



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CAMPUS UNIVERSITÁRIO MINISTRO PETRÔNIO PORTELA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA – RENORBIO

**Preparação, caracterização e avaliação de formulações mucoadesivas contendo
quitosana e pilocarpina para tratamento da xerostomia**

LAISA LIS FONTINELE DE SÁ

Teresina – Piauí

2018

LAISA LIS FONTINELE DE SÁ

Preparação, caracterização e avaliação de formulações mucoadesivas contendo quitosana e pilocarpina para tratamento da xerostomia

Tese a ser submetida à Coordenação do Curso RENORBIO da Universidade Federal do Piauí, como requisito para a obtenção do título de Doutora em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes.
Co-Orientador: Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho.

Teresina - Piauí

2018

FICHA CATALOGRÁFICA
Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco

S111p Sá, Laisa Lis Fontinele de.
Preparação, caracterização e avaliação de formulações mucoadesivas contendo quitosana e pilocarpina para tratamento da xerostomia / Laisa Lis Fontinele de Sá. – 2018.
142 f.

Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Piauí, Rede Nordeste de Biotecnologia, Teresina, 2018.
“Orientador: Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes”.
“Coorientador: Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho”.

1. Biotecnologia. 2. Mucoadesão. 3. Comprimidos.
4. Boca. 5. Xerostomia. I. Título.

CDD 660.6



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

FOLHA DE APROVAÇÃO – DEFESA DE TESE

ALUNA: LAISA LIS FONTINELE DE SÁ

TÍTULO DO PROJETO: "Preparação, caracterização e avaliação de formulações mucoadesivas contendo quitosana e pilocarpina para tratamento da xerostomia."

PROFESSOR ORIENTADOR: Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes

BANCA EXAMINADORA:	CONCEITO	ASSINATURA
Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes - UFPI (Presidente)	SATISFATORIO	
Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho - UFPI (Examinador)	SATISFATORIO	
Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto - UFPE (Examinador)	SATISFATORIO	
Profa. Dra. Maria das Graças Freire de Medeiros – UFPI (Examinadora)	SATISFATORIO	
Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho - UFPE (Examinador)	SATISFATORIO	

DATA DA AVALIAÇÃO: 26 de fevereiro de 2018.

HORÁRIO: 14h

LOCAL: Núcleo Integrado de Morfologia e Pesquisas com Células-tronco - NUPCelt/UFPI

LAISA LIS FONTINELE DE SÁ

Preparação, caracterização e avaliação de formulações mucoadesivas contendo quitosana e pilocarpina para tratamento da xerostomia

Tese submetida à Coordenação do Curso RENORBIO da Universidade Federal do Piauí, como requisito para a obtenção do título de Doutora em Biotecnologia.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes (Orientador)
Universidade Federal do Piauí- UFPI

Prof. Dr. Edson Cavalcante da Silva Filho (Membro Interno)
Universidade Federal do Piauí- UFPI

Profa. Dra. (Maria das Graças Freire de Medeiros (Membro Externo)
Universidade Federal do Piauí- UFPI

Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho (Membro Externo)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto (Membro Externo)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

RESUMO

Xerostomia, doença bucal caracterizada por diminuição ou ausência do processo de salivação, possui como tratamento farmacológico a Pilocarpina, administrada de forma oral, via de administração que, entretanto, relaciona-se a diversos efeitos adversos também debilitantes, incluindo dor de cabeça, aumento da sudorese e frequência de micção, etc. Comprimidos mucoadesivos aplicados à via bucal são formulações não convencionais, com muitas vantagens em relação às formas tradicionais, incluindo liberação sustentada e possível decréscimo de efeitos adversos. O estudo se propôs ao desenvolvimento desta tecnologia, incluindo quitosana como polímero mucoadesivo principal e sua associação com goma de cajueiro, carboximetilcelulose ou carbômeros. Num primeiro momento, uma revisão de literatura sobre a tecnologia de formulações adesivas foi delineada. Após, comprimidos de quitosana com os polímeros sintéticos foram desenvolvidos. Aquele que permitiu melhor comportamento, e uma liberação controlada da pilocarpina, foi a associação quitosana e carbômero, dosados por metodologia previamente validada por HPLC-DAD. Posteriormente, comprimidos de quitosana com goma de cajueiro foram desenvolvidos, e o processo diferenciado de obtenção da mistura foi determinante para o acréscimo nas propriedades mucoadesivas do material frente aos seus polímeros isolados ou a simples mistura física entre estes, resultando em formulação com 6h de liberação controlada da pilocarpina. Dessa forma, o trabalho consolida informações relacionadas ao desenvolvimento tecnológico deste sistema adesivo bucal, de liberação controlada, e demonstra a vantagem do polímero natural, goma de caju, no incremento de propriedades adesivas e controle de liberação do fármaco quando associado à quitosana. Todas as formulações desenvolvidas, seja com polímero sintético ou natural, resultaram em formulações aceitáveis para possível uso contra a xerostomia.

Palavras-chave: Mucoadesão, Comprimidos, Adesivos, Sistema de Liberação Controlada, Boca, Xerostomia

ABSTRACT

Xerostomia, oral disease characterized by a decrease or absence of the salivation process, has as its pharmacological treatment Pilocarpine, administered orally, route of administration, which, however, is related to several debilitating adverse effects, including headache, and increase in sweating and frequency of urination, etc. Mucoadhesive tablets applied to the oral route are unconventional formulations, with many advantages over traditional forms, including sustained release and possible decrease of adverse effects. This study aimed at the development of this technology, including chitosan as the main mucoadhesive polymer and its association with cashew gum, carboxymethylcellulose or carbomers. At first, a review of the literature on the technology of adhesive formulations was outlined. Afterwards, chitosan tablets with synthetic polymers were developed. The formulation with the best behavior, and a controlled release of pilocarpine, was the formulation containing chitosan and carbomer association, dosed by a methodology previously validated by HPLC-DAD. Subsequently, chitosan tablets with cashew gum were developed, and the differentiated process of obtaining the mixture was determinant for the increase in the mucoadhesive properties of the material against its isolated polymers or the simple physical mixture between them, resulting in a formulation with 6 hours of controlled release of pilocarpine. Thus, this work consolidates information related to the technological development of this controlled release adhesive buccal system and demonstrates the advantage of the natural polymer, cashew gum, the increase of adhesive properties and control of drug release when associated with chitosan. All formulations developed, either with synthetic or natural polymer, have resulted in acceptable formulations for possible use in the treatment of xerostomia.

Keywords: Mucodhesion, tablets, adhesives, controlled release systems, mouth, xerostomia.

LISTA DE ABREVIACOES

PLC = pilocarpina;

IPLC = isopilocarpina;

PCA = cido pilocrpico;

IPCA = cido isopilocarpico;

ACN = acetonitrila;

KH_2PO_4 = tampão di-hidrogenofosfato de potássio;

AAB = tampão de acetato de amnio;

MeOH = metanol; RP-C18 = coluna C18 com base em sílica de fase inversa;

RP-CP = coluna de sílica modificada com cianopropil em estado de fase reversa;

HILIC-CP = coluna de sílica modificada com cianopropil em condições de cromatografia líquida de interao hidrofílica;

CS = quitosana;

CBM = polímero acrílico carbomer 940[®];

CMC = carboximetilcelulose de sódio;

CG = goma de cajueiro;

MC = metilcelulose;

EC = etilcelulose;

HEC = hidroxietilcelulose;

HPMC = hidroxipropilmetilcelulose.

BLD = blenda de quitosana com goma de caju após processo de solubilização e liofilização;

PM = mistura física;

“Não há por que amar se não para semear conhecimento”

– Castello Branco

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
REFERENCIAL TEÓRICO	14
1. <i>Saliva: composição química e importância fisiológica</i>	14
2. <i>Anatomia e fisiologia da salivação: Sistema Adrenérgico e Colinérgico</i>	15
3. <i>Xerostomia: Fisiopatologia, Causas e Consequências</i>	17
4. <i>Tratamento da Xerostomia</i>	19
5. <i>Pilocarpina: Características químicas e propriedades farmacológicas</i>	20
6. <i>Tecnologia de desenvolvimento de comprimidos</i>	23
REFERENCIAS	27
CAPÍTULO 1	30
DELINEAMENTO DE COMPRIMIDOS MUCOADESIVOS BUCAIS: ESTRATÉGIAS PARA COMPREENSÃO E DESENVOLVIMENTO.	30
Resumo	31
Introdução.....	31
Material e Métodos.....	32
Resultados e Discussão.....	32
Conclusão	57
Referências	58
CAPÍTULO 2	65
DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UMA NOVA METODOLOGIA PARA QUANTIFICAÇÃO DE PILOCARPINA EM COMPRIMIDOS POR HPLC-DAD	65
Resumo	66
Introdução.....	67
Materiais e métodos.....	68
Resultados e discussão	72
Conclusão	81

Referencias	84
CAPÍTULO 3	86
CHITOSANA COMO PLATAFORMA PARA PREPARAÇÃO DE COMPRIMIDOS MUCOADESIVOS PARA LIBERAÇÃO MODIFICADA DE PILOCARPINA	86
Resumo	87
Introdução	88
Cultura celular, materiais e métodos	90
Conclusão	108
Agradecimentos	108
Referencias	110
CAPÍTULO 4	115
AVALIAÇÃO DE BLENDAS POLIMÉRICAS COMO NOVO EXCIPIENTE PARA ...	115
SISTEMAS MUCOADESIVOS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS	115
Resumo	116
Introdução	117
Material e Métodos	118
Resultados e Discussão	122
Conclusão	135
Referencias	136
CONCLUSÃO	139
PERSPECTIVAS	141
ANEXO 1	142
Carta de aceite do capítulo 1	142
ANEXO 2	143
Publicação do capítulo 2	143
ANEXO 3	144
PATENTE DO CAPÍTULO 4	144

INTRODUÇÃO

A xerostomia é a sensação subjetiva de boca seca resultante da diminuição ou interrupção da função das glândulas salivares, com alterações na quantidade e qualidade da saliva produzida. É ocasionada por algumas doenças ou condições deteriorantes das glândulas salivares, sendo frequente em pacientes oncológicos sob radioterapia ou quimioterapia, mais frequente para os tumores de câncer e pescoço, cuja localização é próxima das glândulas de maior relevância. Outra causa bem conhecida é a Síndrome de Sjögren (SS), doença auto-imune que também destrói células glandulares. De forma mais frequente, ainda, tem-se a xerostomia, em menor proporção, como efeito colateral a medicações comuns, como antihipertensivos.

Para o manejo destes pacientes, dentre os tratamentos hoje existentes, inclui-se agonistas colinérgicos como a pilocarpina, fármaco com atuação em receptores muscarínicos, incluindo o tipo M₃, com grande concentração em glândulas salivares, responsável por aumentar a secreção nas suas células. A comprovada ação dos agonistas colinérgicos, para a xerostomia, encontra um impasse quanto aos efeitos colaterais ocasionados por sua administração sistêmica, dentre eles sudorese, cefaléia, aumento de frequência urinária, lacrimejamento, rinite e palpitações. A observação de que o uso sistêmico do medicamento tende a promover reações adversas com maior intensidade e frequência que o uso tópico, além da baixa adesão ao uso de comprimidos orais, leva a necessidade da criação de formulações a serem aplicadas diretamente na mucosa bucal.

Uma alternativa para aumentar a eficácia biológica e reduzir a absorção sistêmica, com redução dos efeitos colaterais, é o desenvolvimento de formulações bioadesivas tópicas, dentre estas, os comprimidos ou discos bucais, apresentação de fácil aplicação que contribui para aumento da adesão em pacientes com dificuldade na deglutição, resultantes das feridas provocadas pela diminuição da salivação. Assim, considera-se que a tecnologia mucoadesiva aplicada a mucosa bucal, poderá ser alternativa relevante devido a proximidade desta com o local de ação.

Para o desenvolvimento de formulações adesivas, a aplicação de um polímero natural como a quitosana, amplamente produzida no nordeste brasileiro, a partir de carapaça de crustáceos, é uma opção considerada de grande relevância para o mercado regional.

Neste contexto, o trabalho “Preparação, caracterização e avaliação de formulações mucoadesivas contendo quitosana e pilocarpina para tratamento da xerostomia” visa o desenvolvimento de uma tecnologia mucoadesiva contendo quitosana, como agente adesivo, e

pilocarpina, como ativo farmacológico com ação silagoga. Somado a isto, incrementar o conhecimento hoje existente sobre a tecnologia de comprimidos mucoadesivos.

REFERENCIAL TEÓRICO

1. Saliva: composição química e importância fisiológica

A saliva é uma secreção mucoserosa, clara, levemente ácida, produzida a partir de grandes e pequenas glândulas salivares e a partir do fluido gengival. As grandes estão em menor número constituindo-se nos pares de glândulas parótidas, submandibulares e sublinguais, nas quais, noventa por cento de toda saliva é produzida. As glândulas salivares menores são estruturas presentes por toda cavidade oral e orofaringe, podendo também ser encontradas na laringe, traqueia e nasofaringe e podem ser estimadas em cerca de 700 a 900 glândulas, porém com menor importância para a quantidade de saliva produzida (Feio & Sapeta 2005; Guyton & Hall, 2006).

Como produto de glândulas exócrinas a saliva contém uma ampla variedade de produtos imunogênicos e não imunogênicos. Os primeiros são representados por Imunoglobulinas A, G e M, o segundo por proteínas, glicoproteínas, enzimas e eletrólitos (Feio & Sapeta 2005). A IgA é o principal anticorpo secretado, oferecendo proteção direta contra vírus, bactérias e fungos. Dentre as glicoproteínas destacam-se a mucina, molécula de alto peso molecular que confere viscosidade à saliva (Humphrey & Williamson, 2001). Quando em altas concentrações a mucina transforma a saliva na denominada secreção mucosa, entretanto, quando reduzida, há um aumento na concentração de proteínas, dentre elas, ptialina, transformando a saliva na denominada secreção serosa (Guyton & Hall, 2006).

O muco é um excelente lubrificante, mas também tem função protetora. Possui propriedades de aderência espalhando-se como uma película fina sobre a superfície bucal. Em pH normal da boca pode formar uma estrutura de gel fortemente coesiva que se liga com a superfície do epitélio como uma camada gelatinosa funcionando como uma barreira mecânica protetora. Dessa forma, permite o movimento relativo entre as células, e exerce importante papel na adesão de sistemas de liberação mucoadesivos (Cid, 2009). A mucina também desempenha uma função antibacteriana por modulação da adesão de microrganismos às superfícies dos tecidos orais, o que contribui para o controle da colonização bacteriana e fúngica (Humphrey & Williamson, 2001).

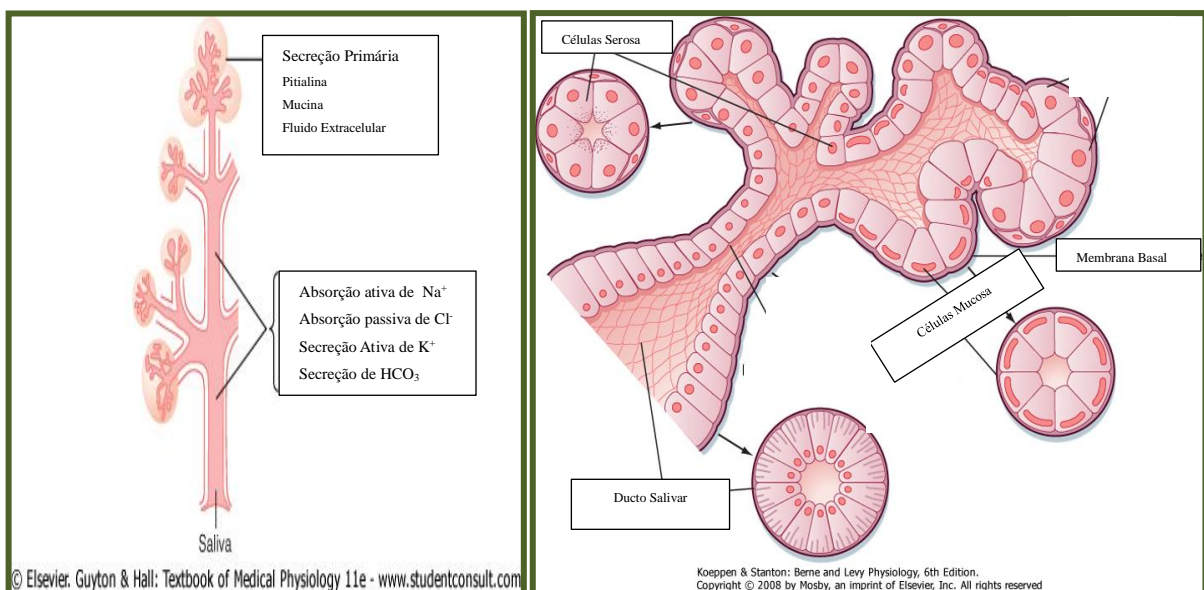
O efeito tampão e controle do pH é exercido pelos seus integrantes bicarbonato, fosfato, ureia, proteínas e enzimas. O principal é o bicarbonato que mantém o pH normal em torno de 6 a 7, variando entre 5,3 (em baixos fluxos salivares) e 7,8 (em picos de salivação) (Humphrey & Williamson, 2001).

Dessa forma, a saliva possui grande importância para a manutenção da saúde da boca e suas funções podem ser organizadas em cinco grandes categorias, incluindo lubrificação e proteção, solução tampão responsável pela integridade dos dentes, atividade antibacteriana, além de permitir a sensação do sabor e a digestão através da língua (Humphrey & Williamson, 2001).

2. Anatomia e fisiologia da salivacção: Sistema Adrenérgico e Colinérgico

As glândulas salivares são do tipo túbulo-acinosas sendo, portanto, formadas por ácinos e dutos, em que no primeiro ocorre a secreção inicial da saliva (secreção primária), que pode ser modificada no segundo, os dutos (secreção secundária). Uma unidade secretória é assim composta por uma porção secretora, formada por ácinos, e uma porção modificadora, formada por ductos intercalares, estriados e excretores, como mostra a figura 1 (Junqueira & Carneiro, 1995).

Figura 1 - Representação histológica e esquemática das células de uma glândula salivar.



Legenda: a- representação da secreção primária, desenvolvida nos ácinos e modificação desta nos ductos, por movimentos de absorção e secreção de eletrólitos (secreção secundária); b-tipos de células que compõem os ácinos e ductos (células serosas e mucosas)

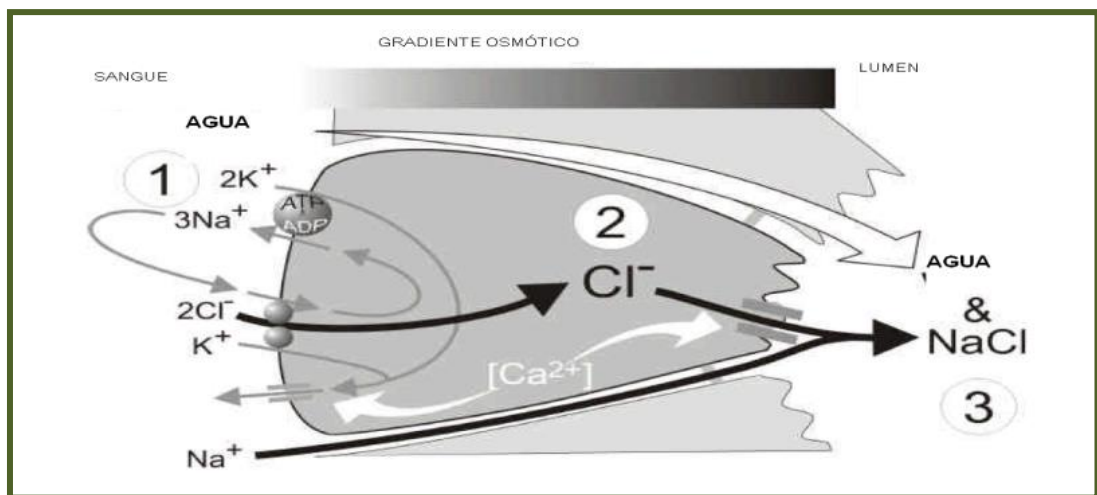
Fonte: Guyton e Hall, 2001; Koeppen & Stanton, 2008.

Os ácinos possuem uma rica irrigação sanguínea, como também finas fibras nervosas localizadas na membrana basal, responsável pelo predominante controle salivar. A inervação é

feita pelo sistema nervoso autônomo, simpático e parassimpático, sendo o segundo mais importante na salivação e funções digestivas em geral (Douglas, 2002).

O sistema parassimpático libera acetilcolina em receptores muscarínicos M_3 , que estimulam a produção de segundos mensageiros relacionados com o aumento intracelular de Ca^{2+} . Isso ocorre com a conversão do fosfatidilinositol - 4,5 - bifosfato (PIP_2) em trifosfato de inositol (IP_3) e diacilglicerol (DAG), onde IP_3 liga-se a receptores específicos localizados no retículo endoplasmático resultando na difusão de Ca^{2+} para o citoplasma. O aumento da concentração intracelular de Ca^{2+} induz a ativação de transporte ativo das bombas de Cl^- , na tentativa de equilibrar a voltagem da célula. O aumento da concentração intracelular de Ca^{2+} irá ativar também o canal de K^+ que mantém o potencial de membrana com altos valores negativos e então preserva a força de efluxo do Cl^- para o lúmen da glândula salivar. Dessa forma, o Na^+ atravessa a célula acinar para manter a eletroneutralidade no lúmen. Esse movimento de Na^+ e Cl^- cria um gradiente osmótico através do tecido e a água é então difundida para o lúmen, resultando na produção de uma saliva fluida, como mostra a figura 2 (Edgar, et al., 2004).

Figura 2 - Secreção fluida: mecanismo de secreção e concentração eletrolítica da saliva.



Legenda: O aumento de Ca^{2+} intracelular, decorrente da estimulação do parassimpático, resulta em desequilíbrio eletrolítico na célula acinar, revertido com ativação de canal de Cl^- , transportado até o lúmen e consequente deslocamento de sódio (Na^+) e água para este - Produção da saliva flúida.

Fonte: Edgar et al, 2004.

