispositivo. Quanto maior a capacidade de absorção, maior será o tamanho do sistema após a aplicação no local de ação podendo com isso inviabilizar sua aplicação. A capacidade de hidratação de formulações de filmes de quitosana foram determinadas pela pesagem do filme antes e depois da adição de solução tampão fosfato pH 7,4. Os filmes foram cortados em circunferências de aproximadamente 5 mm de diâmetro, pesados e colocados em solução tampão por períodos de tempo pré-determinados (5, 10, 20, 40, 60 e 90 min) como descrito por Öner e colaboradores (Öner, L.; Eroglu, H.; Sargon, M. F.; 2007. Chitosan formulations for steroid delivery: Effect of formulation variables on in vitro characteristics. *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, 33, 265-271). Após a imersão, os filmes foram retirados do meio e pesados após a remoção do excesso de água superficial

utilizando papel de filtro. As porcentagens de hidratação foram calculadas. O experimento foi realizado em triplicata.

Os filmes produzidos foram hidratados rapidamente, atingindo até 380% de hidratação após poucos minutos. A máxima hidratação proporcional foi obtida com formulações contendo três camadas de quitosana. Os efeitos do nerolidol adsorvidos no amido/talco sobre o inchaço dos filmes de quitosa na são apresentados nas Figuras 1 e 2. A adição de fármaco insolúvel em água aumentou a captação da mesma. Pode-se inferir que este fato é devido à existência de partículas micronizadas insolúveis entre as cadeias de polímero, permitindo cada uma destas últimas a hidratar-se livremente. Essas áreas podem aumentar a resistência das camadas inchadas seguido por um evidente aumento da quantidade de água conforme já relatado na literatura [PANAMSUK, S. P.; HATANAKA, T.; AIBA, T.; KATAYAMA; KOIZUMI, T. 1996. A study of the hydrophilic cellulose matrix: effect of drugs on the swelling properties. *Chem. Pharm. Bull.*, 44, 1039-1042]. A adição do nerolidol adsorvidos no suporte sólido aumentou a molhabilidade superficial e, conseqüentemente, a penetração no interior da matriz. Formulações com maior quantidade de camadas adicionadas e do suporte amido apresentaram maior absorção de água. O total do perfil para taxas de absorção de água foi proporcionalmente semelhante para os todos os tipos de filmes. Durante a realização do teste a integridade dos filmes testados não foi comprometida, não sendo evidenciada a separação das camadas.

Exemplo 3 - Liberação do fármaco *in vitro*

Os filmes carregados com o nerolidol, com área exposta constante, foram embebidos em um volume adequado em frascos de vidro, como especificado adiante, em um agitador de laboratório horizontal, com cinco replicatas. Estes frascos de vidro foram incubados a $37 \pm 0,5$ °C, sob agitação de 50 rpm. Nos intervalos de tempo adequados toda solução foi retirada do frasco de vidro e a quantidade do nerolidol liberada a partir dos filmes carregados foi avaliada pelo método desenvolvido por Ribeiro e colaboradores (RIBEIRO, T. G.; FARACO, A. A. G.; CASTILHO, R. O. Desenvolvimento e validação de método analítico espectrométrico para quantificação de nerolidol em um dispositivo polimérico de

liberação prolongada. *Quim. Nova*, 2010 (artigo submetido para publicação). Em seguida, um volume igual da mesma solução foi adicionado a fim de manter um volume constante. A solução utilizada para estudos de liberação controlada foram soluções típicas com pH 7,4 (10mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ - solução tampão).

- 5 Os filmes de quitosana produziram liberação sustentada nas formulações de mono e multicamadas. A taxa de liberação dos filmes com tricamadas de quitosana-substância volátil e 20 mg do suporte sólido foi a mais prolongada, conforme pode ser visualizado nas figuras 3 a 8.

Exemplo 4 – Doseamento do princípio ativo fixado na formulação

- 10 Para se dosear o total do nerolidol que cada formulação foi capaz de fixar, os filmes recém preparados foram cortados em circunferências de aproximadamente 5 mm de diâmetros, umidificados individualmente com 10 μL de solução tampão, adicionados 3 mL do reagente preparado com ácido sulfúrico e vanilina, em um vidro de penicilina e, posteriormente, adicionados 3,0 mL de solução tampão PBS pH 7,4.
- 15 A seguir, foram agitados e submetidos a aquecimento a 50° C por 10 min em banho maria. Realizaram-se imediatamente, então, as medidas de absorção no espectrofotômetro de absorção na região do visível em λ 542 nm (RIBEIRO, T. G.; FARACO, A. A. G.; CASTILHO, R. O. Desenvolvimento e validação de método analítico espectrométrico para quantificação de nerolidol em um dispositivo polimérico
- 20 de liberação prolongada. *Quim. Nova*, 2010 (artigo submetido para publicação)). O branco se constituiu do filme preparado da mesma forma, porém sem o fármaco e foi utilizado para zerar o aparelho. Esse procedimento foi feito em quintuplicata.