A importância do sistema adrenérgico se dá principalmente na etapa de expulsão da saliva previamente produzida. Na base das células glandulares estão presentes as células

mioepiteliais, estas se localizam preferencialmente entre a membrana basal e as células acinosas, tendo propriedade contrátil realizada por um sistema de proteínas intracelulares, semelhantes à actina e miosina. Quando as células mioepiteliais se contraem, estimuladas pelo sistema simpático adrenérgico, ocorre expulsão da saliva produzida e já previamente formada (Douglas, 2002; Junqueira & Carneiro, 1995).

Além disso, o sistema simpático atua também na ativação de receptores β adrenérgicos nas células acinares, com produção de segundos mensageiros que estimulam a migração de vesículas secretórias para a extremidade da membrana celular, ocasionando a liberação proteica nos túbulos secretórios (Edgar et al., 2004).

3. Xerostomia: Fisiopatologia, Causas e Consequências

Xerostomia afeta milhões de pacientes em todo o mundo. Sua prevalência depende da população examinada e varia entre 12% e 30%. Os resultados de estudos clínicos sugerem que esse problema afeta principalmente homens acima de 65 anos e mulheres na menopausa. No entanto, a xerostomia também é diagnosticada em aproximadamente 20% de indivíduos de 18 a 34 anos (Tanasiewicz, Hildebrandt, & Obersztyn, 2016; Mortazavi et al., 2014).

O termo xerostomia é frequentemente usado para referir alterações qualitativas ou quantitativas no fluxo salivar, o que pode afetar desfavoravelmente a saúde bucal, com atrofia, ulcerações da mucosa, cáries e outras infecções, resultando em redução na qualidade de vida dos pacientes. Às vezes, a xerostomia é referida como hipossalivação; no entanto, esses dois termos não são sinônimo e não devem ser usados de forma intercambiável. A hipossalivação refere-se apenas à diminuição da secreção de saliva devido a influências externas ou internas, enquanto a xerostomia engloba o efeito final da drenagem salivar, isto é, o processo de sua evaporação, absorção por membranas mucosas, ausência de produção ou a eliminação por deglutição (Tanasiewicz, Hildebrandt, & Obersztyn, 2016).

A hipossalivação ou hipoptialismo, caracterizada pela redução na quantidade normal de saliva é uma das causas mais frequentes da xerostomia (sensação de “boca seca”), que resulta num quadro desconfortável de sede frequente, dificuldade em engolir, falar, ingerir comidas “secas”, dor e irritação da mucosa e sensação de queimação na língua (Turner, Jahangiri & Ship, 2008). Esta hipossalivação pode decorrer de vários processos fisiológicos, entretanto, destaca-se de forma mais frequentemente descrita, exocrinopatias autoimunes (Síndrome de Sjogren) e tratamentos com radiações ionizantes de cânceres da cabeça e pescoço. Estas condições estão relacionadas a perda progressiva de células das glândulas salivares, resultando

em redução da eficiência da produção salivar e salivação (Tanasiewicz, Hildebrandt, & Obersztyn, 2016).

A Síndrome de Sjogren (SS) é uma doença autoimune que afeta acima de 4 milhões de pessoas nos Estados Unidos, na qual, a xerostomia é um dos sintomas marcadamente mais presentes, sendo a função salivar reduzida aproximadamente para 50% do normal (Guggenheimer & Moore, 2003; Fox, 2008). Trata-se de doença sistêmica inflamatória crônica, na qual as glândulas lacrimais e salivares são os principais órgãos afetados pela infiltração linfoplasmocitária, decorrentes da hiper-reatividade dos linfócitos B, que se convertem em plasmócitos e produzem anticorpos contra antígenos do epitélio dos ácinos e dos ductos das glândulas exócrinas. Embora avanços recentes tenham ocorrido na elucidação da fisiopatologia da SS, muitos pontos permanecem obscuros (Felber e Dantas, 2006).

A radioterapia, como tratamento do câncer de cabeça e pescoço, também se destaca por causa da quantidade de pessoas acometidas e pela severidade dos danos causados na mucosa oral. Nos Estados Unidos, esse tratamento é realizado em cerca de 40.000 indivíduos por ano e causa a morte de células glandulares saudáveis e consequente alteração na função das mesmas, incluindo danos genéticos que induzem a morte celular programada. Esse tratamento resulta na produção de uma saliva escassa e frequentemente viscosa além de ocasionar danos severos na mucosa oral, incluindo infecções, perda dental, osteonecrose, dentre outros, influenciando diretamente na qualidade de vida e sobrevivência dos pacientes (Fox, 1998; Pringle, Van Os, & Coppes, 2013).

O mecanismo que causa tais alterações foi extensivamente descrito, e apesar de continuar um enigma, vários estudos histológicos mostraram uma relativa radiosensibilidade das células serosas, principal constituinte das glândulas parótidas (responsável pela secreção fluida), em contraste com uma relativa radiorresistência das células mucosas (responsável pela secreção viscosa), presentes com maior frequência nas outras glândulas salivares. Dessa forma, é frequente a redução acima de 50% na função da parótida após poucos dias de irradiação com doses de 2,5-10 Gy na região da cabeça e pescoço, eventualmente excedendo 90%, com uma secreção residual com propriedades viscosas (Nagler, 2002). Uma hipótese sugerida para o mecanismo fisiopatológico está relacionada ao efeito que íons metálicos de transição, como Fe^{+2} e Cu^{+2} (radicais redox em meio fisiológico) que estão presentes nos grânulos das células serosas, possuem como agentes indutores de danos que levam a morte celular. Esses íons aumentam o efeito letal que a irradiação tem no DNA, resultando na morte de células em reprodução (Abok et al, 1984).

Além dessas duas condições características, o uso de diversos medicamentos, incluindo drogas anticolinérgicas, ou de outras classes, como antidepressivos tricíclicos, anti-histamínicos, antihipertensivos e diuréticos, também estão relacionados a redução da salivação, causando desconforto principalmente por serem medicamentos de uso contínuo (Jensen, 2016). Outros autores citam ainda a possibilidade de algumas doenças como HIV, Hepatite C, Diabetes Mellitus e Hipertensão, anemia de Addison-Biermer, síndrome de Parkinson, doença de Alzheimer, avitaminosis (B1, B2, B6 e B12), ou mesmo doença de enxerto vs. hospedeiro (GvHD), em mais de 20 doenças crônicas, também estarem relacionados a essa redução salivar com condição debilitante que caracteriza a xerostomia (Mortazavi et al., 2014).

Notório é a quantidade de pacientes que sofrem com esta condição e que muitas vezes nem a entendem como sintomatologia passível de tratamento. Algumas relacionadas a maior debilitação que outras, entretanto, trata-se de sintomatologia evidentemente com número alto de pacientes necessitando de uma terapia efetiva para seu tratamento.

4. Tratamento da Xerostomia

Várias estratégias de tratamento para o manejo da xerostomia foram propostas nos últimos anos e todos visam reduzir os sintomas dos pacientes, medidas paliativas, e / ou aumentar o fluxo salivar, estimulante salivar/ silagogos. As alternativas consideradas paliativas, que reduzem os sintomas e aumentam a qualidade de vida incluem hidratação adequada da boca, aumento da umidade durante a noite, a não utilização de dentifrícios irritantes e alimentação evitando as opções crocantes ou duras. Além destes, pacientes com esta condição, podem ainda utilizar estimulação mecânica da salivação a partir de gomas de mascar/ sem açúcar, ou ainda substitutos salivares, soluções tampões com pH e composição eletrolítica semelhante a salivar, para melhorar a hidratação realizada por estes pacientes (Villa, Connell & Abati, 2015).

Quanto aos estimulantes, incluem-se os agonistas colinérgicos, como a pilocarpina (Salagen[®]) e cevimelina (Evoxac[®]), comercialmente encontrados na forma de comprimidos (Xavier, 2004). Por sua ação colinérgica estimuladora das glândulas tem-se seu efeito indutor da salivação, cujo início é dado nos primeiros sessenta minutos a partir da ingestão do medicamento, perdurando por até três horas (Baptista neto, 2003). Os estimulantes salivares, apesar de necessitar primariamente que exista atividade residual das glândulas, são a alternativa mais eficaz no tratamento da xerostomia, pois trata a hipossalivação, evitando que problemas decorrentes da falta da saliva, se instale, incluindo desmineralização dental, infecções, úlceras

buciais, etc, ou mesmo permitindo a reversão desses efeitos pela retomada da salivação. Uma observação importante, entretanto, é que para pacientes irradiados para tratamento do câncer de cabeça e pescoço, ou pacientes com a doença autoimune da SS, o significativo dano às glândulas salivares torna necessário uma avaliação preliminar da função secretória salivar para justificar seu uso.

5. *Pilocarpina: Características químicas e propriedades farmacológicas*

A pilocarpina é comercializada como cloridrato ou nitrato, na forma de pó. Sua obtenção é por extração vegetal, a partir da planta, do tipo arbusto, conhecida pela denominação “jaborandi”, pertencentes à família Rutacea, que incluem várias espécies nativas e cultivadas no Brasil, incluindo a *Pilocarpus jaborandi*, *P. trachyllophus* e *P. microphyllus*. *Pilocarpus microphyllus* trata-se de um arbusto com altura média de 2 m, sendo considerada como o "jaborandi legítimo" ocorrendo com vasta prevalência na região meio-norte do Brasil (estados do Maranhão e Piauí), a partir da qual são extraídos os sais de pilocarpina (Lucio, Sharapin & França, 2002; Miura, 2009). A partir de espécies de jaborandi (*Pilocarpus sp*) já foram identificadas as estruturas de mais de 11 alcalóides além da pilocarpina, incluindo isopilocarpina, pilocarpidina, isopilocarpidina, pilosina, isopilosina, epiisopilosina, epiisopiloturina, etc. Alguns deles já tiveram as suas estruturas determinadas, porém ainda não possuem atividade farmacológica descrita, nem aplicações disponíveis no mercado para qualquer finalidade terapêutica, como tem a pilocarpina (Miura, 2009).

A pilocarpina (pKa 6,78) é um alcaloide imidazólico, com estrutura de uma amina terciária que em determinados meios fisiológicos, transforma-se em um composto de amônio quaternário carregado positivamente, que apresenta ação muscarínica e baixa ação nicotínica (Miura, 2009). O mecanismo de ação está relacionado à ligação reversível, não seletiva do fármaco aos receptores muscarínicos presentes em músculos lisos oculares, nos sistemas gastrointestinal, urinário, pulmonar e em glândulas salivares e sudoríparas, atuando como parassimpaticomimético (Miura, 2009).

Essa atuação fez do fármaco, tratamento de escolha para glaucoma e xerostomia: produz contração do músculo do esfíncter da íris e do músculo ciliar (quando administrado topicamente aos olhos) e aumenta a secreção pelas glândulas exócrinas. Hoje, sua principal ação, explorada comercialmente, é a atividade hipotensora ocular, que resulta num dos melhores tratamentos para o glaucoma. Quando aplicado topicamente ao olho como uma única dose, causa mioses, espasmos de acomodação e pode causar um aumento transitório da pressão

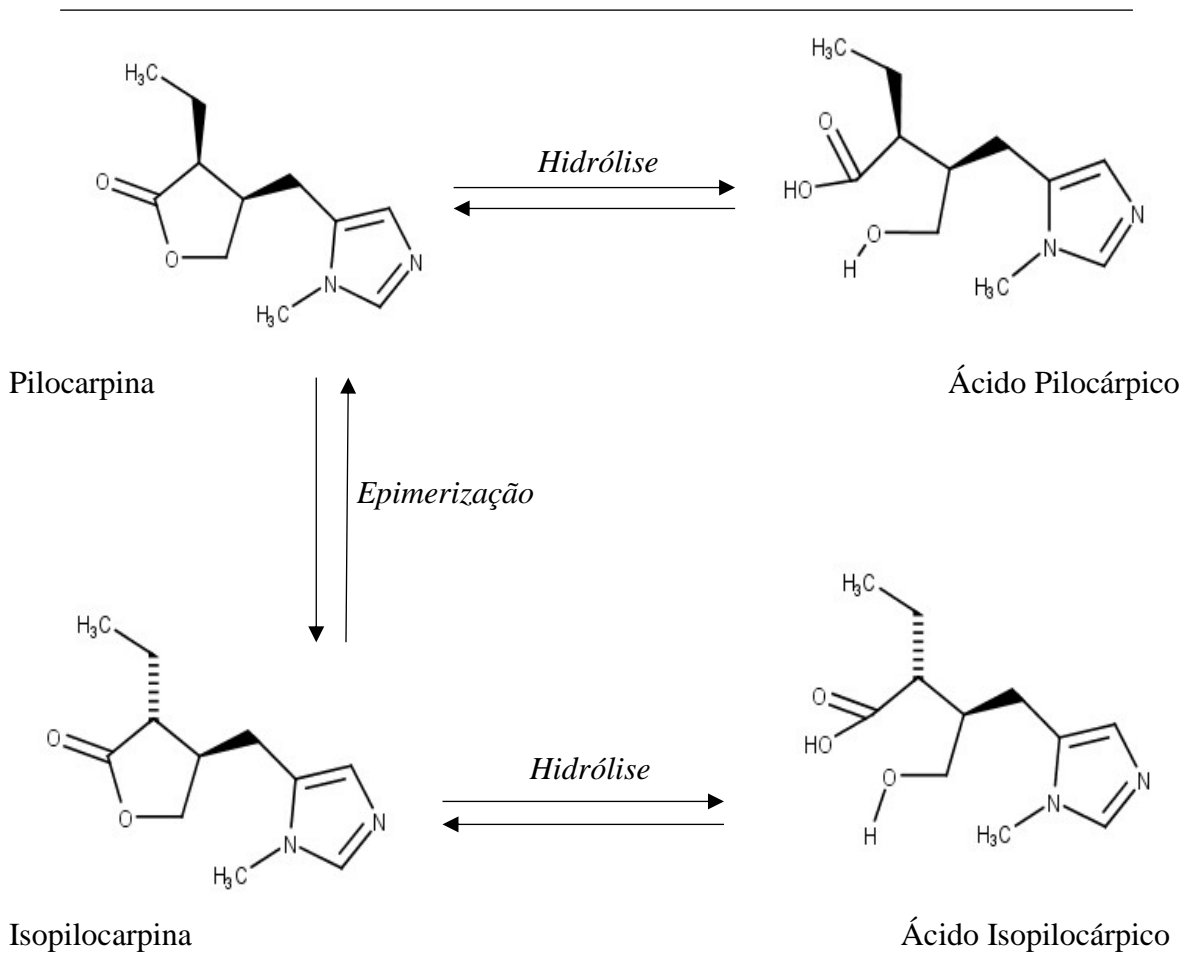
intra-ocular seguido de uma queda mais persistente. No Brasil, a única formulação comercializada contendo a substância, é a solução oftálmica, 1, 2 e 3%, para tratamento dessa patologia. Entretanto, por ser uma substância estimuladora de receptores colinérgicos, ela apresenta ainda outras ações, como estimulação das glândulas secretoras, relaxamento de esfínteres, estimulação do peristaltismo, dentre outras. Dessa forma, em dosagem apropriada, pode aumentar a secreção das glândulas exócrinas, sudoríparas, salivares, lacrimais, gástricas, pancreáticas e intestinais e as células mucosas do aparelho respiratório. Esta atuação faz deste fármaco tratamento de escolha também para xerostomia, apesar de não explorado comercialmente no Brasil para essa finalidade (Pappano, 2006; Santana, 2009; Miura, 2009).

Efeitos adversos relacionados ao seu uso incluem a estimulação do músculo liso do trato intestinal, relacionada à dose utilizada, podendo levar a aumento do tonus, da motilidade, causando espasmos. O tonus do músculo liso brônquico também pode aumentar. Pode ocorrer aumento da motilidade do trato urinário, vesícula biliar e músculo liso do ducto biliar. No sistema cardiovascular, a pilocarpina pode ter efeitos paradoxais. O efeito esperado de um agonista muscarínico é vasodepressão, mas a administração de pilocarpina pode produzir hipertensão após um breve episódio de hipotensão, sendo relatados em alguns casos de sobredosagem, bradicardia e taquicardia (Kim et al., 2014; Pubchem, 2017).

Portanto, ele deve ser usado com precaução em pacientes com asma, doença pulmonar crônica e distúrbios cardiovasculares, e está contra-indicado para pacientes com asma aguda e glaucoma de ângulo fechado. Assim, a pilocarpina pode ser uma droga útil para o tratamento da xerostomia, mas seus efeitos adversos restringem seu uso em algumas condições (Kim et al., 2014).

Quimicamente, trata-se de um pó na forma de cloridrato ou nitrato de pilocarpina, de coloração branca, e peso molecular 208,261 g/mol para a base livre. Possui alta solubilidade em água (1.000.000 mg/L (25 °C)) com valor de coeficiente de partição dado em LogP 1,1 (PubChem, 2017). Quanto a estabilidade química, a pilocarpina é uma substância sensível à temperatura, à luz, e ao pH e a degradação dela em solução aquosa ocorre por hidrólise ou por epimerização. A competição das duas rotas de degradação é dependente destes dois fatores, como pode ser observado na Figura 3. A estabilidade da pilocarpina decresce com o incremento de pH e sobretudo com elevadas temperaturas. O aumento de temperatura faz com que a epimerização ocorra em maiores proporções do que a hidrólise (Barnabé, 2008).

Figura 3. Estrutura química da pilocarpina e seus produtos de degradação.



Fonte: Adaptado de Barnabé, 2008.

A administração sistêmica de cloridrato de pilocarpina deu origem aos comprimidos, cuja referência no mercado é a marca Salagen[®] (EISAI INC., Indústria Japonesa), com patente depositada no escritório americano em 22 de março de 1994, e aprovada pela Food and Drug Administration (FDA) para tratamento da xerostomia no mesmo ano (Rocha, 2006; Braga et al. 2009; PubChem, 2017). Como comprimido de administração oral, Salagen[®] possui administração recomendada em dose única diária de 5 mg ou 10mg. A meia-vida de eliminação média é de 0,76 horas para a dose de 5 mg e 1,35 horas para a dose de 10 mg. Os valores de tempo para atingir concentração máxima foi de (Tmax) 1,25 horas e 0,85 horas, respectivamente. Os valores de Cmax foram 15 ng/mL e 41ng/mL, respectivamente (DrugBank, 2017).

6. Tecnologia de desenvolvimento de comprimidos

Comprimidos são formas farmacêuticas sólidas contendo um ou mais princípios ativos acrescidos de adjuvantes farmacêuticos (excipientes). Sua administração é convencionalmente oral, sendo necessária a ingestão de água para deglutição. Cerca de 80% das formas farmacêuticas produzidas atualmente são comprimidos, representando grande parte do alto faturamento da indústria farmacêutica. Trata-se de apresentação farmacêutica amplamente difundida na população, com grande aceitação, dada a facilidade de manuseio, de administração, e conservação já que podem ser administrados pelo próprio paciente e serem mantidos em temperatura ambiente. Apresentam vantagens por possuírem dosagem mais precisa e exata, alta estabilidade, quando comparadas às soluções, fácil administração, possibilidade de mascarar as características organolépticas, dentre outras (Ansel et al., 2000; Tooler & Schmidt, 2005).

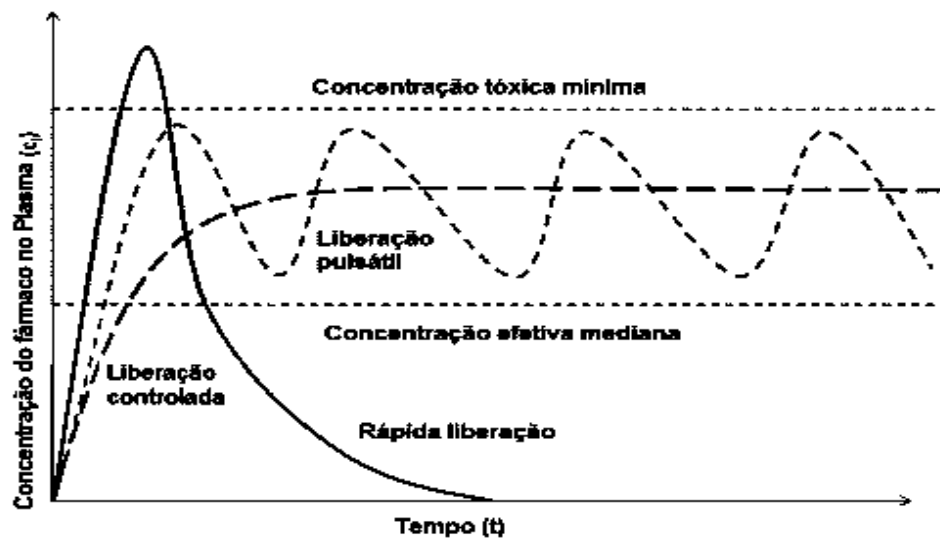
Existem vários tipos de comprimidos, classificados como convencionais ou de liberação imediata, ou aqueles de liberação modificada, que irão incluir em sua composição excipientes com propriedades de controlar a liberação do fármaco de seu interior, retardando-a, programando-a, direcionando-a, etc., tendo como objetivo, dentre outros, tornar a forma farmacêutica gastrorresistente, prolongar o efeito farmacológico, liberar o fármaco em local específico e reduzir os efeitos colaterais. Independente da forma, o comprimido desenvolvido deve ser capaz de liberar o fármaco no organismo de forma reprodutível e precisa (Tooler & Schmidt, 2005).

A figura 4 demonstra os processos de liberação das formulações descritas anteriormente, dando destaque para a diferenciação entre comprimidos convencionais de liberação imediata (rápida liberação), e comprimidos de liberação modificada (liberação pulsátil e controlada), sendo representado, na figura, por uma liberação que se mantém dentro da faixa terapêutica por longo período de tempo (Lanzillotti, 2012).

Comprimidos de liberação imediata são aquelas formas farmacêuticas que não são modificadas intencionalmente por um desenho de formulação especial e/ou método de fabricação (Brasil, 2011). Dessa forma, após deglutição, estes comprimidos chegam ao estômago para sofrerem processos de desintegração e desagregação com posterior liberação do princípio ativo para o meio estomacal, tornando-se dissolvido e apto para absorção sistêmica rapidamente (Serra & Storpirtis, 2007; Brasil, 2010). Nesta forma farmacêutica a dose total da substância ativa é disponibilizada rapidamente após sua administração; em ensaios *in vitro* apresenta, em geral, dissolução média de no mínimo 75% da substância ativa em até 45 minutos.

Tal forma farmacêutica pode ainda apresentar tipos de dissoluções diferenciadas em rápida e muito rápida (Brasil, 2010). Liberação muito rápida são caracterizadas por valor igual ou superior a 85% de fármaco dissolvido em 15 minutos e liberação rápida, aquelas formulações com liberação de 85% do fármaco em até 30min (Brasil, 2010).

Figura 4. Cuva de relação entre concentração do fármaco na corrente plasmpatica e tempo de administração da formulação.



Fonte: Lanzillotti, 2012.

As formulações de liberação modificada são divididas na referida resolução em duas classes, sendo elas, liberação prolongada ou liberação retardada. A prolongada pode ser definida como preparações que permitem uma redução na frequência da administração do medicamento quando comparadas as formulações convencionais, cuja substância ativa é disponibilizada gradualmente da forma farmacêutica por um período de tempo prolongado, segundo definição da Farmacopéia Brasileira. Já a reardada apresenta liberação modificada em que a substância ativa é liberada em um tempo diferente daquele imediatamente após a sua administração. As preparações gastroresistentes são consideradas forma de liberação retardada, pois são destinadas a resistir ao fluido gástrico e liberar a substância ativa no fluido intestinal (Lanzillotti, 2012; Brasil, 2010).

A melhoria do desenvolvimento de sistemas de liberação modificada depende estritamente da seleção de um agente apropriado capaz de controlar a liberação do fármaco. Dentro das várias opções, os polímeros demonstram ser agentes versáteis e promissores para exercer tal função. Essa formulação é denominada de sistema matricial de liberação de

fármacos. A utilização de sistemas matriciais constituídos por polímeros intumescíveis representa uma estratégia de grande interesse para o desenvolvimento de formulações orais de liberação modificada, devido a inúmeras vantagens, destacando-se a capacidade de incorporação de altas concentrações de fármaco, baixo custo, produção que recorre a equipamentos e técnicas convencionais, além da obtenção de perfis de liberação do fármaco constantes e reproduzíveis. Além do controle da liberação, podem funcionar como adesivos para superfícies biológicas, sendo possível o desenvolvimento não só de formulações orais, mas também de formulações tópicas (Carbinatto, 2010)

A bioadesão é a denominação dada para a ligação entre sistemas transportadores de fármacos e a superfície de uma membrana biológica. Quando essa membrana biológica é revestida por muco, caso da mucosa oral, o fenômeno passa a ser chamado de “mucoadesão”. Essa propriedade é definida como um sistema de controle de liberação de fármacos, em que estes estão dispersos, por exemplo, numa matriz hidrofílica polimérica, e cuja ação relaciona-se diretamente com a capacidade e velocidade com que este se desprende ou libera desta matriz (Lyra, et al., 2007).

Os comprimidos bioadesivos bucais são formulações que ficam retidas na boca, destinados a dissolver lentamente na cavidade oral, onde liberam o fármaco. Esse pode apresentar efeito farmacológico no local da administração (uso tópico) ou ser absorvido através da mucosa, causando efeito sistêmico (Aguiar, 2007). Embora essa via também possa ser utilizada para a liberação sistêmica, a absorção percutânea é com frequência escassa. A mucosa bucal é formada por uma extensa área de tecido epitelial, revestido por muco, e numa camada mais interna, o tecido conjuntivo, de vascularização intensa, tornando a mucosa bucal de 4 a 4000 vezes mais permeável que a pele, porém, ainda menos intensa que a mucosa sublingual (Cid, 2009).

Os comprimidos são normalmente pequenos e planos, porque devem ficar alojados entre a bochecha e os dentes. Além disso, não devem conter desintegrantes (empregados para promover desintegração rápida em partículas menores), já que seu objetivo é a dissolução lenta na boca, que pode levar horas. E por fim, sua principal característica é a presença de mucoadesivos e matrizes poliméricas retardantes, que modificam e prolongam a liberação do fármaco (Aguiar, 2007).

Os mucoadesivos empregados na mucosa bucal são polímeros (macromoléculas com inúmeras subunidades estruturais repetidas) hidrofílicos, que formam líquidos viscosos quando hidratados com água, resultando em interações adesivas. Dentre os inúmeros polímeros mucoadesivos disponíveis, aqueles frequentemente utilizados são derivados celulósicos

(metilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose, carboximetilcelulose sódica), e polissacarídeos como gomas naturais, ágar, alginato de sódio, quitosana, etc. (Aguar, 2007; Lyra et al., 2007).

REFERENCIAS

- AGUIAR, M. M. G. B. *Desenvolvimento de novos comprimidos bucais de nistatina para o tratamento da candidíase oral*. 2007. Dissertação de Mestrado- Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.
- ANSEL, H. C.; POPOVICH, N.G.; ALLEN JUNIOR, L. V. *Farmacotécnica: formas farmacêuticas & sistemas de liberação de fármacos*. 6.ed. São Paulo: Premier, 2000.
- BAPTISTA NETO, C. *Avaliação do uso da pilocarpina em pacientes submetidos à radioterapia na região de cabeça e pescoço para controle da xerostomia*. 2003. Dissertação de mestrado– Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
- BARNABÉ, É. C. *Extração de pilocarpina e epiisopiloturina de jaborandi utilizando processos envolvendo solventes supercríticos*. 2008. Dissertação de Mestrado- Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Farmacopéia Brasileira*. 5. ed. Brasília, DF, 2010.
- CARBINATTO, F. M. *Matrizes poliméricas reticuladas de alta amilose e pectina para liberação controlada de fármacos*. 2010. Dissertação de Mestrado- Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2010.
- CID, Y. P. *Desenvolvimento de sistemas de liberação mucoadesivos para o celecoxibe na quimioprevenção do câncer oral: influência da azona como promotor de penetração*. Dissertação de Mestrado- Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2009.
- DOUGLAS, C. R. *Fisiología de la Secreción Salivar*. In: *Tratado de fisiología aplicada a fonoaudiología*. Brasil: Ed. Robe, p. 324-336, 2002.
- DRUGBANK. *FDA label informations: SALAGEN® tablets*. 2002. Disponível em: <https://s3-us-west-2.amazonaws.com/drugbank/fda_labels/DB01085.pdf?1265922795>. Acesso em: 31/10/2017.
- EDGAR, M.; DAWES, C.; O'MULLANE, D. *Saliva and Oral Health*. 3. Ed. London: British Dental Journal, 2004.
- FELBERG, S.; DANTAS, P. E. C. Diagnóstico e tratamento da síndrome de Sjögren. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*. v.69, n.6, p.959-963, 2006.

- FEIO, M.; SAPETA, P. Xerostomia em cuidados paliativos. *Acta Médica Portuguesa*. v. 18, p. 459-466, 2005.
- FOX, P. C. Acquired salivary dysfunction: drugs and radiation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, New York, v.842, n.1, p. 132-137, 1998.
- FOX, P. C. Xerostomia: recognition and management. *Dental Assistant*, v. 77, n. 5, p. 18-20, 2008.
- GUGGENHEIMER, J.; MOORE, P. A. Xerostomia: etiology, recognition and treatment. *The Journal of the American Dental Association*, v. 134, n. 1, p. 61-69, 2003.
- GUYTON, A. C.; HALL, J. E. *Tratado de fisiologia médica*. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.
- HUMPHREY, S. P.; WILLIAMSON, R. T. A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *The journal of prosthetic dentistry*. n 2, v. 85, 2001.
- JENSEN, S. B. et al. A Guide to Medications Inducing Salivary Gland Dysfunction, Xerostomia, and subjective Sialorrhea: A systematic Review Sponsored by the World Workshop on Oral Medicine VI. *Durges R.D.*, v.17, n.1, p. 1-28, 2016.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO. J. *Histologia Básica*. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995.
- KIM, J. H.; AHN, H. J.; CHOI, J. H.; JUNG, D. W.; KWON, J. S. Effect of 0.1% pilocarpine mouthwash on xerostomia: double-blind, randomised controlled trial. *Journal of oral rehabilitation*, v. 41, n. 3, p. 226-235, 2014.
- KOEPPEN, B. M.; STANTON, B. A. *Berne and Levy Physiology E-Book*. 7. Ed. Elsevier Health Sciences, 2017.
- LANZILLOTTI, P. F. *Sistemas para a liberação modificada de fármacos. Trabalho de conclusão de curso*. Trabalho de conclusão de Especialização- Fiocruz, Instituto de tecnologia em fármacos. Rio de Janeiro, 2012.
- LUCIO, E. D. A.; SHARAPIN, N.; FRANÇA, H. S. Estudo de alcalóides de *Pilocarpus pennatifolius* Lemaire. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 12, p. 130-131, 2002.
- LYRA, M. A. M.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; BRASILEIRO, M.T. Sistemas Matriciais Hidrofílicos e Mucoadesivos para Liberação Controlada de Fármacos. *Latin American Journal of Pharmacy*. v.5, n.26, p. 784-93, 2007.
- MIURA, L. M. C. V. *Isolamento do alcalóide epiisopiloturina a partir da biomassa do jaborandi (Pilocarpus microphyllus) e a avaliação de suas atividades antibacteriana, antileishmania, antiviral, antiesquistossoma e sialagoga*. Dissertação de Mestrado-Faculdade de Biologia, Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, 2009.

- MORTAZAVI, H.; BAHARVAND, M.; MOVAHHEDIAN, A.; MOHAMMADI, M.; KHODADOUSTAN, A. Xerostomia due to systemic disease: a review of 20 conditions and mechanisms. *Annals of medical and health sciences research*, v. 4, n. 4, p. 503-510, 2014.
- PAPPANO, A. J. Drogas ativadores dos receptores colinérgicos e inibidores da colinesterase. In: KATZUNG, B.G. *Farmacologia básica e clínica*. 10. Ed. São Paulo: McGRAW-HILL, 2007.
- PRINGLE, S.; VAN OS, R.; COPPES, R. P. Concise review: Adult salivary gland stem cells and a potential therapy for xerostomia. *Stem cells*, v. 31, n. 4, p. 613-619, 2013.
- PUBCHEM. *Compound Sumary for CID 5910*. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/pilocarpine#section=Pharmacology-and-Biochemistry>>. Acesso em 31/10/2017.
- SANTANA, H. A. L. *Efeito de duas formulações de pilocarpina, solução para bochecho e sublingual, no tratamento da xerostomia induzida por radiação*. Dissertação de Mestrado- Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.
- SERRA, C. H. R.; STORPIRTIS, S. Comparação de perfis de dissolução da cefalexina através de estudos de cinética e eficiência de dissolução (ED%). *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v.43, n.1, 2007.
- TANASIEWICZ, M.; HILDEBRANDT, T.; OBERSZTYN, I. Xerostomia of Various Etiologies: A Review of the Literature. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, v. 25, n. 1, p. 199-206, 2016.
- TOLLER, A. B.; SCHMIDT, C. A. Excipientes à base de celulose e lactose para compressão direta. *Disciplinarum Scientia*, v. 6, n. 1, 2005.
- TURNER, M.; JAHANGIRI, L.; SHIP, J. A. Hyposalivation, xerostomia and the complete denture: a systematic review. *The Journal of the American Dental Association*, v. 139, n.2, p. 146-150, 2008.
- VILLA, A.; CONNELL, C. L.; ABATI, S. Diagnosis and management of xerostomia and hyposalivation. *Therapeutics and clinical risk management*, v. 11, p. 45, 2015.
- XAVIER, M. Traitement actuel de la xérostomie au cours du syndrome de Sjögren. *La Revue de Médecine Interne*, v. 25, p. 287–293, 2004.

CAPÍTULO 1

DELINEAMENTO DE COMPRIMIDOS MUCOADESIVOS BUCAIS: ESTRATÉGIAS PARA COMPREENSÃO E DESENVOLVIMENTO.

Laisa Lis Fontinele de Sá¹; Rita Figueira²; Antônio Ribeiro²; Francisco Veiga²; Edson Cavalcanti Da Silva Filho³; José Lamartine Soares-Sobrinho⁴; Lívio César Cunha Nunes¹

1 -Laboratório de Inovação Tecnológica e Empreendedorismo, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil; 2- Departamento de Farmácia, Universidade de Coimbra, Portugal; 3– Laboratório de Ciências dos Materiais, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Brasil; 4-Núcleo de Controle de Qualidade de Medicamentos e Correlatos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

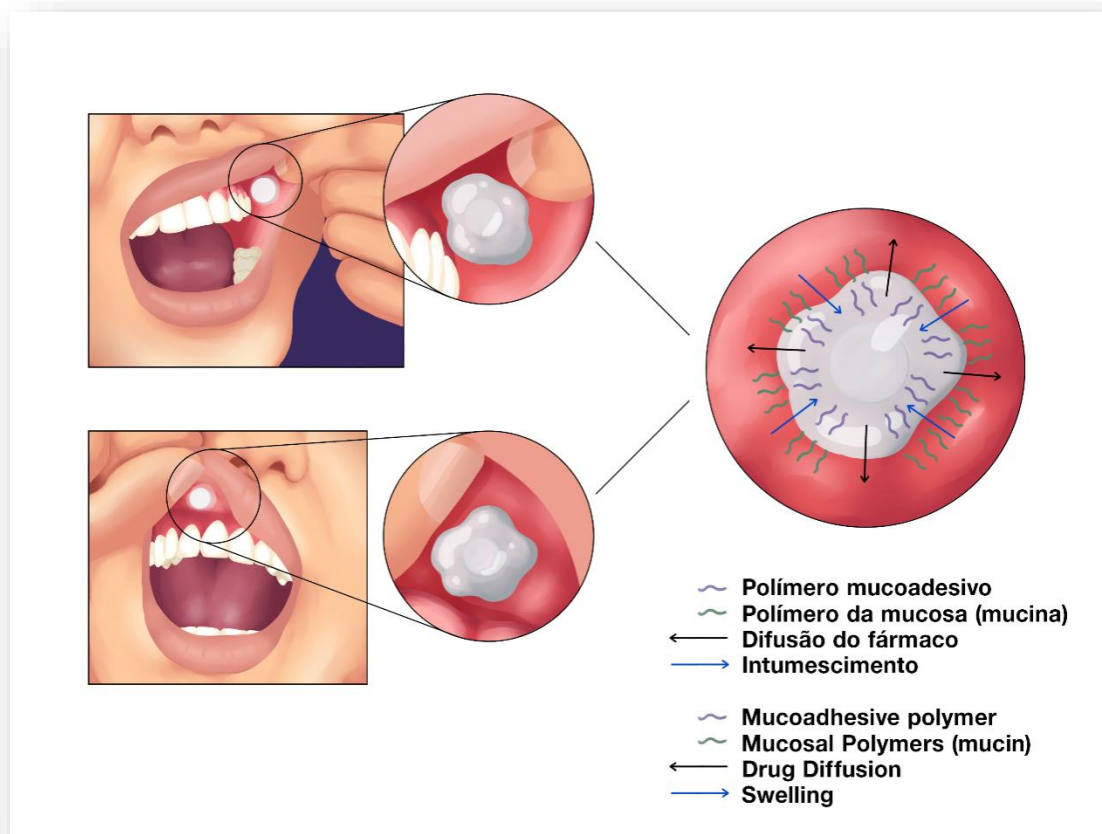


Gráfico síntese

Artigo publicado em: **Journal of applied pharmaceutical science**, Qualis B3 para Biotecnologia, JCR 0,287.

Resumo

Comprimidos mucoadesivos aplicados a via bucal são formulações não convencionais, com muitos atrativos tecnológicas. Apesar da diversidade de estudos desenvolvidos até o momento, não há consolidação e padronização das informações necessárias para seu desenvolvimento. O presente artigo busca avaliar, a partir de uma revisão sistemática com meta-análise, os dados relacionados a qualidade final desta tecnologia. É consenso o desenvolvimento de comprimidos bucais de 100 a 150 mg, incluindo fármacos solúveis, e mantendo a liberação sustentada por 6 horas ou mais. Os polímeros mais frequentes são os derivados da celulose, Carbopol (CBM), Quitosana (CS), e Gomas, sozinhos ou misturados, com força adesiva na ordem: CBM > Alginatos > derivados da celulose > Gomas. Dentre outros resultados, o artigo comprova que se destaca na qualidade desta tecnologia a análise minuciosa entre o polímero, as características físicas do comprimido, características físico-químicas do fármaco a ser incorporado e da região bucal em que este permanecerá em contato.

Palavras chave: comprimidos mucoadesivos; desenvolvimento tecnologico; administração bucal; bioadesão; polímeros mucoadesivos; liberação controlada.

Introdução

Comprimidos mucoadesivos são formulações não convencionais, com baixo número de produtos registrados por agências reguladoras, como FDA e ANVISA e disponibilizados para a população. Entretanto, com alto número de patentes e artigos utilizando a forma farmacêutica como opção em relação aos efeitos adversos originados a partir da administração por via oral. Trata-se de formulações que podem ser aplicadas em local pouco vascularizado, objetivando administração local, ou muito vascularizados, quando se objetiva absorção sistêmica; ao contrário de comprimidos orais cuja eficácia farmacológica depende necessariamente da absorção e distribuição sistêmica (Mansuri, 2016). As vantagens mais perceptíveis destas formulações consistem em direcionamento da ação do fármaco, liberação sustentada, aumento do tempo de residência da formulação, aumento da biodisponibilidade e decréscimo dos possíveis efeitos adversos (Reddy, 2015).

Apesar de formulação de interesse crescente pela indústria farmacêutica, sendo introduzida desde 1947, com o desenvolvimento de gel oralbase a partir da mistura de goma adraganta e pós dentais adesivos para aplicação de penicilina na mucosa oral, é ainda pouco regulamentada (Kaundal, Kumar & Chaudhary, 2015). As informações quanto a controle de

qualidade são obtidas quase que exclusivamente a partir de artigos científicos. A desvantagem é que essas informações não são, portanto, padronizadas nem sincronizadas.

Dentre outros fatores, comprimidos mucoadesivos devem garantir compatibilidade com a mucosa a qual permanecerá em contato, além de bom comportamento adesivo, para manter-se aderido durante o tempo necessário para sua administração. Além dessa característica, utiliza polímeros adesivos que além dessa propriedade, caracterizam-se por apresentarem uma malha molecular que aumenta seus poros paulatinamente de acordo com a capacidade de *sweeling* de cada polímero, resultando numa liberação retardada do fármaco veiculado por essa formulação. Essas formulações, portanto, possuem características de liberação variável em relação a composição da formulação e características químicas do fármaco. A facilidade de difusão do fármaco a partir da matriz polimérica para o meio externo é proporcional à sua solubilidade no meio, capacidade de ionização dentro da formulação, modificando a interação deste com a malha polimérica, dentre outras variáveis menos descritas até o presente (Kaundal, Kumar & Chaudhary, 2015).

Diante da importância e ao mesmo tempo complexidade desta tecnologia, o presente artigo busca avaliar e padronizar, a partir de uma revisão sistemática com meta-análise, os testes de caracterizações físico-químicas, e especificações para esta tecnologia aplicada a superfície da mucosa bucal.

Material e Métodos

Foi realizado um estudo de revisão sistemática com meta-análise utilizando as bases PubMed, Scopus e Elsevier. A base Cochrane também foi avaliada para confirmar se algum artigo de revisão com o mesmo tema já tenha sido realizado. Foi utilizado ainda os descritores, 'Mucoadhesive tablets', 'bucal', 'mucoadhesion' encontrados nos títulos dos artigos. Como critério de inclusão destaca-se artigos com formulações direcionadas para a mucosa oral, publicados a partir de 2013 até o presente, os quais foram agrupados por composição de polímero, tamanho e forma dos comprimidos, para uma análise detalhada de suas propriedades, tais como dureza, pH de superfície, tempo e força de mucoadesão, e tempo necessário para liberação de 40% e 60% da droga.

Resultados e Discussão

Com os termos 'mucoadhesion', 'tablets', e 'buccal' nas bases Pubed, Elsevier e Scopus, foram encontrados 42, 131 e 74 artigos respectivamente. Destes, 68 traziam dados

experimentais, compatível com a análise estatística proposta neste trabalho, o restante eram artigos de revisão. Os artigos experimentais incluíam o desenvolvimento de comprimidos mucoadesivos acrescidos de fármacos complexados com ciclodextrinas ou em nanopartículas, considerados variações mais complexas da forma farmacêutica mucoadesiva, influenciando nas análises de controle de qualidade, principalmente quanto ao perfil de liberação dos fármacos. Assim, apenas 52 artigos que abordavam o desenvolvimento de comprimidos mucoadesivos com a inclusão apenas de polímeros, ou mistura destes, e substâncias ativas, foram analisados e organizados na Tabela 1.

A maioria dos trabalhos encontrados visavam uma absorção sistêmica para prevenir o efeito de primeira passagem resultante da administração oral. Assim, dos artigos analisados, 30% foram para administração de anti-hipertensivos, 10% anti-histamínico, e 60% com classes diversas, menos frequentes (Figura 1). É frequente o uso da cavidade oral para aplicação de formulações contendo fármacos anti-hipertensivos, incluindo carvedilol, antagonista β adrenérgico cuja biodisponibilidade após administração oral, não é superior a 35% (Elbary, et al. 2015), e Felodipino, bloqueador de canais de cálcio que apesar de ser prontamente absorvido após administração oral, passa por extensivo efeito hepático de primeira passagem, influenciando na biodisponibilidade apresentada, não superior a 15% (Reddy, et al., 2015). Assim como estes, outros β -bloqueadores, nadolol, nebivolol, atenolol, propranolol, metoprolol, labetalol, antagonistas de receptores de angiotensina, losartana e candesartana, Inibidores da ECA (Enzima Conversora de Angiotensina), Lisinipril, e bloqueadores dos canais de cálcio, verapamil, também foram formulados em comprimidos mucoadesivos visando aumentar sua biodisponibilidade. Apenas aqueles fármacos relacionados a controle de infecções e inflamação, com AINES, antissépticos e antifúngicos, ou ainda para efeitos anestésicos, foram produzidos para obtenção de ação local, não passando de 5 artigos no total.