- Os filmes de quitosana produzidos foram capazes de fixar o princípio ativo volátil em diferentes proporções o que pode ser visualizado nas Figuras 9 e 10. A
- 25 fixação do princípio ativo volátil foi maior nos filmes com tricamada de quitosana-substância volátil e 20 mg do suporte sólido.

Exemplo 5 – Caracterização dos filmes por microscopia eletrônica de varredura

Os filmes carregados com o óleo essencial ou com o nerolidol foram adequadamente cortados em partes de 1 cm² de área. Foi feita uma fratura com nitrogênio líquido para visualização da lateral do filme. Os filmes foram colados com fita duplaface de carbono em suporte adequado e colocados no aparelho de

5 microscopia eletrônica para varredura de sua superfície. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 11.

De acordo com as imagens obtidas, tudo indica que a adição de camadas de matriz polimérica de quitosana com o intuito de diminuir a perda do nerolidol foi eficaz. A adição do amido na matriz polimérica de quitosana pode ser bem

10 visualizada por uma região mais clara, estriada, na segunda camada dos filmes tricamadas TA (tricamada- amido 10mg) e TA 20 (tricamada-amido 20mg) (Figura 11, a e c). À medida que se aumentou a porcentagem do excipiente, percebeu-se nas imagens obtidas uma diminuição na quantidade de orifícios, o que significa que provavelmente o nerolidol está mais adsorvido ao excipiente e ocupando menos

15 espaços sem estar adsorvido, o que diminui a probabilidade de sua volatilização.

Exemplo 6 – Teste de atividade antileishmanial

Parasitas

Leishmania amazonensis (IFLA/BR/1967/PH-8) foram utilizadas neste teste. Os parasitas cresceram a 24°C no meio de cultura Schneider (Sigma, St. Louis, MO, USA) suplementado com 20% de serum bovino fetal inativado pelo calor (FBS, Sigma), 20 mM L-glutamina, 200 U/mL penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina em pH 7.4.

20

Teste de atividade antileishmania *in vitro*

A inibição das células em crescimento foi testada *in vitro*, pelo cultivo de promastigotas de *L. amazonensis*, na presença das formulações e da substância volátil (nerolidol) na concentração a que cada formulação liberava no tempo correspondente a 1 semana do teste de liberação prolongada *in vitro* em microplacas contendo 96 poços (Corning Life Sciences, Corning, N.Y.) por 48 h a 24 °C. A viabilidade dos parasitos foi avaliada utilizando um ensaio colorimétrico baseado na

25

30 quebra do 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil brometo de tetrazolium (MTT) para

observar a atividade metabólica. As células foram incubadas em um meio RPMI-PR contendo MTT (2 mg/mL) por 4 h a 24 °C para as promastigotas. A quebra do MTT foi medida através de um espectrofotômetro multiscan (LABTRADE, model 660) no comprimento de onda de 570 nm. As medidas foram feitas em triplicatas e os resultados expressos como a medida percentual da redução do número de parasitas comparada com o controle, não tratado, por no mínimo dois experimentos independentes. O fármaco anfotericina foi usado como controle positivo. Os resultados da atividade antileishmanial dos filmes de quitosana estão representados na tabela 2 e na Figura 11.

De acordo com os resultados obtidos (Figura 11 e Tabela 2), pode-se observar que a quitosana possui atividade leishmanicida. A atividade leishmanicida foi maior quanto maior a quantidade de quitosana utilizada: para os filmes monocamada obteve-se uma % de morte de cerca de 20%, ao passo que para os filmes tricamadas obteve-se uma porcentagem de morte de cerca de 40%. Assim, o quitosana pode ser utilizada tanto como princípio ativo único ou associado a outras substâncias ativas, resultando em um efeito sinérgico.

Tabela 2: Resultado da atividade antileishmanial dos filmes de quitosana.

	Abs 1	Abs 2	Abs 3	% morte 1	% morte 2	% morte 3	Média	desvio
MA 20 1,5%	0,56	0,59	0,67	25,75406	21,7766	11,17004	19,5669	5,595969
TA 20 1,5%	0,44	0,5	0,47	41,6639	33,70898	37,68644	37,68644	2,296388
Anfotericina B (50 ug/mL)	0,131	0,155	0,1	82,63175	79,44978	86,7418	82,94111	3,647099
Controle negativo	0,776	0,7	0,77	0,771	0,75425			

REIVINDICAÇÕES

1. PROCESSO DE OBTENÇÃO DE FILMES MULTICAMADAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS VOLÁTEIS, caracterizado por compreender as seguintes etapas:

- 5 a) Dispersão do polímero quitosana em uma solução aquosa de ácido orgânico;
- b) Deposição da dispersão descrita no **item a** em um recipiente apropriado;
- 10 c) Secagem da dispersão, a temperatura ambiente, até formação de um filme;
- d) Preparação de uma nova dispersão do polímero conforme **item a**;
- e) Adsorção da substância volátil em suporte sólido;
- f) Dispersão e homogeneização da substância volátil adsorvida na solução preparada no **item d**;
- 15 g) Deposição da suspensão obtida no **item f** sobre o filme obtido no **item d**;
- h) Secagem do sistema filme-suspensão, a temperatura ambiente, até formação de um filme;
- i) Preparação de uma nova dispersão de polímero conforme **item a**;
- 20 j) Deposição da suspensão obtida no **item i** sobre o filme obtido no **item h**; e,
- k) Secagem da dispersão constante do **item j**, a temperatura ambiente, até formação de um filme.

2. PROCESSO DE OBTENÇÃO DE FILMES MULTICAMADAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS VOLÁTEIS de acordo com a reivindicação 1, **etapa a**, caracterizado pelo polímero ser o quitosana.

3. PROCESSO DE OBTENÇÃO DE FILMES MULTICAMADAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS VOLÁTEIS, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo quitosana apresentar preferencialmente massa molar média e grau de desacetilação superior a 75 %.

4. **PROCESSO DE OBTENÇÃO DE FILMES MULTICAMADAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS VOLTÁTEIS**, de acordo com reivindicação 1, **etapa a**, caracterizado pelo ácido acético e outros ácido orgânicos a ser selecionado do grupo.
- 5 5. **PROCESSO DE OBTENÇÃO DE FILMES MULTICAMADAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS VOLÁTEIS** de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo ácido orgânico ser preferencialmente ácido acético.
- 10 6. **PROCESSO DE OBTENÇÃO DE FILMES MULTICAMADAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS VOLÁTEIS** e acordo com a reivindicação 1, **etapa a**, caracterizado pela concentração do ácido estar entre 1,5 e 50% v/v.
- 15 7. **PROCESSO DE OBTENÇÃO DE FILMES MULTICAMADAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS VOLÁTEIS** de acordo com a reivindicação 1, **etapa e**, caracterizado pelo suporte sólido ser selecionado do grupo compreendendo amido ou talco.
- 20 8. **PROCESSO DE OBTENÇÃO DE FILMES MULTICAMADAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS VOLÁTEIS** de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pela quantidade do suporte sólido estar entre 0,10 a 0,50 mg.
- 25 9. **PROCESSO DE OBTENÇÃO DE FILMES MULTICAMADAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS VOLÁTEIS** de acordo com a reivindicação 1, **etapa e**, caracterizado pela substância volátil ser selecionada do grupo compreendendo óleos essenciais e substâncias voláteis.
- 30 10. **PROCESSO DE OBTENÇÃO DE FILMES MULTICAMADAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS VOLÁTEIS**, de acordo com as reivindicações 1 a 9, caracterizado por compreender filmes mono, bi e tricamadas maleáveis.
11. **FILMES MULTICAMADAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS VOLÁTEIS**, de acordo com as reivindicações 1 a 10, caracterizados pelos filmes monocamada compreenderem mistura da

dispersão de quitosana com a substância volátil adsorvida no suporte sólido.

5 **12. FILMES MULTICAMADAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS VOLÁTEIS**, de acordo com as reivindicações 1 a 10, caracterizados pelos filmes bicamadas compreenderem uma primeira camada contendo a mistura da dispersão de quitosana com a substância volátil adsorvida no suporte sólido, e uma segunda camada constituída do filme do polímero.

10 **13. FILMES MULTICAMADAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS VOLÁTEIS**, de acordo com as reivindicações 1 a 10, caracterizados pelos filmes tricamadas compreenderem uma primeira camada de filme polimérico, uma segunda camada contendo a mistura da dispersão de quitosana com a substância volátil adsorvida no suporte sólido e uma terceira camada constituída do filme do polímero.

15 **14. FILMES MULTICAMADAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS VOLÁTEIS** de acordo com as reivindicações 10 a 13, caracterizado por fixarem os princípios ativos voláteis em até 98%, impedindo sua volatilização e perda.

20 **15. FILMES MULTICAMADAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS VOLÁTEIS**, de acordo com as reivindicações 1 a 14, caracterizados por apresentarem ação antileishmanial.

25 **16. FILMES MULTICAMADAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS VOLÁTEIS** de acordo com as reivindicações 1 a 15, caracterizado por apresentarem perfil de liberação *in vitro* de, no mínimo, 4 semanas.