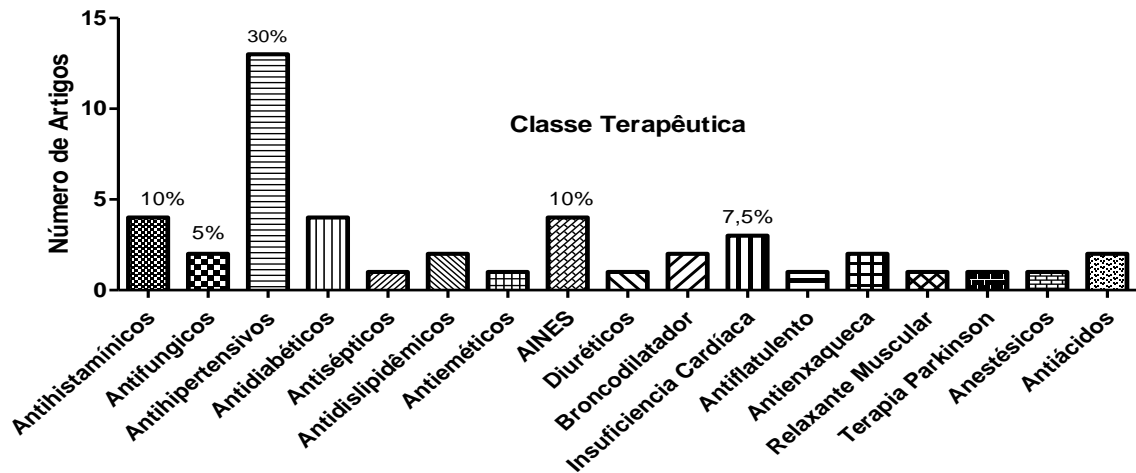
Tabela 1. Composições de comprimidos mucoadesivos desenvolvidas de 2012 a 2016.

Via de Administração	Composição Polimérica	Princípio Ativo	Referências
Mucosa bucal (ação sistêmica)	Mucilagem da Jaca, CBM e Mucilagem de Calêndula, Xanthan gum, HPM	Clorfeniramina	Sabale et al., 2012; Sabale et al., 2014
	HPMC, CBM, CMC, pectina, alginatos	Losartana	Velmurugan et al., 2013b
	CMC, CBM	Prometazina	Chopparapu et al., 2012
	CMC, CBM, HPMC, Alginato, EC	Nebivolol	Shirsand et al., 2013
	Xanthan gum, Tamarid gum, Gellan Gum and CS	Rosuvastatina	Panchal et al., 2012
	CBM, Guar Gum, CS, HEC	Furosemida	Umarji et al., 2012
	CBM, HPMC e EC	Atenolol	Shirsand et al., 2012
	Goma Guar e EC	Terbutalina	Kulkarni et al., 2013
	Quitoasana, Goma Xantana, Gelatina e HPMC	Ondansetrona	Azhar et al., 2012
	Goma Xantana, EC	Salbutamol	Kulkarni et al., 2012
	CMC, CBM, EC	Carvedilol	Elbary et al., 2015
	CBM, HPMC, Alginato	Nitroglicerina	Kumar et al., 2014
	CS/Gelatina (micropartículas)	Propanolol	Abruzzo et al., 2015
	Alginato e HPMC	Domperidona	Pandey et al., 2014
	HPMC, CMC, CS	Lisinopril	Hussein et al., 2013
	CBM, HPMC, CS	Glimepirida	Bhanja et al., 2013a, Bhanja et al., 2013b
	Goma Badam	Metoprolol	Mylangam, 2016
	CBM, CMC, HPMC, Alginato, Goma Guar, HEC	Felodipino	Acholu et al., 2014 Reddy et al., 2015b
	CMC e Extrato de <i>Momordica charantia</i>	Glicazida	Saravanakumar et al., 2014
	CBM, CS, Goma Guar, HPMC e Alginato	Glipizida	Reddy et al., 2015a Velmurugan, et al., 2013a
CBM, CS, Goma Guar, Caseina, HPMC	Carvedilol	Fathima et al., 2015, Chaudhari et al. 2012	
CBM, HPMC, CMC, Goma Xantana	Trometamina	Shukr et al., 2014, Rao et al., 2014	
CBM, HPMC, Alginato	Nitroglicerina	Kumar et al, 2014	

Mucosa bucal (ação sistêmica)	CBM, CMC, HPMC	Candesartana	Vinay et al., 2015
	Goma Xantana, Goma de Tamarindo, Goma Gellan, CS, HPMC,	Rosuvastatina	Panchal et al., 2012, Krishnarajan et al., 2012
	Goma Guar, Goma de Karaya	Zolmitriptana	Khazaal et al., 2012
	Goma Xantana, CBM, HPMC, CS, Alginato	Timolol	Sheikh et al., 2012
	CS, HPMC	Labetolol	Shabaraya et al., 2012
	Alginato, Goma Guar	Candesartana	Vinay et al., 2015
	HPMC, CBM, CMC	Tizanidina	Harikrishnan et al., 2015
	Goma de Almondega	Selegilina	Wasnik et al., 2014
	Policarbofil Tiolado	Nadolol	Sandhyarani et al., 2014
	CBM, CS, CMC	Metoclopramida	Pawar et al., 2012, Pawar et al., 2015
	CBM, Alginato	Verapamil	Aboutaleb et al., 2013
	CBM, HPMC, HEC, CMC.	Sinvastatina	Chikate et al., 2014
	CBM, HPMC	Quetiapina	Potu et al., 2012
	HPMC, CBM, MC	Esomeprazol	Othman et al., 2013
	CBM, HPMC	Proclorperazina	Jain et al., 2016
CBM, HPMC, Alginato	Tapentadol	Reddy et al., 2013	
CBM, Alginato, CS, EC	Miconazol	Vazquez et al., 2012	
Proteínas do Leite e Hipromelose	Indometacina	Ikeuchi-Takahashi et al., 2013a, Ikeuchi-Takahashi et al., 2013b	
CBM, goma xantana, EC	Clorexidina	Moghimpour et al., 2012	
HPMC, Mucilagem de Cordia	Fluconazol	Singh et al., 2013	
HPMC, CMC, EC e CBM	Itraconazol	Sayeed et al., 2014	
CBM, HPMC, EC	Clotrimazol	Reza e Sara, 2014	
CBM, HPMC			

Legenda: Carbômero (CBM); Quitosana (CS); Carboximetilcelulose (CMC), Etilcelulose (EC), Hidroxietilcelulose (HEC), Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC).

Figura 1 – Quantidade de artigos por classe terapêutica dos fármacos inseridos em comprimidos mucoadesivos bucais.



Os artigos que falam da administração local, entretanto, justificam sua aplicação relacionando-a a menores efeitos adversos quando comparado com as formulações orais, por exatamente apresentar menor absorção sistêmica. Essa aparente ambiguidade, relacionada a maior biodisponibilidade oferecida pela cavidade oral e mesmo assim, menores efeitos adversos, não ocorre de forma simultânea. Está relacionada com a fisiologia das diferentes regiões da boca, cujas vascularizações determinam se a administração será prioritariamente sistêmica ou não (tópica ou bucal).

Existem quatro regiões eficazes para a administração de fármacos na cavidade oral, incluindo bochecha, palato, sublingual e gengival (Reddy et al., 2015). As administrações mais comuns encontradas nos artigos são sublingual (a forma farmacêutica permanecerá no chão da boca para uma administração sistêmica devido à alta vascularização da região), bucal (região interna da bochecha, conhecida como mucosa oral, com menor vascularização quando comparado à região sublingual e utilizada para administração local e/ou sistêmica) ou local, cujo objetivo é a ação farmacológica na boca (Khairnar and Sayyad, 2010; Patel et al., 2012; Reddy et al., 2015; Kaundal et al., 2015).

Na administração bucal as formas farmacêuticas sólidas geralmente ficam reservadas entre a gengiva e a bochecha (conhecido como sulco lateral ou bucal) para manterem-se fixas, prevenindo o deslocamento possível devido ao grande movimento que a cavidade oral possui naturalmente, como mostrado na Figura 3.

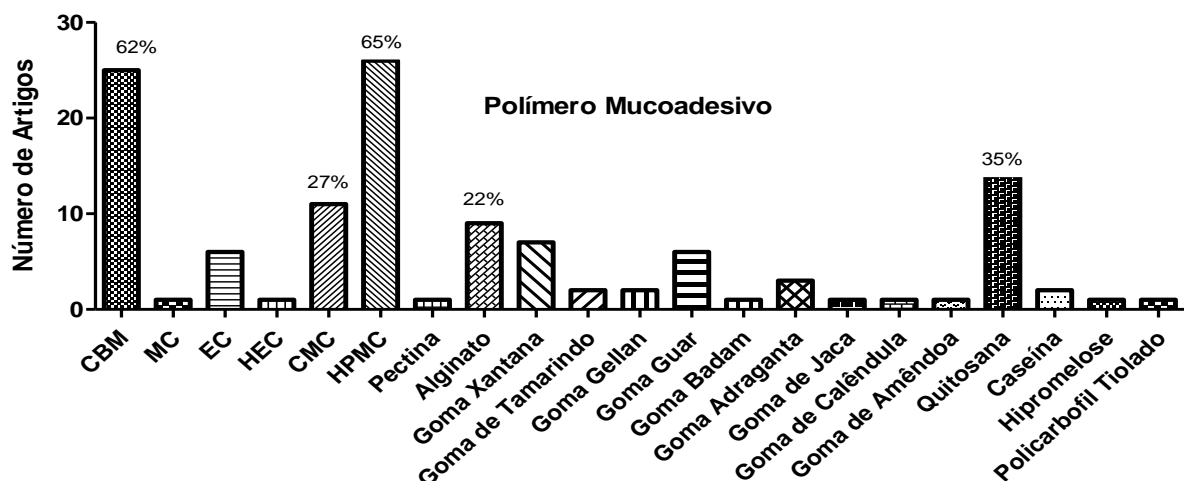
Trata-se, portanto, de uma via de administração em que o fármaco será absorvido em proporção menor que a sublingual, entretanto, maior que a administração tópica, tornando-se

ideal para liberação lenta e prolongada de fármacos, objetivando manutenção de efeitos farmacológicos por longos períodos sem a administração de uma segunda dosagem. A cavidade bucal trata-se, portanto, de uma via de administração com ampla aplicação tecnológica, dessa forma justificando a diversidade de fármacos encontrados nesses artigos.

Seguindo esse raciocínio, as especificações para comprimidos mucoadesivos será dependente, portanto, dos objetivos propostos com a formulação desenvolvida. Todos os 52 artigos analisados foram agrupados quanto aos polímeros e princípio ativo incorporado, separados por tipo de administração, se para absorção sistêmica ou local.

Os polímeros mucoadesivos utilizados incluíam alguns não convencionais, naturais ou não, dentre estes, proteínas do leite e hipromelose, mucilagem de jaca, calêndula e cordia, goma de tamarindo, policarbofil tiolado (Wasnik et al., 2014), além de alterações químicas da quitosana com adição de grupos tiois (Boatend & Ayensu, 2014). Estes polímeros, não convencionalmente aplicados com finalidade mucoadesiva foram encontradas em artigos isolados, os quais impossibilita realizar comparações com outros trabalhos. Os polímeros com mais artigos citando-os foram organizados na Figura 2. Destaca-se, portanto os derivados da celulose, Etilcelulose (EC), Metilcelulose (MC), Carboximetilcelulose (CMC), Hidroxietilcelulose (HEC), Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), Gomas (Xantana, Badam, Gellan, Guar e Alginato), Acrilatos e Quitosana.

Figura 2 – Proporção de polímeros mais utilizados para comprimidos mucoadesivos bucais.



Legenda: Carbômero (CBM); Quitosana (CS); Carboximetilcelulose (CMC), Etilcelulose (EC), Hidroxietilcelulose (HEC), Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC).

Algumas das características estruturais necessárias para polímeros bioadesivos incluem grupos capazes de formar ligação de hidrogênio, cargas fortes aniônicas ou catiônicas, peso molecular elevado, flexibilidade de cadeia e propriedades de energia de superfície que favoreçam sua interpenetração na camada de muco (Salamat-Miller et al., 2005; Figueiras e Veiga, 2009).

Vale destacar que as interações mucoadesivas na cavidade oral se dão entre os polímeros e as substâncias presente na superfície bucal. Esta superfície é recoberta por uma camada de muco, o qual é composto principalmente de água (95%), mas também sais, lipídios, fosfolipídios, colesterol, proteínas que servem para fins defensivos, como lisozima, imunoglobulinas, etc. No entanto, o principal componente, responsável pelas suas propriedades visco-elásticas é a glicoproteína mucina (Sogias et al., 2012). As mucinas são grandes glicoproteínas extracelulares com pesos variando de 0,5 a 20 MDa, altamente glicosilados consistido de 80% de carboidratos principalmente N-acetilgalactosamina, N-acetilglucosamina, fucose, galactose, ácido siálico (N-acetilneuramínico) e traços de manose e sulfato (Bansil et al., 2006). As principais interações mucoadesivas se dão, portanto, entre os polímeros e os carboidratos constituintes da mucina.

Vários estudos indicam que há uma máxima mucoadesão quando o tamanho molecular do polímero se encontra dentro da faixa de 10^4 a 4×10^6 g/mol. Quanto a flexibilidade da cadeia polimérica, é preferível que este possua cargas iguais nas suas unidades, permitindo repulsão entre estas, facilitando a abertura da cadeia e liberação do fármaco incorporado neste, durante o processo de intumescimento (Salamat-Miller et al., 2005; Figueiras e Veiga, 2009).

Dessa forma, é importante avaliar as características físico-químicas dos polímeros para escolher o mais adequado para a superfície de administração. Como a saliva é caracterizada por ser um tampão aquoso, com valores de pH normal entre 6,2–7,6 (Baliga et al., 2013), as características físico-químicas dos polímeros foram buscadas quanto a solubilidade, viscosidade e pH em água, dados agrupados na Tabela 2. Suas estruturas químicas podem ser visualizadas na Tabela 3, para facilitar o entendimento dos dados da Tabela 2.

Tabela 2 - Características físico químicas dos polímeros mucoadesivos mais utilizados para formulações bucais.

Polímero	Características Físico-químicas						
	Classificação	Carga	Mw (g/mol)	D (solução aquosa)	Solubilidade em água	β (g/cm ³)	pH (1% w/v solução aquosa)
EC	Semissintético	Não iônico	Δ	-	N	1.12-1.14	x
MC	Semissintético	Não iônico	Δ	5 – 75000 cPs a 25°C (2% de sol. Aq.)	Fria	0.25 – 0.7	5.0 -8.0
CMC	Semissintético	Aniônico	$9 \times 10^4 - 7 \times 10^5$	5 - 2000 cPs a 25°C (1% de sol. Aq.)	S	0.78	6.5 - 8.5
HEC	Semissintético	Não iônico	Δ	2 – 20000 cPs a 25°C (1% de sol. Aq.)	Fria ou quente	0.35-0.61	5.5 – 8.5
HPMC	Semissintético	Não iônico	Δ	100 – 80000 cPs a 20 °C (2% de sol. Aq.)	S	0.25 – 0.70	5.0 - 7.5
Goma Xantana	Natural	Aniônico	$\sim 1 \times 10^6$	1200 – 1600 cPs a 25°C (1% de sol. Aq.)	Fria ou quente	-	6.0 - 8.0
Goma Adraganta	Natural	Aniônico	$8,4 \times 10^5$	100 – 4000 cP a 20°C (1% de sol. Aq.)	N	-	5.0-6.0
Goma Guar	Natural	Aniônico	$\sim 2,2 \times 10^5$	4860 cPs a 25°C (1% de sol. Aq.)	S	1.49	5.5 - 7.5
Goma Alginato	Natural	Aniônico	$2,1 \times 10^5$	20 cP s a 20°C (0,5 % de sol. Aq.)	S	1.60	1.5 – 3.5 (3% w/v)
Acrilatos -Carbômeros	Sintético	Aniônico	$7 \times 10^5 - 4 \times 10^9$	29.4-39.4 cPs a 25°C (0.5% de sol. Aq.)	S	0.2-0.4	2.5 - 3.0
Quitosana	Semissintético	Catiônico	$1 \times 10^4 - 1 \times 10^6$	-	N	1.35 – 1.4	4.0 – 6.0

Fonte: PubChem® 2017; Rowe et al., 2009; Russo et al., 2016; Sogias et al., 2012; Figueiras e Veiga, 2009.

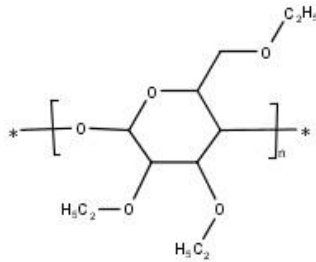
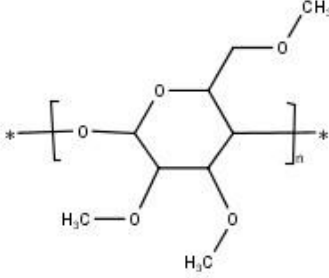
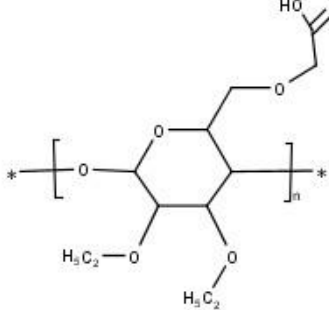
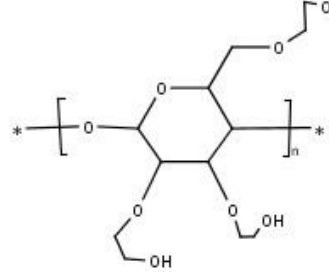
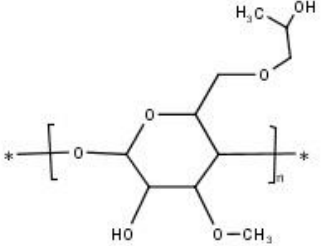
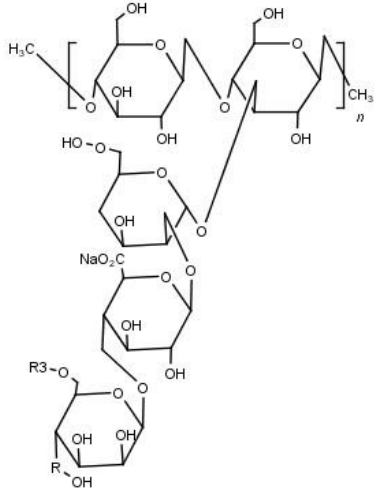
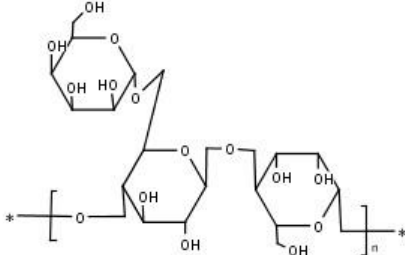
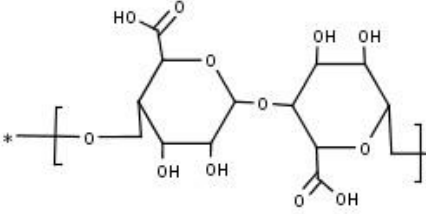
Legenda: Etilcelulose (EC); metilcelulose (MC), carboximetilcelulose (CMC); hidroxietilcelulose (HEC); hidroxipropilmetilcelulose (HPMC); viscosidade (η); densidade (β); Peso molecular (Mw); sim (s); não (n); variação (Δ); informação não encontrada (-);

Características físico-químicas dos polímeros mucoadesivos

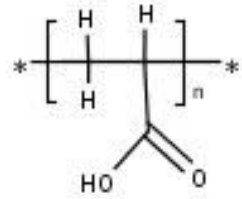
Estes polímeros são polissacarídeos, caracterizados pela presença de resíduos de monossacarídeos unidos por ligações O-glicosídicas. A grande diversidade de monossacarídeos, bem como as diferentes possibilidades de ligação, resultam em propriedades funcionais únicas para cada polímero. Estes polímeros também são chamados de hidrocolóides ou gomas e ocorrem na natureza como, componentes da parede celular, exsudados e substâncias extracelulares de plantas (como celulose e pectina), animais (quitina e quitosana) ou microorganismos (como alginatos e ágar obtidos por algas marinhas ou mesmo goma xantana e gelana, obtida a partir de polissacarídeos microbianos). Ao longo dos anos, a demanda por produtos naturais aumentou. As gomas, por exemplo, que foram um dos tipos de polímeros mais utilizados nos artigos estudados para compor formulações mucoadesivas bucais, têm o atrativo de ser um produto natural e de ter um custo mais acessível, justificando sua prevalência nos artigos analisados. Algumas das vantagens desse tipo de material sobre os polímeros sintéticos é que eles são potencialmente biodegradáveis e amplamente disponíveis (Avachat et al., 2011). No entanto, a modificação química fornece fontes adicionais de gomas com melhor funcionalidade (Izydorczyk, Cui & Wang, 2005).

Eles são frequentemente classificados de acordo com sua fonte original, como mencionado anteriormente. Entretanto para melhor compreender essas propriedades, nesse estudo eles foram organizados de acordo com suas características físicas e químicas, origem natural ou sintética, iônicos ou não iônicos, ou até mesmo de grau de uniformidade de monossacarídeos. Assim, selecionamos os derivados de celulose como um grupo com grande uniformidade em suas unidades monossacarídicas, outras gomas naturais sem essa característica, acrilatos como polímero sintético e iônico, e quitosana como um polímero semissintético e catiônico, incluídos nas Tabelas 2 e 3.

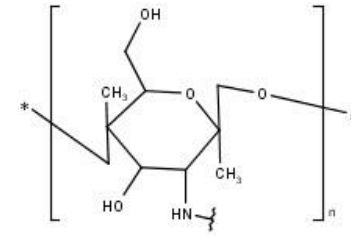
Tabela 3 - Estrutura molecular das unidades de repetição dos polímeros descritos

Derivados da Celulose				
Etilcelulose	Metilcelulose	Carboximetilcelulose	Hidroxietilcelulose	Hidroxipropilmetilcelulose
				
Gomas Naturais				
Xantana	Adraganta	Guar	Alginato	
	-			

Carbômeros/ Acrilatos



Quitosana



Legenda: - (Molécula com unidades de repetição muito grande, melhor descrita no texto)

Derivados da celulose

Etilcelulose é um polímero não iônico, insolúvel em água, formado por ligações acetais entre unidades de β -anidroglicose e com bastante variações entre os fornecedores, influenciadas pela quantidade de unidades e quantidade de grupamentos etoxílicos presente na molécula. Relaciona-se, portanto, o aumento no grau de etoxilação com seu comportamento mais viscoso (Rowe et al., 2006). Entretanto, tal valor não foi estabelecido para soluções aquosas, sendo amplamente citado em laudos técnicos de fornecedores a viscosidade de 10cPs em solução de tolueno:etanol (80:20), para o polímero com grau de etoxilação de 48-49%. Além desse parâmetro, também não foi identificado pH em soluções aquosas, já que se trata de polímero insolúvel (Figueiras e Veiga, 2009; Rowe et al., 2009).

Metilcelulose, também polímero não iônico, apesar de insolúvel em água, já é considerado capaz de formar uma dispersão coloidal, clara ou opalescente, através de dispersão lenta em água gelada (Rowe et al., 2009). Apresenta, ainda, variações do peso molecular entre 10000 a 220000g/mol, influenciando, portanto, nas amplas faixas encontradas para pH, viscosidade e densidade (Rowe et al., 2009).

Carboximetilcelulose apresenta solubilidade em água a qualquer temperatura e uma faixa de pH mais próxima da neutralidade, semelhante a cavidade bucal (Figueira e Veiga, 2009). É o primeiro polímero iônico descrito até então, com potencial de interações iônicas com o revestimento bucal. *Hidroxietilcelulose* e *hidroxipropilmetilcelulose* também são solúveis em água, com o primeiro apresentando a limitação a solução quente ou fria. O segundo apresenta radicais hidroxipropílicos e/ou metílicos nas hidroxilas da celulose, na qual, o grau de substituições determinará se o polímero será mais ou menos viscoso, entretanto, todos considerados solúveis em água. Trata-se de agente com maior viscosidade e faixas de pH mais ácidas (Rowe et al., 2009; PubChem®, 2017).

Os polímeros derivados da celulose são caracterizados por ampla faixa de peso molecular descritos na literatura e, portanto, diferentes materiais oferecidos por fornecedores químicos (Eagle CMC; Sigma-Aldrich; Shradanand Building, etc). Essa variação influencia diretamente nos outros parâmetros citados na tabela 2. Entretanto, vale notar que HPMC e MC são aqueles relacionados a maior viscosidade, obedecendo a ordem: CMC < HEC < MC < HPMC. EC o único que não terá solubilização no meio bucal, não foi encontrado valores de viscosidade em água para este.

Tal comportamento se relaciona, dentre outros fatores, com o tamanho molecular, com a solubilização do material em água, e as propriedades de energia de superfície que favoreçam a abertura da cadeia polimérica. Justifica-se, assim, a alta viscosidade para HPMC, polímero

não iônico com alto peso molecular e interações intermoleculares elevadas que dificultam a abertura da cadeia. E, ainda, a baixa viscosidade para o único polímero iônico derivado da celulose, CMC, com alta solubilidade devido à alta capacidade de promover interações eletrostáticas e de hidrogênio com a água, facilitando a abertura da cadeia (PubChem®, 2017).

Outra observação em destaque é que os radicais associados à celulose conferem poder de ligação iônica, interação de hidrogênio, ou ainda, interações hidrofóbicas, com os resíduos de mucina bucais em graus diferenciados. Num modelo teórico, os radicais metil e etil conferem interações hidrofóbicas, cabendo ao segundo, maior intensidade devido ao tamanho da cadeia. Hidroxipropil e Hidroxietil são capazes de interagir por ligações hidrofóbicas ou ainda de hidrogênio. Carboximetil é o único radical com a possibilidade de interação do tipo iônica, hidrofóbica e de hidrogênio, cabendo a este, alta capacidade adesiva. Teoricamente pode ser estabelecido uma relação do menor para o maior em relação a força das interações com a mucina de $MC < EC < HEC < HPMC < CMC$ (Russo et al., 2016).

Dentre a preferência nos artigos descritos, os derivados da celulose são bastante utilizados, com destaque para, HPMC, presente em 65% destes e CMC, em 27% destes (Figura 2).

Outras Gomas

Como explicado previamente, a grande variação estrutural nesse grupo pode resultar em interações menos previsíveis entre o princípio ativo a ser liberado e a membrana mucosa. Entretanto, por serem amplamente disponíveis na natureza se tonam uma alternativa muito útil para aplicação de formas mucoadesivas orais.

Goma Xantana é um polímero aniônico, solúvel em água e com alto peso molecular. Cada unidade de repetição contém 5 resíduos de açúcares: 2 glicoses, 2 manoses e 1 ácido glicurônico. O esqueleto de sustentação do polímero é formado por unidades de b-D-glucose ligados nas posições 1 e 4, com estrutura idêntica a celulose. Trissacarídeos nas cadeias laterais, alternando cadeias de glicose anidras, distinguem esta goma da celulose. Este trissacarídeo compreende um resíduo de ácido glicurônico, o qual confere caráter aniônico ao polímero, entre 2 unidades de manose (Rowe et al., 2009). É descrito como polímero de moderada mucoadesão devido seu alto poder de intumescimento. Além disso, é descrito como excelente matriz hidrofílica para liberação sustentada de fármacos, com perfil de liberação próximo da ordem zero (Park e Munday, 2004).

Goma Adraganta é uma goma natural obtida a partir do *Astragalus gummifer* Labillardiere e outras espécies de *Astragalus* cultivadas na Ásia Ocidental. Possui na sua

composição uma mistura de polissacarídeos solúveis e insolúveis, que lhe confere comportamento emulsificante. O Bassorin, ou ácido tragacântico, que constitui 60-70% da goma, é a principal porção insolúvel em água, e com alto poder geleificante, enquanto o restante da goma é constituído pelo material solúvel em água e neutro, tragacantina. Por hidrólise, a tragacantina produz L-arabinose, L-fucose, D-xilose, D-galactose e ácido D-galacturônico (Gavlighi, 2012). Trata-se de um polímero com alta viscosidade, inferior aos dos derivados da celulose, e a faixa de pH um pouco inferior a da cavidade bucal.

Goma Guar consiste em cadeias lineares de unidades (1, 4) -b-D-manopiranosilo com unidades a-D-galactopiranosilo ligadas por ligações (1, 6). A proporção de D-galactose para D-manose está entre 1: 1,4 e 1: 2. Esta é obtida a partir dos endospermas moídos de *Cyamopsis tetragonolobus* (L.) (Rowe et al., 2009; Kumar et al., 2012). Possui elevada viscosidade e faixa de pH próximo da neutralidade, além disso, um gosto levemente adocicado, diferente dos outros polímeros descritos, a maioria sem gosto algum, o que pode ser atraente para aplicação bucal (Rowe et al., 2009).

O *ácido algínico ou alginato* é um polissacárido aniônico, também chamado de algin e obtido nas paredes celulares de algas marrons. Sua composição é dada por uma mistura de ácidos poliurônicos compostos de resíduos de ácido D-manurônico e ácido L-glucurônico. O alginato de sódio é levemente solúvel em água e insolúvel em etanol e éter, com baixa viscosidade e valores de pH muito ácidos em relação a fisiologia bucal, entretanto, é um dos polímeros mais utilizados nos artigos analisados, com presença em 22% destes. Apesar da baixa viscosidade, é capaz de absorver 200-300 vezes seu próprio peso em água, sendo reportado seu uso em formulações mucoadesivas, retardando a liberação de cetoprofeno em torno de 8 h (Kumar et al., 2012).

Acrilatos

Também conhecidos como *Carbômeros*, são polímeros sintéticos de alto peso molecular derivados do ácido poliacrílico, com unidades de repetição do ácido acrílico reticulados com alil-sacarose ou alil-éteres de pentaeritritol (Russo et al., 2016). O peso molecular pode variar entre 10^5 a 10^9 g/mol, diferenciando-se diversas marcas disponíveis comercialmente, dentre elas, com 237 600 g/mol para Carbopol 941 e 104 400 g/mol para Carbopol 940. Em geral, os polímeros de carbômeros com menor viscosidade e menor rigidez terão valores de massa molecular mais elevados (Rowe et al., 2009).

Devido às suas excelentes propriedades mucoadesivas, com força de mucoadesão em torno de 17.6 N/cm^2 para filmes poliméricos, este polímero serve como referência de

mucoadesividade (Lehr et al., 1992). Em formulações do tipo comprimido, comparando-se as composições poliméricas de CMC, HPMC, Pectina e Quitosana, os Carbomeros 934 e 940 apresentaram valores 4x, 10x, 10x e 7x superior a estes, respectivamente. Entretanto, trata-se de polímero com faixa de pH, em solução aquosa, muito ácida, resultando em comprimidos com pH de superfície ácido, aspecto limitante para manter-se em contato por longas horas com algumas mucosas (Nafee et al., 2004).

Quitosana

Quitosana é um copolímero linear obtido a partir da desacetilação da quitina, polímero obtido principalmente a partir da carapaça de crustáceos. Apresenta ligação glicosídica β -(1,4) entre 2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose e 2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose, variando-se em tipos disponíveis comercialmente, com peso molecular entre 10^4 - 10^5 Da, e consequente grau de desacetilação e viscosidade variados. A viscosidade do polímero não foi encontrada para soluções aquosas, apenas para soluções ácidas, nas quais o polímero consegue solubilizar-se (ex: 260 cPs a 25°C em 1% de sol. Ac. Acético) (Rowe et al., 2009; Sogias et al., 2012).

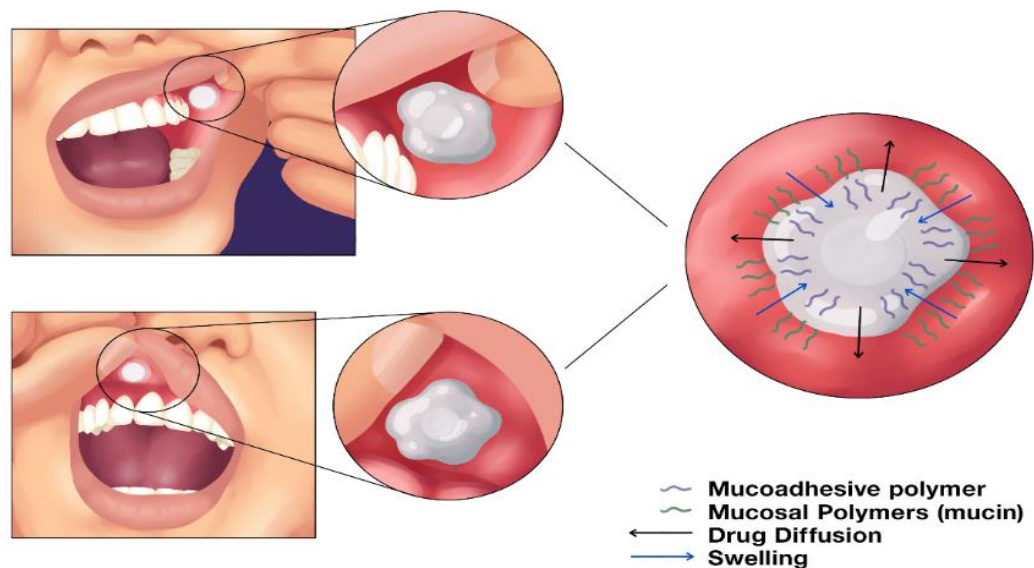
Os radicais amínicos determinam o caráter catiônico único que este polímero possui, destacando-se entre os polímeros mucoadesivos como aquele com uma das maiores forças de adesão. Vários polímeros foram avaliados quanto a força de mucoadesão em forma de filmes poliméricos, sendo obtidos valores de 6.6 mN/cm² para a quitosana, valores altos em comparação com CMC de baixa, média e alta viscosidade, com 1.8; 0.3 e 1.3 mN/cm² respectivamente, ou ainda, 0 mN/cm², para pectina ou goma xantana (Lehr et al., 1992).

Algumas generalizações sobre a carga de polímeros bioadesivos foram feitas anteriormente, onde os polímeros não iônicos parecem apresentar menor grau de adesão em comparação com polímeros aniônico (Salamat-Miller et al., 2005). Além disso, polímeros catiônicos interagem facilmente com o ácido siálico presente na mucina, reação demonstrada exatamente para a quitosana (Sogias et al., 2012). Justifica-se, portanto, que este polímero, de elevado peso molecular, de origem natural, biocompatível, com carga catiônica, e elevada atração às superfícies mucosas, possua tanta aceitação entre os polímeros mucoadesivos.

Desenvolvimento de comprimidos mucoadesivos

Todos os artigos estudados discutem fatores importantes a serem considerados no desenvolvimento de comprimidos mucoadesivos, incluindo além da escolha do polímero, as características gerais dos comprimidos, o comportamento da mucosa e as características físicas e químicas do fármaco, como mostrado na Figura 3.

Figura 3 – Fatores que influenciam as características dos comprimidos mucoadesivos e seu perfil de liberação



Polímero mucoadesivo	Características gerais do comprimido	Mucosa	Droga
Solubilidade/pKa Peso molecular/ Flexibilidade da cadeia	Peso médio/ Composição Dureza/ Friabilidade	Ph da mucosa Tempo de renovação da mucina	Solubilidade pKa

Nota: O polímero, as propriedades gerais dos comprimidos e as características da mucosa são fatores importantes a serem considerados a fim de obter um bom comportamento de mucoadesão; todos esses fatores somados às características da droga irão determinar o perfil de liberação.

Especificamente para a mucosa bucal, estes comprimidos devem ser compatíveis com o pH da mucosa, dentro de valores normais entre 6.2 - 7.6 (Baliga et al., 2013), também deve ser aderido à mucosa com força e tempo suficientes para resistir ao processo de salivação e permitir que o fármaco seja liberado no tempo proposto, seja para ação local ou sistêmica. Desta forma, é extremamente importante encontrar uma relação entre a dureza, o polímero escolhido, a composição do comprimido e as características físico-químicas do fármaco para obter uma formulação com perfil de mucoadesão ideal, incluindo tempo e força de adesão, e perfil de liberação ideal (Ford, 2014). Portanto, o controle de qualidade aplicado aos comprimidos mucoadesivos inclui basicamente a aferição do peso médio, espessura, dureza, friabilidade e perfil de liberação em testes específicos, como tempo e força de mucoadesão, grau ou porcentagem de intumescimento e pH da superfície.

Apesar de tantas variáveis a serem consideradas no desenvolvimento de comprimidos mucoadesivos, os artigos analisados não os consideram como um todo, sendo comum analisar apenas alguns desses parâmetros. A maioria prioriza a composição do polímero como o único fator interferente na qualidade do comprimido adesivo. Além disso, a maioria dos artigos selecionados não analisa formulações com polímeros isolados, apenas com associações entre eles. Os artigos se concentram principalmente na adequação farmacológica, visando melhorar a administração de um princípio ativo, por meio de redução dos efeitos adversos, ou do efeito do metabolismo de primeira passagem, sem se preocupar com a influência de cada um dos polímeros. Isso demonstra que, em nome do objetivo maior de desenvolver uma formulação apropriada o mais rápido possível, os artigos desenvolvidos até agora, deixam de lado as nuances da própria tecnologia, tornando difícil para os pesquisadores que desejam começar a desenvolver essa tecnologia.

Comprimidos de Prometazina, por exemplo, foram desenvolvidos com mistura de polímeros entre CMC e CBM, sem a análise de formulações com os polímeros isolados (Chopparapu et al., 2012). Clorfeniramina foi incorporada em mistura de polímeros com o objetivo de avaliar especificamente a qualidade da mucilagem da jaca e calêndula misturada com polímeros sintéticos derivados da celulose (Sabale et al., 2014). Nebivolol, também para a absorção sistêmica, é incorporado em misturas de EC com CMC ou Alginato, nunca isolados (Shirsand, 2013). Rosuvastatina foi incorporada em comprimidos com EC associados a gomas naturais, incluindo Xantana, Tamarindo e Gellan (Panchal et al., 2012). Comprimidos mucoadesivos de furosemida foram feitos com misturas de CBM 934, HEC, CS e Goma Guar. Nestes, cita-se que aquelas formulações contendo CBM associadas a CS ou HEC apresentam

maior adesão, força e tempo, além de maior porcentagem de intumescimento (Umarji et al., 2012).

Além destes, alguns trabalhos trazem a EC como polímero fixo, variando a constituição em relação a outros polímeros, é o caso dos trabalhos desenvolvidos com Atenolol, Terbutalina, Salabutamol, Carvedilol e Quetiapina (Shisand et al., 2012; Kulkarni et al., 2012; Potu et al., 2012; Elbary et al., 2015). Uma justificativa para essa escolha pode ser dada por EC se tratar do único polímero não solúvel em água, misturado com polímeros hidrofílicos, o que pode resultar em retardo do processo de intumescimento. Outra possibilidade é a liberação unidirecional de fármacos. Nesse caso, cada superfície do comprimido, com exceção da que está em contato com a mucosa bucal, pode ser revestida com materiais impermeáveis à água, tais como EC, óleo de rícino hidrogenado, etc., usando multicompressão ou revestimento por pulverização (Spray Drier) (Salamat-Miller et al., 2005; Panchal et al., 2012).

Outra associação frequente é entre CBM e outros polímeros hidrofílicos, é o caso dos trabalhos com Candesartana, Nitroglicerina, Trometamina, Glimepirida, etc. Tal justificativa é dada pela alta capacidade adesiva que CBM possui, conferindo melhoria as associações com outros polímeros de menor poder adesivo. Para comprimidos mucoadesivos de Losartana a ordem de força de mucoadesão encontrada foi CBM 940 > Alginato > Pectina > HPMC > sódio CMC (Velmurugan, 2013). Outra justificativa é que se trata de polímero ácido, em valores abaixo do pH fisiológico bucal, entretanto, com a associação com polímeros mais próximos da neutralidade, o pH de superfície da formulação torna-se adequado.

Apesar destas variações, este trabalho teve como objetivo encontrar relações entre esses parâmetros. A busca de especificações foi realizada em relação aos parâmetros que influenciam o perfil mucoadesivo e o perfil de liberação. Assim, a partir dos poucos estudos que desenvolveram comprimidos com polímeros isolados, foram coletadas informações sobre peso médio, dureza, pH da superfície, tempo e força da mucoadesão, % de intumescimento após 6 horas de análise, fármaco utilizado e seu pKa e solubilidade, e perfil de liberação após 4 e 6 horas de análise, buscando relação entre esses parâmetros e perfis de mucoadesão e liberação, os dados são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4 – Resultado médio de controle de qualidade para comprimidos mucoadesivos de 100 a 200 mg, por tipo de polímero e fármaco inserido.

Composição Polimérica	Controle de Qualidade								
	Peso Médio (mg)	Dureza (Kg/cm ²)	% de Intumescimento (6h)	pH de superfície	Tempo de Mucoadesão (h)	Força de Mucoadesão (N)	Fármaco	pKa/ §	FR 4h - 6 h
CMC	150	-	35%	6,50	8	0,11	Losartana	5,5/S	20 - 40%
	130	12,5	332%	6,00	-	0,416	Lisinopril	2,5/S	50 - 80%
	150	4,5	-	6,13	6,63	0,137	Felodipino	5,39/S	40 - 60%
	150	4,5	-	-	7,5	-	Glicazida	4,07/S	40 - 60%
HPMC K15M	150	-	38%	6,50	3	0,1	Losartana	5,5/S	80 - 100%
	150	-	-	6,72	4,22	-	Carvedilol	14/S	20 - 30%
	130	13,5	268%	5,2	-	0,343	Lisinopril	2,5/S	20 - 40%
	150	3,6	100%	7,16	4,83	0,24	Glimepirida	4,3/S	80 - 90%
	150	5,8	-	6,28	7,45	0,11	Felodipino	5,39/S	34 - 54%
	100	6,8	-	6,80	>8	0,154	Glipizida	4,3/S	40 - 50%
	120	4	-	-	-	-	Glipizida	4,3/S	65 - 87%
150	4,41	46%	7,24	3	0,284	Itraconazol	3,9/S	84 - 94%	
Goma Xantana	150	3,6	33,10%	6,4	-	0,082	Rosuvastatina	4/S	80 - 100%
	110	1,7	1105%	-	>8	0,215	Rosuvastatina		18 - 25%
Goma Guar	120	5	-	-	-	-	Glipizida	4,3/S	74 - 99%
	100	7,4	54%	-	-	0,076	Carvedilol	14/S	87 - 92%
	110	1,7	426%	-	>8	0,196	Rosuvastatina	4/S	10 - 20%
	200	3	69%	6	-	0,296	Labetolol	8/S	42 - 64%
Goma Alginato	150	-	38%	6 - 7	4	1,2	Losartana	5,5/S	60 - 70%
	100	7,1	-	7,1	>8	1,43	Glipizida	4,3/S	30 - 40%
	200	3,98	67%	6,38	-	2,8	Labetolol	8/S	48 - 71%
	120	4,1	300%	5 - 6	15	1,118	Sinvastatina	14,9/S	60 - 75%
	150	-	12%	6 - 7	6	1,4	Losartana	5,5/S	50 - 70%

CBM 940	150	5,1	-	6,23	6,27	1,05	Felodipino	5,39/S	34 - 60%
	120	4,4	450%	6 - 7	20	2,02	Sinvastatina	14,9/S	50 - 60%
/	120	4,5	51%	6,8	6,5	3,8	Glipizida	4,3/S	56 - 78%
CBM 934	100	6,6	-	6,6	>8	2,36	Glipizida		40 - 50%
	150	4,71	51,17%	6,17	>12	3,01	Itraconazol	3,9/S	37 - 69%
Quitosana	150	-	-	6,52	3,92	-	Carvedilol	14/S	40 - 50%
	150	3,2	106%	7,22	5,25	0,162	Glimepirida	4,3/S	70 - 90%
	120	4,3	-	-	-	-	Glipizida	4,3/S	66 - 88%
	100	6,7	Comprimido Quebra	-	-	0,856	Carvedilol	14/S	90 - 93%
	100	6,7	Comprimido Quebra	-	-	0,83	Carvedilol		77 - 93%
	150	3,6	26,22%	7,1	-	0,42	Rosuvastatina	4/S	100% em 1h

Legenda: Etilcelulose (EC); metilcelulose (MC), carboximetilcelulose (CMC); hidroxietilcelulose (HEC); hidroxipropilmetilcelulose (HPMC); Tempo para Liberação de 100% do fármaco (FR); solubilidade em água (§); solúvel (S).

Perfil de mucoadesão

Conforme mencionado anteriormente, a composição do polímero e as características do comprimido são determinantes para estabelecer a força de mucoadesão. Sobre as características gerais dos comprimidos, a Tabela 4 mostra que, para o mesmo polímero, vários valores de dureza foram encontrados. Os comprimidos desenvolvidos incluem outros excipientes que conferem dureza, como celulose microcristalina, talco farmacêutico, lactose, manitol, polivinilpirrolidona, etc, justificando assim as variações encontradas. Estas, somadas a omissão de resultados ou não realização dos testes, impossibilitaram correlacionar os valores das características gerais do comprimido com o comportamento adesivo.