17. FILMES MULTICAMADAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS VOLÁTEIS, de acordo com as reivindicações 1 a 16, caracterizados por serem administrados pelas vias oral, bucal, ocular, nasal e intra-lesão.

30 **18. USO DE QUITOSANA**, caracterizado por ser na preparação de medicamentos para tratamento de leishmaniose.

19.USO DE QUITOSANA, de acordo com a reivindicação 18, caracterizado pelo quitosana ser utilizado isoladamente ou em associação com fármacos leishmanicidas.

5

20.USO DE QUITOSANA, de acordo com as reivindicações 18 e 19, caracterizado pelo quitosana poder estar na forma de filmes, solução, pasta ou dispositivos dérmicos.

Figuras

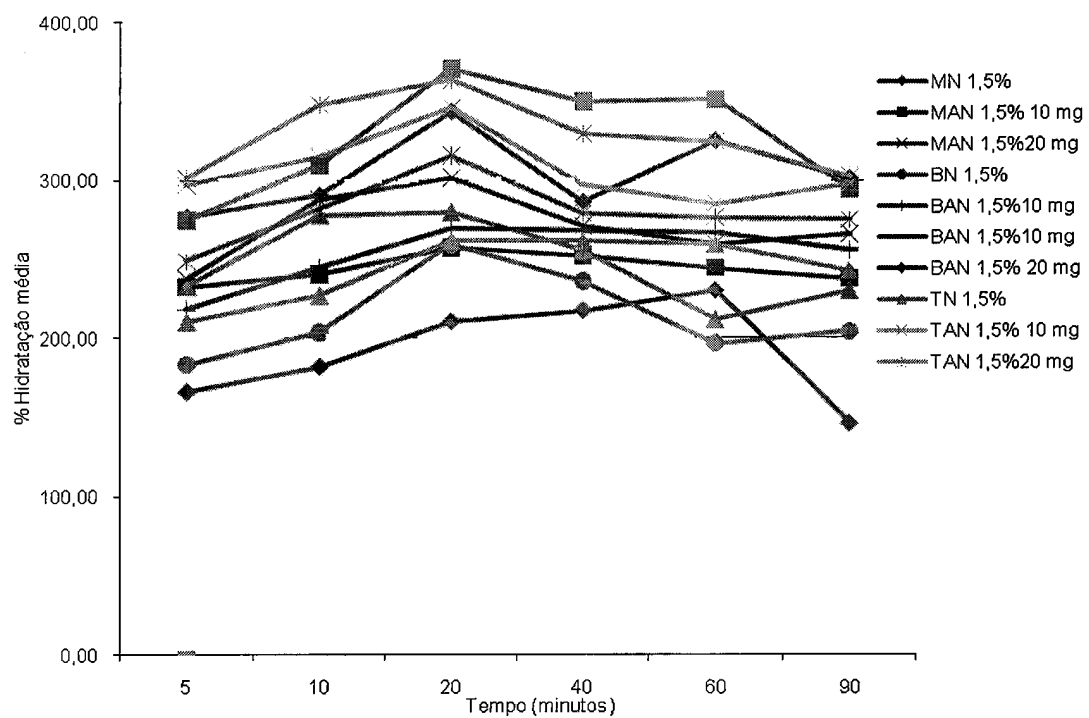