Quanto ao polímero, fatores como solubilidade, tamanho molecular, flexibilidade da cadeia e pKa, podem influenciar na adesividade. O tamanho molecular dos polímeros descritos na tabela 2 é semelhante entre si, em torno de 10^5 a 10^6 g/mol, referenciado como ideal para a mucoadesão (Figueiras e Veiga, 2009). De todos os descritos, apenas etilcelulose é insolúvel em água, e nenhum dos trabalhos utilizam este polímero sozinho. O pKa por fim, é um dos parâmetros mais importantes na bioadesão. Dependendo do pH do meio, este parâmetro irá influenciar no grau de ionização da molécula, na flexibilidade da cadeia, e, portanto, na força e tempo de bioadesão (Park e Robinson, 1985).

pKa do polímero e pH de superfície do comprimido

A saliva tem uma faixa normal de pH de 6,2-7,6 com valor médio de 6,7. O pH de repouso da boca não cai abaixo de 6,3. Na cavidade oral, o pH é mantido próximo da neutralidade (6,7-7,3) pela saliva (Baliga et al., 2013). O contato da superfície de um comprimido, contendo polímeros mucoadesivos com valores de pH ácidos ou básicos irá influenciar no grau de ionização da mucina e terá relação com o grau de bioadesão, o que é justificado na teoria eletrônica de bioadesão (Patel et al., 2012; Kaundal et al., 2015). De acordo com esta teoria, o material adesivo e o biológico alvo possuem estruturas eletrônicas diferentes e quando estas entram em contato, formam-se uma dupla camada de carga eletrônica na interface, responsável pela criação de forças atrativas e, portanto, bioadesão (Salamat-Miller et al., 2005; Figueiras e Veiga, 2009).

Se o pH local estiver acima ou abaixo do pKa do polímero, o polímero será amplamente ionizado. Essa ionização influencia em dois aspectos, primeiro a interação com a mucina e, segundo, a facilidade de abertura da malha polimérica o que influencia na capacidade de intumescimento do comprimido (Ching et al., 1985; Park e Robinson, 1985).

O pKa aproximado para a família de polímeros policarbofílicos, por exemplo, está entre 4 e 5. A máxima força adesiva se dá quando o meio possui pH de 4-5. Esta adesividade decresce gradualmente com pH acima de 6. A explicação se dá porque num valor de pH alto, a ionização da cadeia polimérica tende a facilitar a repulsão entre as unidades, facilitando a abertura durante o processo de intumescimento, e reduzindo a adesividade. Em pH abaixo do pKa do polímero, a protonação é predominante e a força adesiva aumenta. Isso está relacionado com o caráter aniônico da mucina, aumentando a adesão com polímeros catiônicos (Ching et al., 1984; Park e Robinson, 1985; Patel et al., 2012).

Polímeros aniônicos também possuem propriedades mucoadesivas devido a ligações de hidrogenio com a camada de muco. Enquanto os polímeros catiônicos formam ligações iônicas com as cadeias de mucina carregadas negativamente, os polímeros aniônicos com mais cargas negativas tendem a ter maior adesão devido a interação por ligações de hidrogênio com aminoácidos da mucosa (Lee et al., 2016).

Apesar de serem importantes para o processo de bioadesão, polímeros iônicos, ácidos ou básicos, por causarem alterações no grau de ionização da mucina e se manterem por longos períodos de tempo em contato com esta, podem produzir irritação causando danosos à mucosa bucal (Nafee et al., 2004). Por isso, os artigos analisados admitem a especificação do pH de superfície dentro dos valores normais do pH fisiológico, de 6,2 a 7,6. Na tabela 3, todos os trabalhos analisados apresentaram formulações com pH dentro da faixa descrita.

A incorporação de Losartana em comprimidos mucoadesivos, por exemplo, foi feita utilizando-se Pectina, Alginato, CMC-na, CBM e HPMC. Os comprimidos possuíam além dos polímeros, adição de celulose microcristalina, talco farmacêutico e estearato de magnético. Assim, embora com polímeros de diferentes pH's, as formulações desenvolvidas possuíam pH na faixa de 6 a 7, o qual, segundo o autor, assume-se compatibilidade com a mucosa bucal (Velmurugan, 2013).

Apesar da maioria dos trabalhos produzirem comprimidos inserindo, além do princípio ativo e polímero mucoadesivo, outros excipientes que conferem dureza a formulação, como celulose microcristalina, lactose, talco farmacêutico, estearato de magnésio e sacarina, ou outro edulcorante, os comprimidos desenvolvidos com sinvastatina (Chikate et al., 2014), possuíam em sua constituição, quase que exclusivamente o polímero CBM (70% da formulação), o que justifica ter sido o único a reportar valor de pH de superfície abaixo de 6, compatível com o valor de pH em solução aquosa para o polímero descrito.

Na Tabela 4 é possível observar que os valores para força e tempo de mucoadesão sofrem muitas variações para um mesmo polímero em diferentes artigos. Comparando dados

da literatura com os números variáveis dos artigos analisados não foi possível estabelecer uma ordem real entre composição e força/tempo de mucoadesão. Entretanto, destaca-se a uniformidade de resultados para Alginatos, CBM e Quitosana, na ordem, CBM > Alginato > CS.

A acidez conferida por CBM e Alginato, está relacionada a fortes interações de hidrogênio com a mucosa. Já foi descrito a superioridade de polímeros aniônicos na mucoadesão em relação a catiônicos ou não-iônicos (Nafee et al., 2004). Para CBM, praticamente todos os Carbopol[®] disponíveis no mercado se encontrarão completamente ionizados em pH 6,8, conferindo facilidade para produção de matriz de intumescimento devido a repulsão descrita anteriormente, entretanto, ao contrário do descrito para policarbopil, possui alta capacidade de interação por ligações de hidrogênio, justificando seu alto valor adesivo mesmo no pH bucal (Russo et al., 2016).

Na tentativa de elucidar o mecanismo mucoadesivo de alginatos foi recentemente demonstrado o papel do peso molecular e da flexibilidade da cadeia para determinar a extensão da interação com a mucina. De fato, a interação entre a mucina e o alginato de baixo peso molecular não afeta a conformação da proteína, uma vez que suas moléculas são muito rígidas para produzirem contração significativa na mucina. Em contraste, as moléculas de alginato de alto peso molecular são mais flexíveis e capazes de ligar locais distantes da mucina causando a contração da proteína (Russo et al., 2016).

Quitosana é o terceiro polímero com maiores valores de adesão reportados, corroborando com a associação entre polímeros catiônicos e a mucina aniônica. No entanto, a massa molecular, a conformação e a flexibilidade geral da quitosana (esta última determinada pela densidade de carga, isto é, o grau de acetilação) também desempenham um papel significativo (Sogias et al, 2012; Salamat-Miller et al., 2005; Russo et al., 2016).

HPMC e CMC apresentam características próximas para a mucoadesão. Alguns artigos descrevem o primeiro com maior interação que o segundo, outros o contrário. Pela teoria eletrônica de bioadesão, CMC teria maior força adesiva devido a possibilidade de ligações de hidrogênio oriundas dos radicais carboxílicos neste presente. O polímero não iônico, HPMC, é caracterizado por moderada força de adesão, e reduzida habilidade de formação de pontes de hidrogênio com o muco (Russo et al., 2016). A comparativa baixa força de adesão para HPMC pode ser, portanto, atribuída a ausência de grupos carboxílicos doadores de prótons o que reduz sua habilidade de formação de interações de hidrogênio (Nafee et al., 2004).

Entre as gomas estudadas, foi descrita a relação de força/ tempo de mucoadesão como Goma Xantana > Goma Guar. São polímeros com maiores variações dentro da unidade de

repetição em relação aos polímeros anteriormente descritos, e cujo mecanismo de adesão é mais relacionado com a alta capacidade de intumescimento conferida por estes (Park e Munday, 2004). Na tabela 3, analisando dois artigos diferentes com a proposta de desenvolvimento de comprimidos com Goma Xantana e o mesmo fármaco, Rosuvastativa, permite perceber que aquela formulação com menor dureza, e maior intumescimento se relacionam a maior força adesiva, apesar de não ter dados suficientes para análise estatística.

Para corroborar com o que foi achado até agora, uma análise específica da força de mucoadesão entre os polímeros CMC, CBM (71G) e Goma Xantana foi realizada entre comprimidos constituídos apenas dos polímeros descritos, isoladamente. Neste trabalho, em solução tampão de pH semelhante ao bucal (6,8), foi obtida a ordem Goma Xantana < CMC < CBM (71G) (Figueiras e Veiga, 2009), corroborando com as informações descritas até agora.

Perfil de liberação

A liberação do fármaco é um fenômeno conhecido por ser um processo complexo de interação entre mecanismos de dissolução, difusão e erosão (Huanbutta et al., 2013). Para matrizes hidrofílicas, é determinante, portanto, as características do fármaco, como solubilidade e pKa para que ocorra a difusão. O polímero, quando em contato com o meio aquoso, este inicia gradualmente o inchaço da periferia para o centro, formando uma massa gelatinosa que controla a difusão do fármaco através da matriz polimérica, ou é sujeito a um processo de relaxamento, o que resulta numa erosão lenta do polímero hidratado. Como estes mecanismos podem operar simultaneamente, cada um contribuirá para a taxa global de liberação do fármaco. Em particular, é necessário um equilíbrio cuidadoso entre os mecanismos de difusão, intumescimento e erosão, para aperfeiçoar a liberação de fármaco a partir de uma matriz polimérica (Sujja-Areevath et al., 1998).

As características de intumescimento para cada polímero, dependentes da flexibilidade da cadeia, solubilidade no meio, tamanho molecular, pKa, etc, (Figura 3) influenciam na liberação do fármaco de forma mais facilmente perceptível. Quanto à flexibilidade da cadeia polimérica, é desejável a presença de cargas iguais em suas unidades, permitindo a repulsão entre elas e facilitando assim a abertura da cadeia e a liberação do fármaco incorporado durante o processo de intumescimento (Salamat-Miller et al., 2005, Figueiras e Veiga, 2009).

A liberação a partir de discos de matriz hidrofílica depende da formação de uma camada viscosa hidratada em torno dos discos, que atua como uma barreira ao movimento do fármaco, pois há um gradiente oposto de incorporação de líquido. O comportamento de hidratação dos

polímeros hidrofílicos e as subsequentes propriedades de dilatação da camada viscosa hidratada podem ter um impacto crítico na libertação do fármaco (Sriamornsak et al., 2007).

Todos os fármacos incorporados nas matrizes poliméricas descritas (Tabela 4) são solúveis em água o que facilita a libertação pelo processo de difusão. Entretanto, todos os polímeros descritos conseguiram manter uma libertação sustentada por 4 a 6 horas, demonstrando o equilíbrio dos outros dois fatores (intumescimento e erosão). Comprimidos mucoadesivos disponíveis no mercado são caracterizados pela libertação lenta e manutenção da concentração terapêutica na corrente sanguínea do paciente por longos períodos de tempo, por exemplo, 1 a 2 h para Buccastem[®] a 8 ou mais para Striant[®] (Guilhotra et al., 2014).

Em 6h de análise, todos os polímeros descritos apresentam formulações possíveis de liberar $\leq 40\%$, menos a quitosana, relacionada a libertações $> 40\%$ em menos de 4 h de análise, portanto, com maior velocidade de libertação para fármacos solúveis. A relação entre os outros polímeros não pode ser avaliada pela falta de uniformidade.

Para um mesmo polímero há muita variação entre quantidade de fármaco liberado para um determinado tempo, corroborando a teoria da interferência de parâmetro outros e não só do tipo de polímero escolhido. Para uma análise minuciosa destes parâmetros, comprimidos com CBM e Goma Xantana foram analisados, pois foram os únicos desenvolvidos por mais de 1 artigo, e com todos os parâmetros de controle de qualidade, citados na tabela 4. Com Goma Xantana para libertação da Rosuvastativa, há relação entre a menor dureza ($1,7 \text{ Kg/cm}^2$), maior intumescimento (1105%) e menor capacidade de libertação do fármaco (18-25%), predominando um comportamento de difusão dificultado pela matriz gelatinosa formada. Relação inversa, porém, foi com CBM 934 utilizado para incorporar Glipizida. Aquela formulação com menor valor de dureza ($4,5 \text{ Kg/cm}^2$) possui libertação mais fácil no período analisado de 4 a 6 horas (56-78%).

Avaliando as características físicas dos comprimidos para tentar explicar esse efeito, na tabela 2 é citado que as gomas, incluindo a xantana, são os polímeros mais densos, relacionados a menor capacidade de compactação, o que resulta em comprimidos de menor dureza. Com essa característica, as gomas possuem na sua facilidade de intumescimento, o seu mecanismo libertação, o qual é determinante para conseguir manter os fármacos por mais tempo no interior da matriz. Já os carbômeros são citados como polímeros de menor densidade, relacionados a maior compactação, o que justifica os maiores valores de dureza para comprimidos com estes desenvolvidos (Tabela 4). Assim, com as gomas intumescendo rapidamente, há um controle feito pela matriz gelatinosa diminuindo a velocidade de libertação do fármaco.

Já para comprimidos de CBM, há uma demora na formação da matriz o que deveria retardar ainda mais o processo de liberação, o que não acontece. Tentando explicar esse comportamento, foram avaliadas as características físico químicas dos fármacos, ambos solúveis com valor de pKa muito próximos entre si, 4 para Rovustatina e 4,3 para Glicazida. Entretanto os valores de pKa dos polímeros são diferentes, resultando em pH de superfície diferentes para os comprimidos desenvolvidos (Tabela 2). No entanto, os valores de pKa dos polímeros são diferentes, resultando em pH de superfície diferente para os comprimidos desenvolvidos (Tabela 2). Das matrizes de CBM, que apresentaram maior liberação se destaca uma com polímero aniônico de pKa próximo a 4, em meio bucal, pH 6,8, cujo fármaco incorporado apresenta pKa próximo a 4. Tanto o polímero quanto o fármaco serão ionizados, levando a repulsão entre eles, o que pode influenciar no processo de difusão. Deste modo, mesmo quando ocorre atraso na formação da matriz, o pKa semelhante do polímero e do fármaco, adicionado aos valores de pH bucal elevados, acelerariam o processo de liberação.

Corroborar-se, portanto, a importância de se levar em consideração o tipo de polímero, com o fármaco a ser incorporado e com as características físicas dos comprimidos a serem desenvolvidos, almejando comprimidos com o tempo de liberação necessário para o efetivo tratamento.

Conclusão

Sendo uma importante tecnologia farmacêutica, os comprimidos mucoadesivos deverão ser produzidos levando-se em consideração muitas variáveis. Entretanto, a falta de informações consolidadas, dificulta o processo de construção de associações concretas entre esses parâmetros, sendo comum considerar apenas a escolha do polímero como o principal fator no desenvolvimento de comprimidos mucoadesivos. Entre outros resultados, este artigo demonstra que esta tecnologia depende não apenas de uma análise detalhada do polímero, mas também das características físicas do comprimido, das características físico-químicas do fármaco a ser incorporado e da região bucal em que será administrada.

Referências

- ABOUTALEB AE, ABDEL-RAHMAN AA, SAMY EM, EL-NAGGAR MG. Formulation and evaluation of verapamil hydrochloride buccoadhesive tablets. *Unique J Pharm Biol Sci.* v1, p.48-57, 2013;
- ABRUZZO A, CERCHIARA T, BIGUCCI F, GALLUCCI MC, LUPPI B. Mucoadhesive buccal tablets based on chitosan/gelatin microparticles for delivery of propranolol hydrochloride. *Journal of pharmaceutical sciences.* v.104, p.4365-72, 2015;
- ACHOLU PK, YAJAMAN S, JAYAVEERA K. Formulation and In-vitro evaluation of novel buccal mucoadhesive tablets of Felodipine. *Int Res J Pharm;* v.5, p.821-6, 2014;
- AVACHAT AM, DASH RR, SHROTRIYA SN. Recent investigations of plant based natural gums, mucilages and resins in novel drug delivery systems. *Ind J Pharm Edu Res.* v.45, p.86-99, 2011;
- AZHAR SA, KUMAR PR, SOOD V, SHYALE S. Studies on directly compressed ondansetron hydrochloride mucoadhesive buccal tablets using gelatin, chitosan and xanthan gum along with HPMC K4M. *Journal of applied pharmaceutical science.* v 2, n 5, p. 100-105, 2012;
- BALIGA S, MUGLIKAR S, KALE R. Salivary pH: A diagnostic biomarker. *Journal of Indian Society of Periodontology.* v.17, p.461, 2013;
- BANSIL R, TURNER BS. Mucin structure, aggregation, physiological functions and biomedical applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science.* v11, p.164-70, 2006;
- BHANJA S, MD ZAKIUDDIN SHAFEEQUE C, SUDHAKAR M. Mucoadhesive buccal tablets of glimeperide- formulation and evaluation. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* v5, p502-10, 2013a;
- BHANJA S, SHAFEEQUE CMZ, MUVVLA S, DAS AK. Formulation and evaluation of mucoadhesive buccal tablets of glimepiride. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research.* v3, p.2607-24, 2013b;
- BOATENG JS, AYENSU I. Preparation and characterization of laminated thiolated chitosan-based freeze-dried wafers for potential buccal delivery of macromolecules. *Drug development and industrial pharmacy.* v.40, p.611-8, 2014;
- CHAUDHARI SR, AMOL AH. Design and in-vitro evaluation of mucoadhesive buccal tablets of carvedilol. *Int J PharmTech Res.* v.4, n.4, p.1827-1833, 2012;

- CHIKATE YA, CHAUDHARI KP, JADHAO UT, THAKARE VM, TEKADE BW, PATIL VR. Formulation and in-vitro evaluation of simvastatin buccoadhesive tablets. *International journal of biopharmaceutics* 2014;4:156-63.
- CHING HS, PARK H, KELLY P, ROBINSON JR. Bioadhesive polymers as platforms for oral controlled drug delivery II: synthesis and evaluation of some swelling, water-insoluble bioadhesive polymers. *Journal of pharmaceutical sciences* 1985;74:399-405.
- CHOPPARAPU C, PALEM CR, YAMSANI MR. Development of Promethazine mucoadhesive tablets for buccal delivery: in-vitro, ex-vivo and in-vivo characterization. *American Jr PharmTech Res* 2012;2:1697-705.
- ELBARY AA, MAKKY AM, TADROS MI, ALAA-ELDIN AA. Development and in vitro evaluation of mucoadhesive bilayer buccal tablets of carvedilol. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2015;7:172-6.
- FATHIMA N, DAS P, KUCHANA V. Formulation and evaluation of mucoadhesive tablets of carvedilol using natural binder. *International journal of research in pharmacy and chemistry* 2015; 5(4), 699-707;
- FIGUEIRAS, A. E VEIGA, F. A mucosa bucal como uma via de administração alternativa: Potencialidades, limitações e formas farmacêuticas. *Revista Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde, [S.l.]*, 2009, n. 1;
- FORD JL. Design and evaluation of hydroxypropyl methylcellulose matrix tablets for oral controlled release: A historical perspective. *Hydrophilic Matrix Tablets for Oral Controlled Release: Springer*; 2014. p. 17-51.
- GAVLIGHI, H.A. *Tragacanth gum: structural composition, natural functionality and enzymatic conversion as source of potential prebiotic activity*: Ph. D Thesis. DTU Chemical Engineering, Department of Chemical and Biochemical Engineering, 2013.
- GUILHOTRA RM, IKRAM M, SRIVASTAVA S, GILHOTRA N. A clinical perspective on mucoadhesive buccal drug delivery systems. *Journal of Biomedical Research* 2014; 28:81-97.
- HUANBUTTA, K., TERADA, K., SRIAMORNSAK, P., & NUNTHANID, J. Advanced technologies for assessment of polymer swelling and erosion behaviors in pharmaceutical aspect. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2013; 83(3), 315-321.
- HARIKRISHNAN V, MADHUSUDHAN S, SANTHIAGU A. Evaluation of a novel, natural locust bean gum as a sustained release and mucoadhesive component of tizanidine

- hydrochloride buccal tablets. *Asian journal of pharmaceutical and clinical research* 2015; 8:7-10.
- HUSSEIN AA, SAMEIN LH, GHAREEB MM, SALIH OS. Effects of mucoadhesive polymers combination on the properties of lisinpril buccal tablets prepared by wet granulation method. *Int J Pharm Pharm Sci* 2013; 5:340-3.
- JAIN C, JOSHI G, KATARIA U, PATEL K. Enhanced Permeation of an Antiemetic Drug from Buccoadhesive Tablets by Using Bile Salts as Permeation Enhancers: Formulation Characterization, In Vitro, and Ex Vivo Studies. *Scientia pharmaceutica* 2016; 84:379.
- KAUNDAL A, KUMAR P, CHAUDHARY A. A Review on mucoadhesive buccal tablets prepared using natural and synthetic polymers. *World Journal of pharmacy and pharmaceutical science*. 2015; v 4, Issue 07, p. 475-500;
- KHAIRNAR G, SAYYAD F. Development of buccal drug delivery system based on mucoadhesive polymers. *International Journal of Pharm Tech Research* 2010; n.2, p.719-35.
- KHAZAAL AA, SAMEIN LH, SHEHAB MA. Preparation and In-Vitro Evaluation of Zolmitriptan Mucoadhesive Buccal Tablets. *Research Journal of Pharmacy and Technology* 2012; 5:1335-46.
- KRISHNARAJAN D, KUMAR NS, JEYABALAN G. Design and evaluation of bioadhesive tablets of rosuvastatin calcium. *Int J Bio Pharm Res* 2012; 3:624-30.
- KULKARNI1A GS, RAGHAVENDRARAO N, KULKARNI U. Formulation development and evaluation of terbutaline sulphate mucoadhesive buccal tablets. *BioMedRx* 2013, 1(3), p.274-279;
- KULKARNI GS, RAO NR. Design development and evaluation of mucoadhesive buccal tablets of salbutamol with natural polymer. *World Journal of pharmacy and pharmaceutical science*. 2012; v. 1, n. 2, p. 704-716;
- KUMAR S, GUPTA SK. Natural polymers, gums and mucilages as excipients in drug delivery. *Polim Med* 2012; n.42, p.191-7;
- KUMAR BP, KAVITHA P, DEVI KJ. Formulation design and evaluation of mucoadhesive buccal tablets of Nitroglycerin. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2014,n.6, p. 251-9;
- LEE C-A, KIM B-S, CHO C-W. Quantitative evaluation of mucoadhesive polymers to compare the mucoadhesion. *Journal of Pharmaceutical Investigation* 2016;46:189-94.

- LEHR C-M, BOUWSTRA JA, SCHACHT EH, JUNGINGER HE. In vitro evaluation of mucoadhesive properties of chitosan and some other natural polymers. *International Journal of Pharmaceutics* 1992. n.78, p.43-8.
- MANSURI S, KESHARWANI P, JAIN K, TEKADE RK, JAIN NK. Mucoadhesion: A promising approach in drug delivery system. *Reactive and Functional Polymers* 2016; n.100, p.151-72.
- MOGHIMIPOUR E, AGHEL N, ADELPOUR A. Formulation and Characterization of Oral Mucoadhesive Chlorhexidine Tablets Using Cordia myxa Mucilage. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products* 2012, n.7, p.129;
- MYLANGAM CK, BEERAVELLI S, MEDIKONDA J, PIDAPARTHI JS, KOLAPALLI VRM. Badam gum: a natural polymer in mucoadhesive drug delivery. Design, optimization, and biopharmaceutical evaluation of badam gum-based metoprolol succinate buccoadhesive tablets. *Drug delivery* 2016;23:195-206;
- NAFEE NA, ISMAIL FA, BORAIE NA, MORTADA LM. Mucoadhesive delivery systems. I. Evaluation of mucoadhesive polymers for buccal tablet formulation. *Drug development and industrial pharmacy* 2004;30:985-93;
- OTHMAN AM, SABATI AM, SAIF AA. Design and evaluation of esomeprazole buccoadhesive tablets. *Pharmacie Globale* 2013;4:1;
- PANCHAL AV, MEHTA M, SHAH VH, UPADHYAY U. Formulation and in-vitro evaluation of mucoadhesive bilayered buccal tablets of Rosuvastatin calcium. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 2012;3:2733;
- PANDEY SL, HINGAWE NT, DAS U, PATIL AT. Mucoadhesive buccal tablets of domperidone: Formulation evaluation and effects of process variables. *Journal of Pharmaceutical Investigation* 2014;44:103-10;
- PARK CR E MUNDAY DL. Evaluation of selected polysaccharide excipients in buccoadhesive tablets for sustained release of nicotine. *Drug development and industrial pharmacy* 2004;30:609-17;
- PARK H, ROBINSON JR. Physico-chemical properties of water insoluble polymers important to mucin/epithelial adhesion. *Journal of Controlled Release* 1985;2:47-57;
- PubChem[®] Database. National Center for Biotechnology Information. U.S. National Library of Medicine, 8600 Rockville Pike, Bethesda, MD20894, USA, 2017;
- PATEL JG, SOLANKI SS, PATEL KB, PATEL MP, PATEL JK. Buccal Drug Delivery System: A Review. *Research Journal of Pharmacy and Technology* 2012;5:883-8;

- PAWAR JB, SAKA MS, ALOORKAR N. Formulation and Evaluation of Buccoadhesive Tablets of Metoclopramide Hydrochloride. *Research Journal of Pharmacy and Technology* 2012;5:608-14;
- PAWAR JB, SHYALE S, PRAKYA V. In vitro studies on buccoadhesive tablets of metoclopramide. *World Journal of pharmacy and pharmaceutical science*. Volume 5, Issue 2, 711-722, 2015;
- POTU AR, PUJARI N, BURRA S, VEERAREDDY PR. Formulation and evaluation of buccoadhesive quetiapine fumarate tablets. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 2012;48:335-45;
- RAO MRP, SADAPHULE P. Development and evaluation of mucoadhesive buccal tablets of ketorolac tromethamine. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research* 2014;48:69-74;
- REDDY J, MUZIB YI, CHOWDARY K. Development and Characterization of Novel Trans Buccoadhesive Bilayer Tablets of Tapentadol Hydrochloride. *Asian Journal of Research in Pharmaceutical Science* 2013;3:83-9;
- REDDY BV, RAMANAREDDY K. Formulation and evaluation of buccal mucoadhesive tablets of glipizide. *World Journal of pharmacy and pharmaceutical science*. Volume 4, Issue 07, 1804-1821. 2015a;
- REDDY PD, BALANJINEYULU R, SWARNALATHA D, BADARINATH A, GOPINATH C. Design, development and In vitro characterization of Felodipine Mucoadhesive buccal tablets. *Journal of Pharmacy Research* Vol 2015b;9:170-6;
- REZA T, SARA MS. Formulation and evaluation of buccoadhesive tablets of clotrimazole. *Asian Journal of Pharmaceutics (AJP): Free full text articles from Asian J Pharm* 2014;4.
- ROWE RC, SHESKEY PJ, WELLER PJ. *Handbook of pharmaceutical excipients: Pharmaceutical press* London; 2009;
- RUSSO E, SELMIN F, BALDASSARI S, GENNARI C, CAVIGLIOLI G, CILURZO F, ET AL. A focus on mucoadhesive polymers and their application in buccal dosage forms. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 2016;32:113-25.
- SÁ, LLF. *Desenvolvimento tecnológico de comprimidos de Pilocarpina para tratamento da Xerostomia. Dissertação de Mestrado*. Departamento de Farmácia. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Piauí, 2013.

- SABALE V, PATEL V, PARANJAPE A. Evaluation of Calendula mucilage as a mucoadhesive and controlled release component in buccal tablets. *Research in pharmaceutical sciences* 2014;9:39.
- SALAMAT-MILLER N, CHITTCHANG M, JOHNSTON TP. The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2005;57:1666-91.
- SANDHYARANI G, KUMAR KP. Formulation and Evaluation of Buccoadhesive Tablet of Nadolol. *Singapore Journal of Pharmaceutical Research* 2014;1:27.
- SARAVANAKUMAR K, SASI DEEPTHI K, NAGAVENI P, LOHITA M, ASHOK KUMAR C. Comparative in vitro and ex vivo studies of gliclazide mucoadhesive tablets by using natural and semisynthetic polymers. *Indo American Journal Of Pharm Research*.2014;4(01). 2014
- SAYEED A, SAYEED F, MOHIUDDIN MH. Design and in vitro evaluation of buccoadhesive tablet of itraconazole. *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry* 2014, 4(2), 381-395 2014.
- SHABARAYA A, AISWARYA K, AZHARUDDIN M. Formulation and Evaluation of Mucoadhesive Bi-layer Buccal Tablets of Labetalol Hydrochloride Using Natural Polymers. *International Journal of Advances in Pharmacy, Biology And Chemistry (IJAPBC)* 2012;1:2277-4688.
- SHEIKH AA, FIRDOS F, BIYANI K, SHAIKH I. Development and In Vitro Evaluation of Mucoadhesive Buccal Tablets of Timolol Maleate. *Research Journal of Pharmacy and Technology* 2012;5:34-7.
- SHIRSAND S, SURESH S, KESHAVSHETTI G, SWAMY P, REDDY PVP. Formulation and optimization of mucoadhesive bilayer buccal tablets of atenolol using simplex design method. *International journal of pharmaceutical investigation* 2012;2:34.
- SHIRSAND S, WADAGERI G, RAJU S, KOLLI G, REDDY V. Design and evaluation of mucoadhesive bilayer buccal tablets of nebivolol. *RGUHS J Pharm Sci* 2013;3:40-7.
- SRIAMORNSAK, P., NARTAYA T., AND KINGKARN, K. Swelling, erosion and release behavior of alginate-based matrix tablets. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 66.3 (2007): 435-450.
- SHUKR M, REHEEM AA. Development and evaluation of ketorolac tromethamine mucoadhesive buccal tablets. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2014;6:294-8.

- SINGH S, SHIVHARE UD, SAKARKAR S. Design and Development of Fluconazole Buccal Mucoadhesive Tablets. *Research Journal of Pharmacy and Technology* 2013;6:920-4.
- SOGIAS IA, WILLIAMS AC, KHUTORYANSKIY VV. Chitosan-based mucoadhesive tablets for oral delivery of ibuprofen. *International Journal of Pharmaceutics* 2012;436:602-10.
- SUJJA-AREEVATH, J., MUNDAY, D. L., COX, P. J., & KHAN, K. A. (1998). Relationship between swelling, erosion and drug release in hydrophilic natural gum mini-matrix formulations. *European journal of pharmaceutical sciences*, 6(3), 207-217.
- UMARJI B, RUDRAGOUDA P, RAVINDRA B, SWATI M. Formulation and in-vitro evaluation of mucoadhesive buccal tablets of furosemide. *WJ Pharm* 2012;1:1041-63.
- VAZQUEZ JA, SOBEL JD. Miconazole mucoadhesive tablets: a novel delivery system. *Clinical infectious diseases* 2012:cis205.
- VELMURUGAN S, RAGHAVARAPU KK. Formulation and in vitro evaluation of glipizide mucoadhesive buccal tablets. *Int J Pharm Bio Sci* 2013a.
- VELMURUGAN S, SRINIVAS P. Formulation and in vitro evaluation of Losartan potassium mucoadhesive buccal tablets. *Asian journal of pharmaceutical and clinical research* 2013b;6:125-30.
- VINAY C, AHMED MG. Formulation and evaluation of mucoadhesive buccal tablets of candesartan. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* 2015;5:56-63.
- WASNIK MN, GODSE RD, NAIR HA. Development and evaluation of buccoadhesive tablet for selegiline hydrochloride based on thiolated polycarbophil. *Drug development and industrial pharmacy* 2014;40:632-8.

CAPÍTULO 2

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UMA NOVA METODOLOGIA PARA QUANTIFICAÇÃO DE PILOCARPINA EM COMPRIMIDOS POR HPLC-DAD

Davyson de Lima Moreira¹, Stephan Ribeiro¹, Antônio José Ribeiro², Francisco Baptista Veiga², José Lamartine Soares Sobrinho³, Edson Cavalcanti da Silva Filho⁴, Laisa Lis Fontinele de Sá⁵, Rivelilson Mendes de Freitas⁵, Livio Cesar Cunha Nunes⁵.

1- Instituto de Tecnologia Farmaceutica, Farmanguinhos, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil; 2-Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Portugal; 3- Núcleo de Controle de Qualidade de Medicamentos e Correlatos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil; 4-Laboratório de Ciências dos Materiais, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Brasil; 5- Laboratório de Inovação Tecnológica e Empreendedorismo, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil.


Current Pharmaceutical Analysis; Vol. 12, 2016, 315

Development and Validation of a New Method to Quantify Pilocarpine in Tablets by HPLC-DAD

Davyson de Lima Moreira*, Stephan Ribeiro, Antônio José Ribeiro, Francisco Baptista Veiga, José Lamartine Soares Sobrinho, Edson Cavalcanti da Silva Filho, Laisa Lis Fontinele de Sá, Rivelilson Mendes de Freitas, Livio Cesar Cunha Nunes

*Institute of Pharmaceutical Technology, Farmanguinhos, Fiocruz, Av. Sizenando Nabuco, 100, Mangunhos, Rio de Janeiro, CEP 21040-360, Brasil

Pilocarpine (a) and pilocarpic acid (b)



Chemical structures of Pilocarpine (a) and Pilocarpic acid (b) are shown. Pilocarpine (a) is a tropane alkaloid with a tropane ring system and a methylated imidazole ring. Pilocarpic acid (b) is the corresponding carboxylic acid form of pilocarpine.

Gráfico síntese

Artigo publicado na revista **Current Pharmaceutical Analysis**, Qualis B3 para Biotecnologia, JCR 0,78.

Resumo

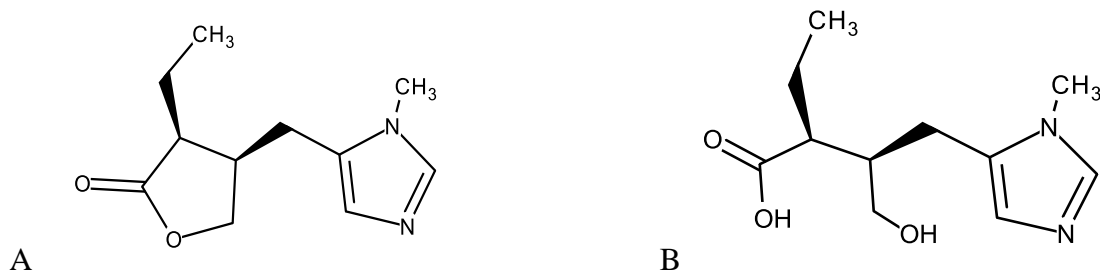
Pilocarpina, um alcaloide natural que pode ser obtido da espécie *Pilocarpus*, é utilizado para o tratamento de glaucoma, hipertensão ocular e xerostomia. Os métodos de desenvolvimento e validação para a análise da pilocarpina e seus produtos de degradação são bastante desafiadores, uma vez que as propriedades físico-químicas entre eles são relativamente pequenas. Realizaram-se ensaios analíticos em HPLC-DAD e tomaram-se 13 condições diferentes, empregando três colunas (C18 à base de sílica, coluna de sílica modificada com cianopropil, e Zic-HILIC), duas soluções tampão, dois solventes orgânicos, pH entre 5,1 e 5,45, três temperaturas e taxa de fluxo de 0,8 a 2,0 mL.min⁻¹, em RP ou HILIC. Os ensaios cromatográficos para cloridrato de pilocarpina em solução aquosa permitiram estabelecer os melhores parâmetros cromatográficos em termos de simetria e retenção de sinal, bem como para separar a pilocarpina dos seus produtos de degradação com alta seletividade, eficiência e resolução. Foi possível validar um novo método para a dosagem de cloridrato de pilocarpina em comprimidos utilizando uma coluna de sílica modificada com cianopropil, com a fase móvel em modo isocrático com uma mistura de acetonitrila/ tampão dihidrogenofosfato de potássio 10 mM (60 : 40, v / v), pH 5,30, temperatura do forno de 50°C e taxa de fluxo de 1,0 mL.min⁻¹. A precisão, exatidão, linearidade, robustez, recuperação, tempo de retenção curto, modo de eluição isocrática, quantificação (250 ng.mL⁻¹) e limites de identificação (75 ng.mL⁻¹) permitiram estabelecer uma estimativa de rotina da pilocarpina em comprimidos. O teor de cloridrato de pilocarpina estava na gama especificada pelo produtor Salagen® (4,81±0,07 mg/comprimido, 96,16 ± 1,33%) e pela formulação em comprimidos de carbomer 940® + quitosana (4,80 ± 0,02 mg/comprimido, 95,99 ± 0,49%) e em comprimidos de carboximetilcelulose de sódio + quitosano (4,95 ± 0,04 mg/comprimido, 99,08 ± 0,79%).

Palavras chave: pilocarpina, análise farmacêutica, comprimidos, HPLC-DAD, coluna de cianopropil.

Introdução

A pilocarpina (Fig. 1) é um alcalóide natural que pode ser obtido da espécie *Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Holm. (Rutaceae) e pode ser encontrada em outras espécies da família Rutaceae. A *P. microphyllus* é cultivada nos estados do Maranhão e Piauí no Brasil para produzir pilocarpina [1,2].

Figura 1. Estrutura da Pilocarpina (A) e Ácido Pilocárpico(B).



As formulações de pilocarpina em formas de gotas oftálmicas são utilizadas para tratar glaucoma e outras doenças oculares, como hipertensão ocular. Já a pilocarpina em comprimidos tem sido empregada para tratar xerostomia em pacientes submetidos à terapia contra câncer [3, 4]. A pilocarpina (PLC) é muito estável na faixa de pH entre 5,0 - 5,5 e pode sofrer degradação em pH ácido ou básico em solução aquosa, proporcionando isopilocarpina (IPLC), ácido pilocárpico (PCA) (produto principal) e ácido isopilocárpico (IPCA) (Fig. 1) [5, 6]. Os métodos de desenvolvimento e validação para análise de pilocarpina e seus produtos de degradação são um grande desafio, uma vez que as diferenças estruturais entre estas moléculas são relativamente pequenas e, portanto, possuem propriedades físicas e químicas semelhantes. Dados anteriores da literatura mostraram alguns estudos descrevendo métodos para separação e quantificação de pilocarpina e seus produtos de degradação em água e solução oftálmica (Tabela 1).

Tabela 1. Métodos de HPLC-DAD para Quantificar Pilocapina e seus Produtos de Degradação.

Amostra	Compostos	Coluna	Fase Móvel	Fluxo	Detector	Referencia
				mL.min ⁻¹		
Solução oftálmica	PLC, IPLC, PCA, IPCA	C18 (150 mm x 0.46 mm i.d., 5 um)	Ácido fosforico, tampão aquoso de trietilamina- metanol	1.0	UV 214 nm	[6]
Solução aquosa	PLC, IPLC, PCA, IPCA	Spherisorb-CN (250 mm x 4.6 mm i.d., 5 um)	Água trietilamina (faixa de pH 2.5-5.5)- metanol	1.0	UV 220 nm	[7]
Dispersão pseudo-latex	PLC, IPLC	C18 (100 mm x 8 mm i.d., 10 pm)	Acetonitrina- dietilamina-água	3.0	UV 235 nm	[11]
Solução aquosa	PLC, IPLC, PCA, IPCA	Lichrosorb Si60 (250 mm x 4.6 mm i.d., 5 um)	Metanol- acido fosfórico- água	1.2	UV 214 nm	[5]

PLC = pilocarpina; IPLC = isopilocarpina; PCA = ácido pilocarpico; IPCA = acido isopilocarpico.

Estes trabalhos podem agora ser considerados obsoletos, uma vez que foram desenvolvidos nos anos 80 e 90 e não podem ser aplicados à dosagem de pilocarpina em formulações sólida [6, 7]. Considerando que (a) o nosso grupo de investigação tem desenvolvido novas formulações farmacêuticas sólidas com pilocarpina e (b) que os métodos cromatográficos foram melhorados em termos de novas colunas (novo tamanho de partícula e fases estacionárias mais homogêneas) [8, 9], é muito importante desenvolver um método de extração de formas farmacêuticas sólidas e quantificação de pilocarpina, seguindo os procedimentos de validação [10].

Materiais e métodos

Reagentes

O metanol e o acetonitrilo em grau de HPLC foram adquiridos da Tedia (Brasil) e a acetonitrila ultrapura usado para o teste de robustez foi adquirida da Lichrosolv® (CAS 75-05-8, Merck Milipore, Darmstadt, Alemanha); dihidrofosfato de potássio (CAS 7778-77-0, KH₂PO₄), acetato de amónio (CAS 631-61-8, CH₃COONH₄), ácido fosfórico a 85% (H₃PO₄), ácido acético (CAS 64-19-7, CH₃COOH) e hidróxido de sódio (CAS 1310-73-2, NaOH) foram obtidos da Merck Milipore (Darmstadt, Alemanha). A quitosana foi obtida da Polymar (Lote: 20091115, grau de desacetilação 75% e peso molecular de 31,41 kDa) e carbopol 940® da Pharma Nostra (Lote: 12672106F, 72 kDa). O padrão de hidrocloreto de pilocarpina foi fornecido pela Vegeflora (Brasil, Lote: VC-1101, 98%) e os comprimidos de cloridrato de pilocarpina foram adquiridos no mercado como Salagen® (Novarts). Todos os

produtos químicos com exceção de metanol e acetonitrila eram de grau de pureza analítico e todos foram utilizados tal como foram recebidos. Água ultrapura foi obtida por um sistema de água Milli-Q (Merck-Milipore, Darmstadt, Alemanha).

Soluções da amostra e produtos de degradação da pilocarpina

Soluções aquosas de cloridrato de pilocarpina em concentração de 200 µg.mL⁻¹ foram utilizadas como solução mãe, que se manteve em frasco âmbar e mostrou-se estável em liofilizado a -20°C durante 15 dias. A solução de cloridrato de pilocarpina (200 µg.mL⁻¹) foi tratada com solução aquosa de NaOH (10 mM) durante 24 h para gerar os produtos de degradação do alcalóide (degradação de cerca de 30%, com base na área de cromatografia da pilocarpina). Esta solução foi analisada sob as mesmas condições cromatográficas de solução padrão pura. Preparou-se tampão de dihidrofosfato de potássio dissolvendo o equivalente do sal para 1L de água ultrapura para preparar 10 mM, 30 mM ou 50 mM e depois o pH foi ajustado com solução de ácido fosfórico a 10%. Preparou-se tampão acetato de amônio dissolvendo 0,77 g do sal para 1 L de água ultrapura, equivalente a 10 mM, e depois o pH foi ajustado para 5.10 com ácido acético.

Comprimidos de pilocarpina formulados

Os comprimidos mucoadesivos de pilocarpina, utilizando quitosana como polímero mucoadesivo principal e polímero acrílico carbopol 940® ou carboximetilcelulose de sódio, foram preparados por técnica de compressão direta de acordo com Sá et al., 2015 [12].

Extração de pilocarpina de comprimidos

Os comprimidos comerciais contendo 5,0 mg de cloridrato de pilocarpina (Salagen®, Novartis) foram colocados individualmente, solubilizados em água, submetidos a banho de ultrassom durante 5 minutos e depois filtrados através de papel qualitativo Whatman 110 mm (Sigma-Aldrich). Comprimidos formulados contendo (comprimidos formulados 1) 5,0 mg de cloridrato de pilocarpina + quitosana (CS) + polímero acrílico carbopol 940® (CBM) ou (comprimidos formulados 2) 5,0 mg de cloridrato de pilocarpina e quitosana (CS) + carboximetilcelulose de sódio (CMC) foram solubilizado em solução tampão KH₂PO₄ (10 mM, pH 5,30 ajustado com ácido fosfórico), submetido a banho de ultrassom durante 5 minutos e depois filtrado através de papel qualitativo Whatman 110 mm (Sigma-Aldrich). O filtrado de ambos comprimidos comerciais e comprimidos formulados de pilocarpina foi transferido

quantitativamente para um balão volumétrico até uma concentração final de 50 µg.mL⁻¹. Todas as amostras foram previamente filtradas através de um filtro de PVDF de 0,45 µm (Merck-Milipore, Darmstadt, Alemanha) e depois submetidas a análise por HPLC (20 µL).