Figura 1

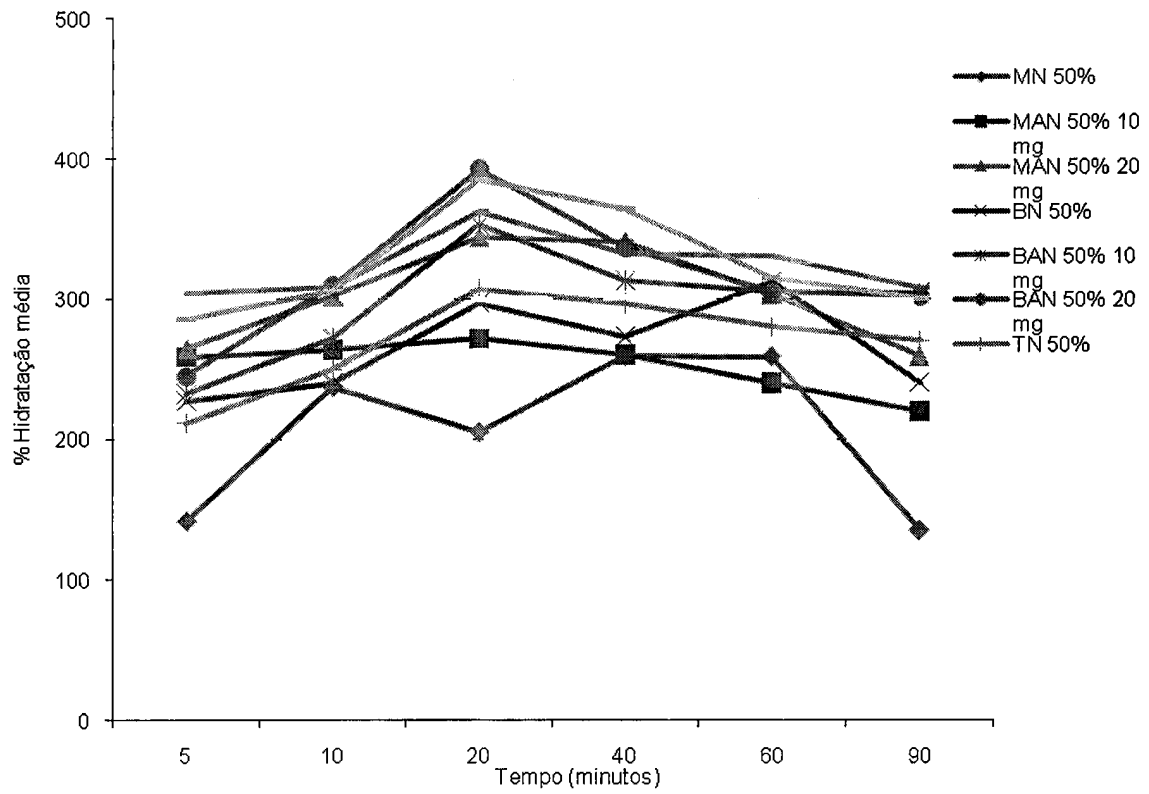


Figura 2

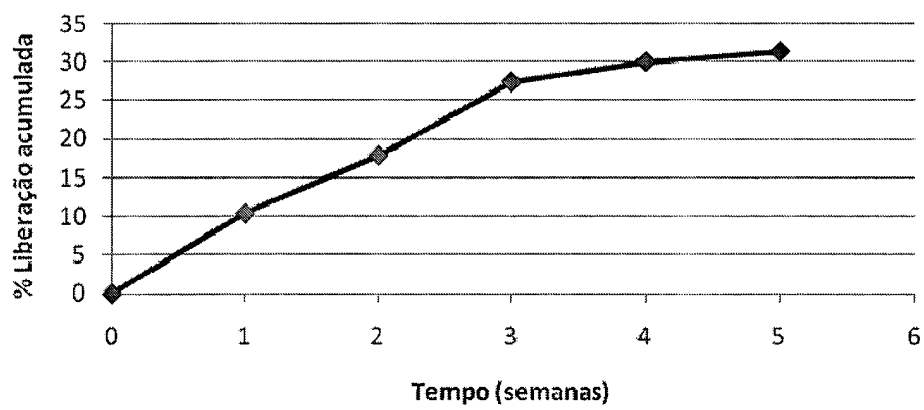


Figura 3

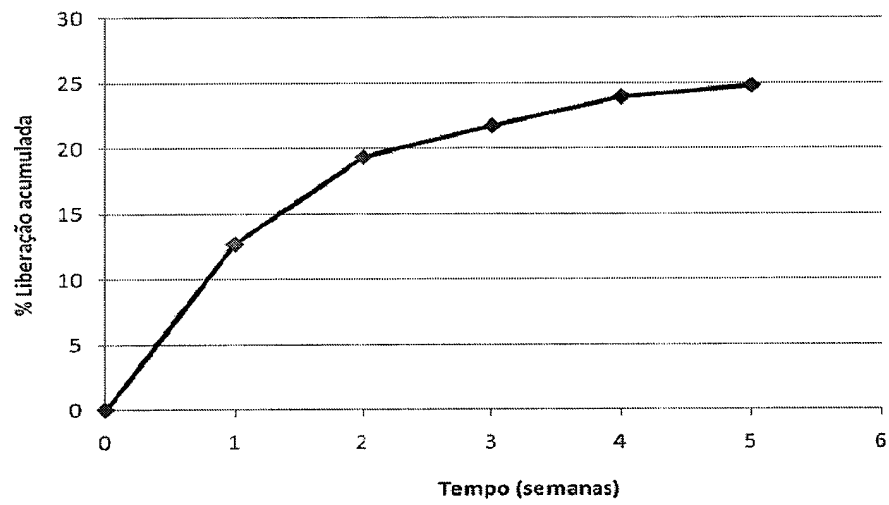


Figura 4

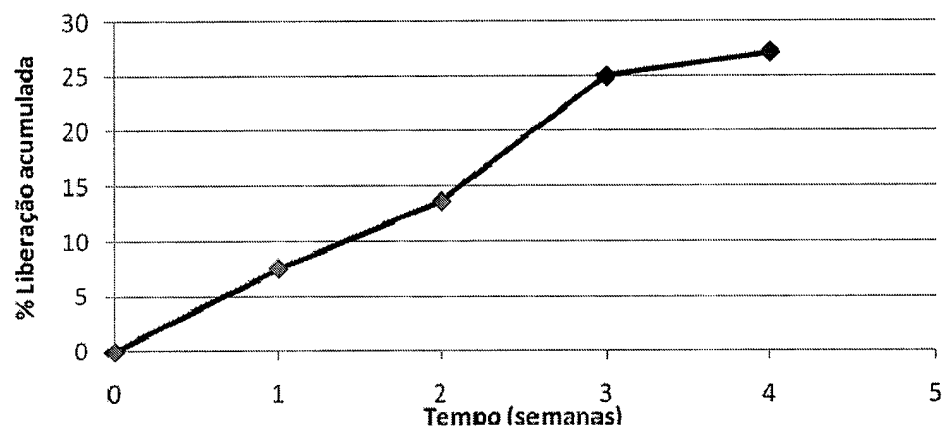


Figura 5

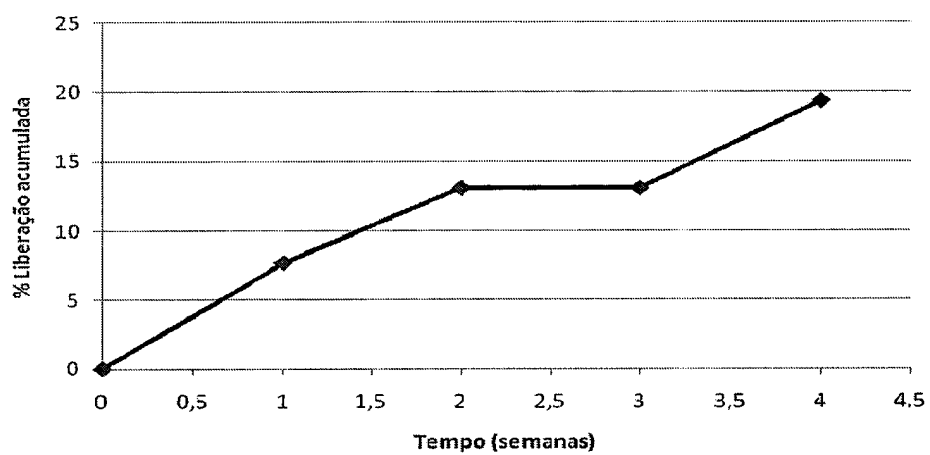


Figura 6

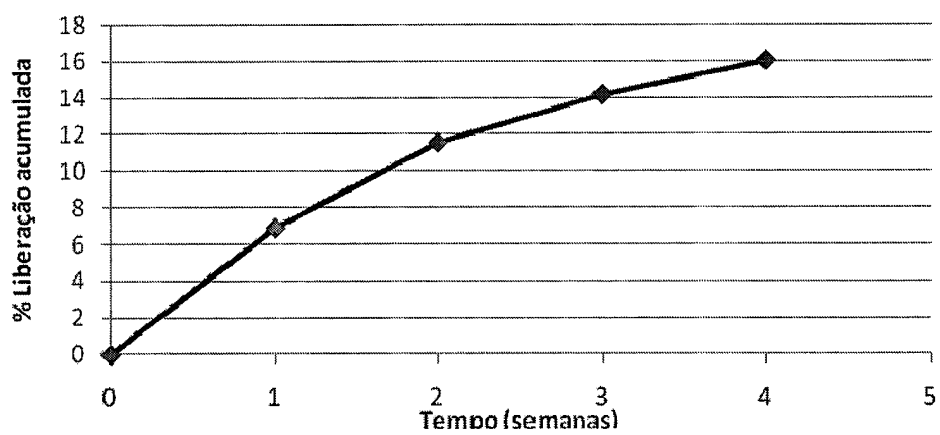


Figura 7

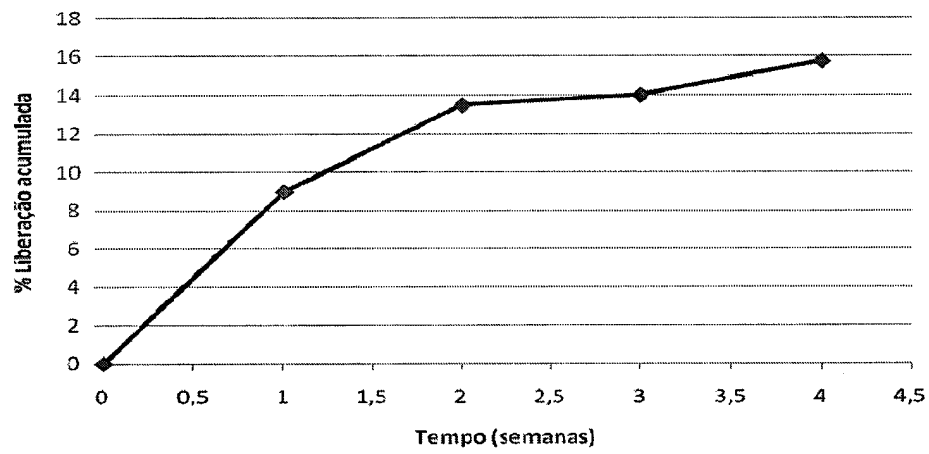


Figura 8

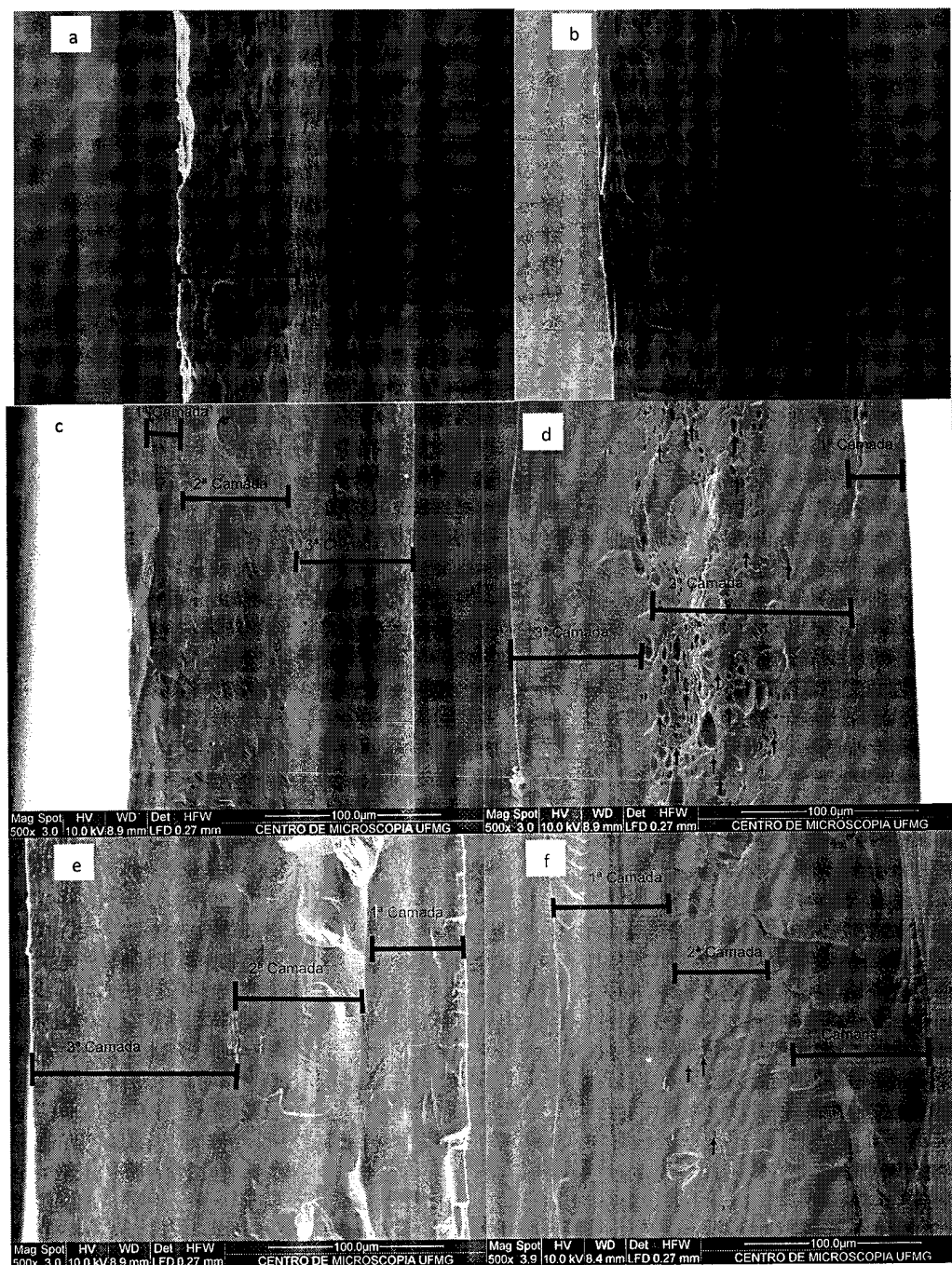


Figura 9

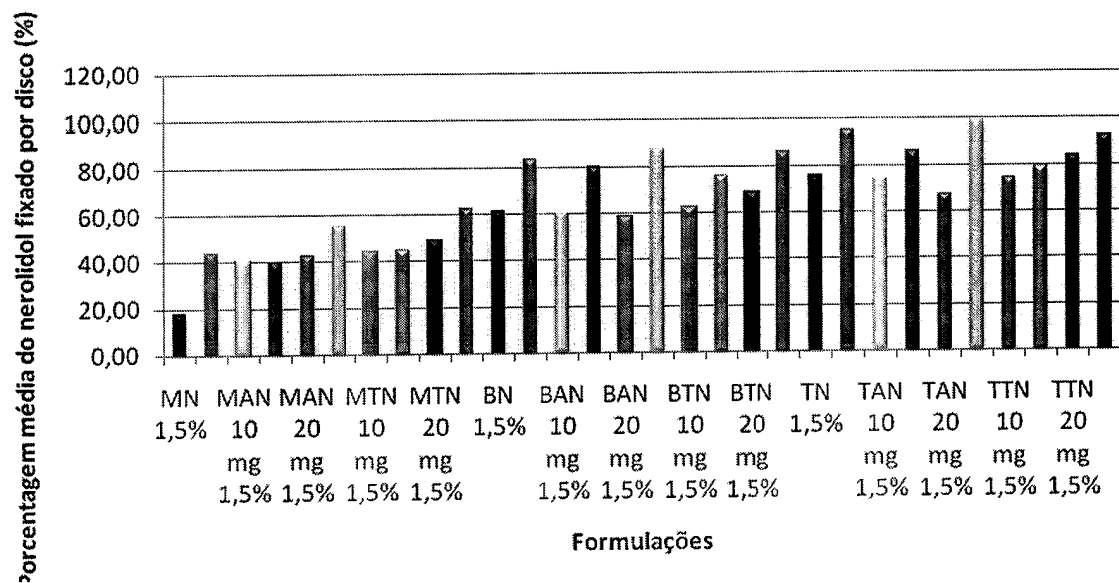


Figura 10

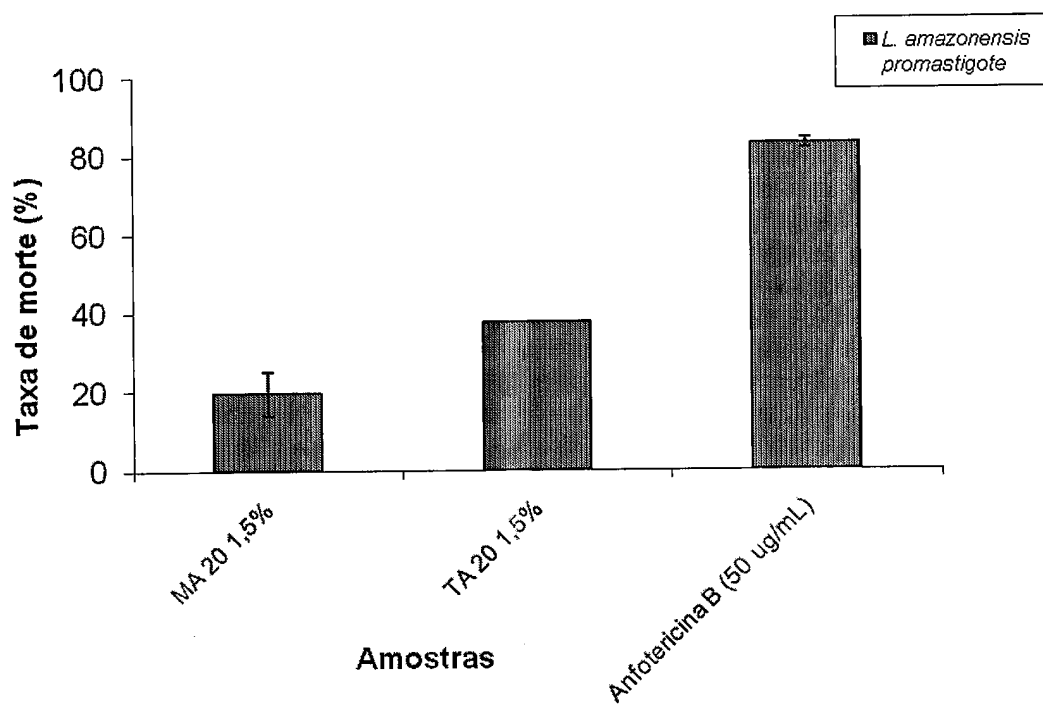


Figura 11

FILMES MULTICAMADAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE SUBSTÂNCIAS VOLÁTEIS ADSORVIDAS EM UM SUPORTE SÓLIDO E USO

5 A presente invenção descreve dispositivos mono e/ou multicamadas de liberação controlada de substâncias líquidas voláteis e sua obtenção. Os filmes multicamadas são constituídos por uma ou mais camadas de polímero natural e biodegradável e uma camada contendo o polímero e a substância líquida volátil adsorvida em um suporte sólido. Os filmes foram testados e apresentaram atividade antileishmanial.