Condições do equipamento e da cromatografia

As análises foram realizadas por HPLC-DAD-UV no equipamento Shimadzu Class-VP no Laboratório de Toxicologia Ambiental, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil; e no equipamento Shimadzu Proeminence no LAPGEN, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Piauí, Brasil. Utilizaram-se como fases móveis diferentes combinações de acetonitrila (ACN), metanol (MeOH) e tampão fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄) ou tampão de acetato de amônio (AAB). Todas as soluções tampão foram filtradas através de um filtro PVDF de 0,45 µm (Merck-Milipore, Darmstadt, Alemanha) antes da utilização. As colunas de HPLC utilizadas foram: C18 com sílica (250mm x 4,6mm x 5µm i.d., ODS Hypersil Thermo, EUA); sílica modificada com cianopropil (250mm x 4,6mm x 5µm i.d., Supelcosil LC-CN, Supelco, EUA); Zic-HILIC (250mm x 4,6mm x 5µm i.d. x 200 0A, SeQuant, Merck, Alemanha). Todas as colunas foram equipadas com pré-colunas da mesma fase estacionária. As condições analíticas testadas estão descritas na tabela 2.

Tabela 2. Condições Testadas para Análise de Cloridrato de Pilocarpina em Comprimidos e para Produtos de Degradação de Pilocarpina.

Condição	Coluna	Fase móvel (v/v)	Temperatura de forno	Taxa de fluxo	pH
1	RP-C18	ACN/ KH ₂ PO ₄ (10 mM) 60:40	50	1.2	5.45
2	RP-C18	ACN/ KH ₂ PO ₄ (30 mM) 60:40	50	1.2	5.45
3	RP-C18	ACN/ KH ₂ PO ₄ (50 mM) 60:40	50	1.2	5.30
4	RP-C18	MeOH/ KH ₂ PO ₄ (10 mM) 60:40	50	1.2	5.45
5	RP-C18	MeOH/ KH ₂ PO ₄ (30 mM) 60:40	50	1.2	5.45
6	RP-C18	ACN/ AAB (10 mM) 55:45	45	2.0	5.10
7	RP-C18	MeOH/ AAB (10 mM) 55:45	45	2.0	5.10
8	RP-CN	ACN/ KH ₂ PO ₄ (10 mM) 60:40	50	1.0	5.30
9	RP-CN	ACN/ KH ₂ PO ₄ (10 mM) 60:40	50	0.8	5.30
10	HILIC-CN	ACN/ KH ₂ PO ₄ (10 mM) 80:20	50	0.8	5.30
11	Zic-HILIC	ACN/ KH ₂ PO ₄ (10 mM) 90:10	40	0.8	5.40
12	Zic-HILIC	ACN/ KH ₂ PO ₄ (10 mM) 80:20	40	0.8	5.40
13	Zic-HILIC	ACN/ KH ₂ PO ₄ (10 mM) 70:30	40	0.8	5.40

Legenda: ACN = acetonitrila; KH₂PO₄ = tampão di-hidrogenofosfato de potássio; AAB = tampão de acetato de amônio; MeOH = metanol; RP-C18 = coluna C18 com base em sílica de fase inversa; RP-CP = coluna de sílica modificada com cianopropil em estado de fase reversa; HILIC-CP = coluna de sílica modificada com cianopropil em condições de cromatografia líquida de interação hidrofílica (para especificação de coluna, ver experimental).

Validação

O método de quantificação do cloridrato de pilocarpina em comprimidos foi validado de acordo com o manual de validação RE 899/2003 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) [13], com a orientação para validação de métodos analíticos DOQ-CGCRE-008/2007 do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (Inmetro) [14] e de acordo com a validação dos procedimentos analíticos do ICH (1995, 1996) [15,16].

Os parâmetros de desempenho analíticos avaliados foram (a) seletividade, (b) linearidade, (b) intra-dia e (c) precisão inter-dia, (d) exatidão, (e) recuperação, (f) robustez e (g) limites de detecção e de quantificação.

As curvas de calibração foram obtidas a partir de soluções padrão de cloridrato de pilocarpina em água ultrapura, preparadas diariamente, a concentrações finais de 200, 150, 80, 50, 10 e 5 µg.mL⁻¹. O volume de injeção foi de 20 µL e todas as determinações foram feitas a 215 nm. A seletividade foi obtida por análise com água ultrapura, quitosana e carbopol, isolados ou em mistura, e com picos de cloridrato de pilocarpina, monitorados a 215 nm. A linearidade foi obtida a partir de três curvas de calibração obtidas em três dias diferentes. A diferença entre os valores experimentais e estimados obtidos pelo modelo linear calculado

utilizando a equação das curvas de calibração foi utilizada para inferir sobre a homocedasticidade.

A precisão intra-dia foi obtida a partir de duas concentrações diferentes (100 e 20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) em triplicata três vezes no mesmo dia e a precisão entre dias foi obtida nas mesmas concentrações (100 e 20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) em triplicata, uma vez por dia em três dias diferentes. A exatidão foi determinada a partir de curvas de calibração nas concentrações de 200, 150, 80, 50, 10 e 5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. A recuperação foi obtida a partir de picos de cloridrato de pilocarpina nas concentrações alta, média e baixa (200, 80 e 5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente). Os testes de robustez foram realizados comparando o melhor parâmetro escolhido para quantificar o cloridrato de pilocarpina com variação em seis parâmetros e em duas concentrações diferentes da amostra (200 e 1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$): concentração do tampão, percentual de acetonitrila na fase móvel, taxa de fluxo, PH, temperatura e marca da acetonitrila (LiChrosolv, Merck-Milipore, Darmstadt, Alemanha). As médias da área obtida em 200 e 1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ da melhor condição foram comparadas estatisticamente com aquelas da variação de seis parâmetros utilizando o teste de Kruskal-Wallis [17]. Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram estabelecidos a partir de diluições em série e observação da relação de sinal (s) / ruído (n) ($\text{LOD} = s / n \geq 3$; $\text{LOQ} = s / n \geq 10$).

Resultados e discussão

Desenvolvimento do Método

Os testes analíticos foram realizados com fases móveis, colunas estacionárias, seleção de tampão e preparação de acordo com a disponibilidade no laboratório e seguindo procedimentos de métodos de desenvolvimento de HPLC [15-16, 18-20]. A transferência foi monitorada intra-dia e inter-dia por injeções em branco. Entre todas as condições testadas, foram selecionadas 13, com base nos melhores cromatogramas, empregando três colunas (C18 à base de sílica, sílica modificada com cianopropil e Zic-HILIC), duas soluções tampão (dihidrogenofosfato de potássio ou acetato de amônio), dois solventes orgânicos (ACN e MeOH), faixa de pH entre 5,10 e 5,45, três temperaturas, quatro taxas de fluxo em condições RP ou HILIC (Tabela 2). A contaminação por transferência não foi observada durante as experiências analíticas.

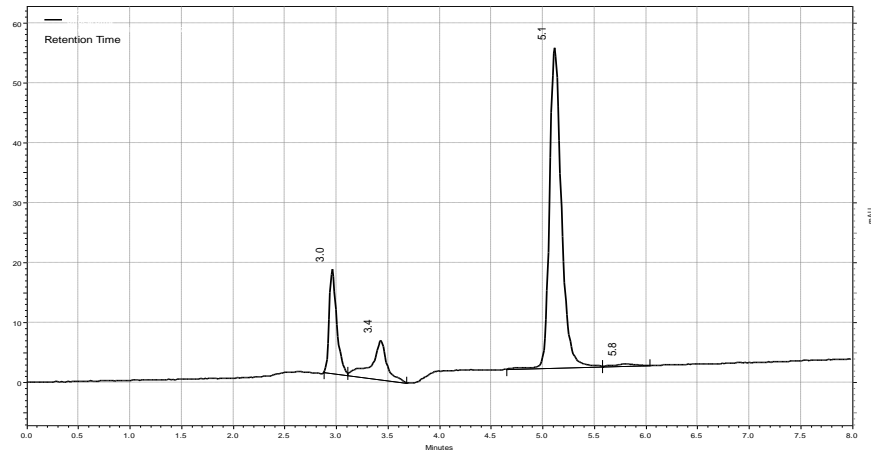
As condições 4, 5 e 7 com MeOH como fase móvel combinada com a coluna C18 não apresentaram resultados satisfatórios, em termos de simetria de sinal (assimetria > 2) de cloridrato de pilocarpina.

As condições testadas 1, 2, 3 e 6 para análise de hidrócloro de pilocarpina com coluna C18 com base de sílica (250 mm x 4,6 mm x 5 µm id, ODS Hypersil Thermo, EUA) e acetonitrila como fase móvel produziram os melhores resultados, em termos de simetria do sinal. A condição 3 foi a melhor para analisar o cloridrato de pilocarpina (Fig. 2A), produzindo excelentes picos de simetria (assimetria de pico = 1,03). No entanto, a elevada concentração de sal dihidrogenofosfato de potássio (KH₂PO₄ 50 mM) na fase móvel levou-nos a lavar o sistema muitas vezes entre a análise para evitar a cristalização na bomba de HPLC e por esse motivo esta concentração de sal não era ideal. Uma vez que a concentração reduzida de sal de fosfato (10 mM, condição 1) proporcionou cromatogramas com um sinal de linha de base mais largo e por esse motivo, não apropriado para a análise.

Os procedimentos 11-13 usando a coluna Zic-HILIC (250 mm x 4,6 mm x 5 µm id x 2000A, SeQuant, Merck, Alemanha), em condições HILIC, apesar de possuir uma boa resolução de sinal, não foram apropriados para a análise quantitativa do cloridrato de pilocarpina devido ao tempo prolongado para a coluna se equilibrar a fim de estabelecer as condições de HILIC, antes da análise.

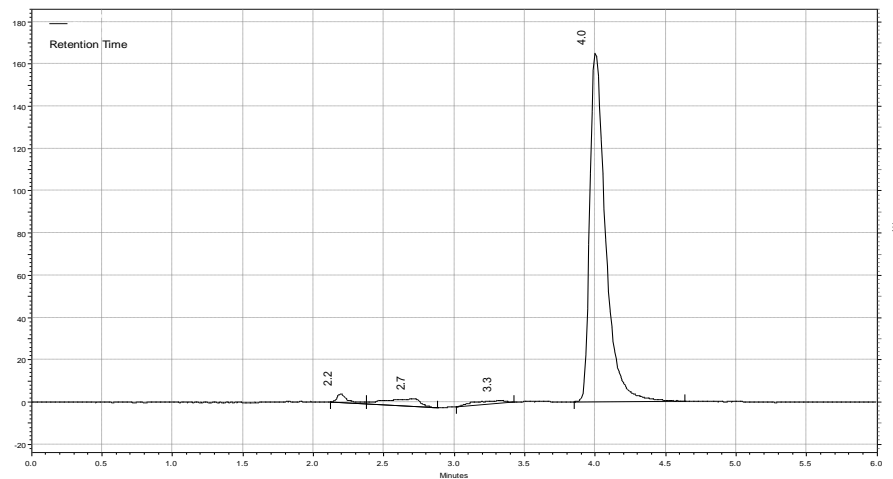
A utilização de uma coluna de sílica modificada com cianopropil (250 mm x 4,6 mm x 5 µm, Supelcosil LC-CN, Supelco, EUA) em fase reversa (RP-CN), condição 8, proporcionou bons cromatogramas (com base na simetria de sinal e fator de retenção para o cloridrato de pilocarpina) em tempo de análise rápido (t_R pilocarpina = 4,0 minutos). A assimetria de pico foi calculada como 1,12, portanto aceitável. A comparação entre a condição 8 e a condição 3, que proporcionou o melhor cromatograma usando coluna C18 com base de sílica (Fig. 2A e 2B), mostrou resultados semelhantes em termos de simetria de pico (assimetria de pico 1,12 e 1,03, respectivamente), mas com menor gasto de fase móvel (1,0 mL.min⁻¹) e maior fator de retenção (k = 1,10) para a condição 8.

Figura 2a - Cromatograma de cloridrato de pilocarpina (SQR- solução aquosa 12,5 µg.mL⁻¹) obtido na condição 3.



Legenda: SQR - Substância Química de Referência.

Figura 2b - Cromatograma de cloridrato de pilocarpina (SQR- solução aquosa 50 µg.mL⁻¹) obtido na condição 8.



Legenda: SQR - Substância Química de Referência.

Assumindo que a condição 8 (Fig. 2B) representa um novo método para quantificar hidrocloreto de pilocarpina com valores superiores de k , simetria de sinal e menor consumo de solvente, essa condução foi utilizada para analisar comprimidos comerciais e formulados. Gomez-Gomar e colaboradores (1989) também utilizaram uma coluna de sílica modificada com cianopropil (Spherisorb-CN, Teknokroma, Barcelona, Espanha), com fase móvel composta por trietilamina-água/ MeOH (Tabela 1) para analisar cloridrato de pilocarpina e seus produtos de

degradação em solução aquosa. No entanto, o tempo total de análise foi de 22 minutos, portanto muito demorada e não adequada à quantificação.

A condição 8 também foi utilizada para analisar os produtos de degradação do cloridrato de pilocarpina. As Figs. 3A e 3B mostram a separação da pilocarpina e seu principal produto de degradação, ácido pilocarpico, com grande seletividade ($\alpha = 2,09$), eficiência e resolução ($RS = 2,02$).

Figura 3a - Cromatograma de produtos de degradação de cloridrato de pilocarpina (ver parte experimental) utilizando a condição 8.

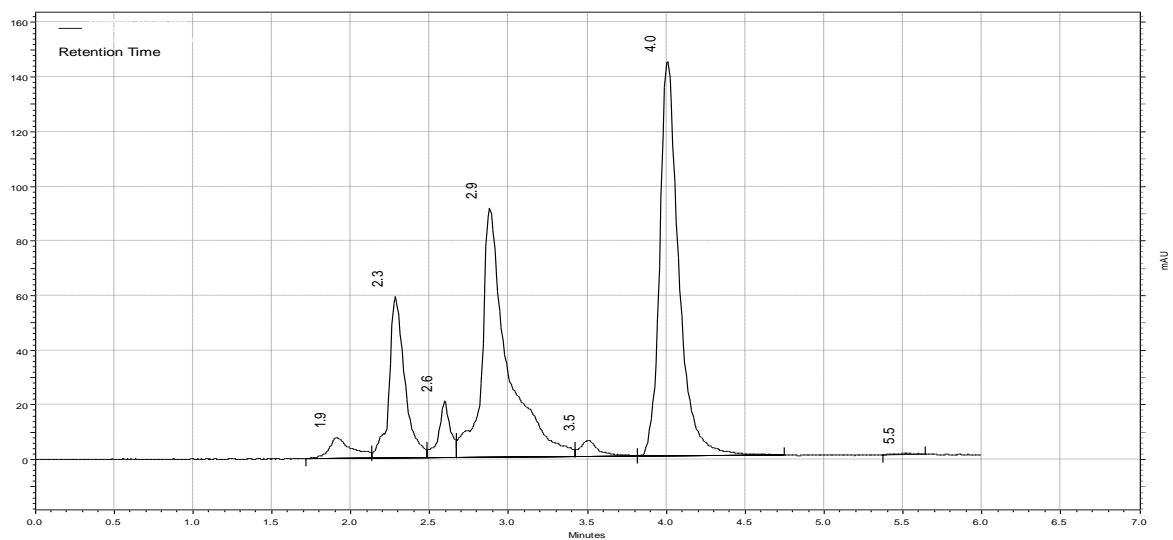
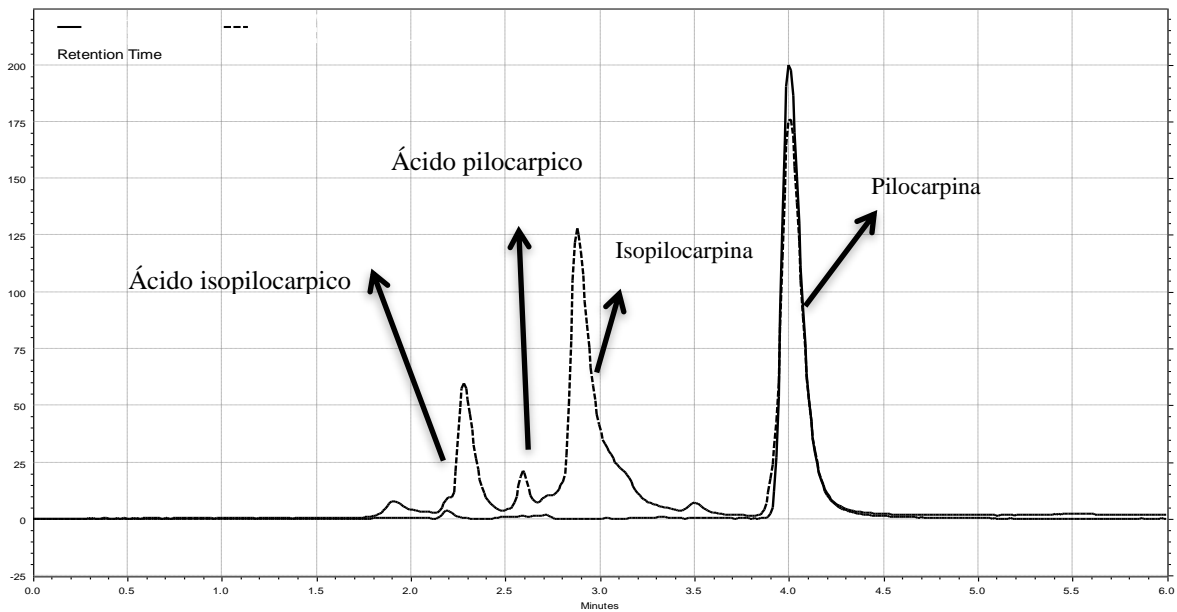


Figura 3b - Sobreposição dos cromatogramas do padrão de cloridrato de pilocarpina (linha única) e dos produtos de degradação da pilocarpina (linha pontilhada) usando a condição 8. Isopilocarpina, ácido pilocarpico e ácido isopilocarpico foram identificados com base nos espectros UV e na ordem de eluição da literatura para seus produtos de degradação (ver referências na Tabela 1).



Validação do método

O método analítico descrito para a condição 8 foi validado quanto a seletividade, linearidade, precisão intra-dia e inter-dia, exatidão, recuperação, robustez e limites de detecção e quantificação (ver parte experimental). As curvas de calibração obtidas na faixa de concentração de 200 a 5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ mostraram excelente linearidade entre os pontos, com $r = 0,9979 \pm 0,0011$ (média e desvio padrão de três curvas de calibração diferentes). A diferença entre valores experimentais e estimados na faixa de concentração de 200 a 5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ mostrou que a distribuição apresenta homocedasticidade. A equação obtida por regressão linear e utilizada para quantificação de amostras foi $\text{ABS} = (49232,0 \pm 1557,5) \times \text{Concentração} + (73087,7 \pm 4576,7)$. Os desvios padrão dos coeficientes linear e angular foram inferiores a 10% ($a = 3,16\%$, $b = 6,26\%$) e, portanto, adequados para quantificação. O LOQ foi determinado em 250 ng.mL^{-1} e LOD em 75 ng.mL^{-1} e portanto, este novo método permite a detecção e a quantificação de cloridrato de pilocarpina em baixas quantidades utilizando um detector UV (a quantidade de cloridrato de pilocarpina é muito maior em preparações comerciais, normalmente 5,0 mg). O método desenvolvido demonstrou ser seletivo, sem interferência de excipientes da

formulação (carboximetilcelulose de sódio, polímero acrílico carbomer 940[®] ou quitosano) como mostrado nas Figs. 4A-4D.

Figura 4a- Cromatograma da amostra de Salagen[®] (80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), obtida na condição 8.

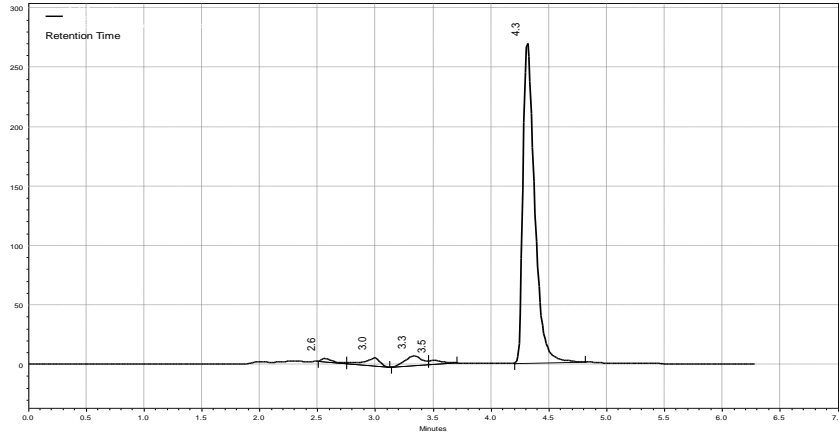


Figura 4b- Cromatograma da amostra 1 de comprimidos formulados (pilocarpina 5,0 mg + carbomer 940[®] + quitosana, solução de trabalho a 80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) obtido na condição 8.

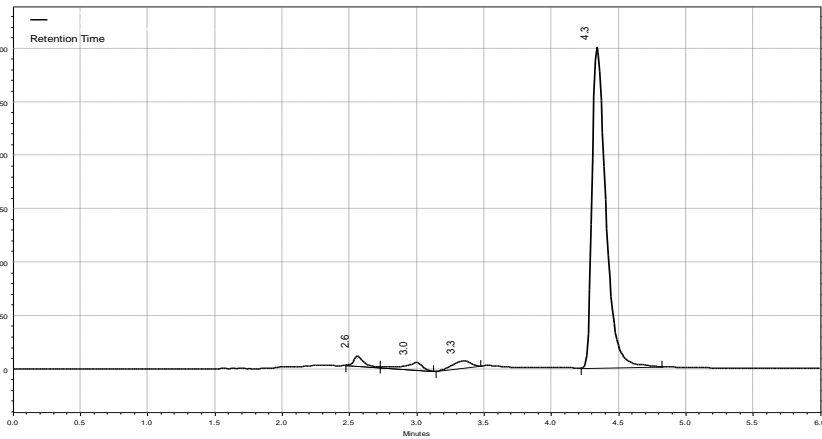


Figura 4c - Cromatograma da amostra 2 dos comprimidos formulados (pilocarpina 5,0 mg + carboximetilcelulose sódica + Solução de Quitosana, 80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), obtido na condição 8.

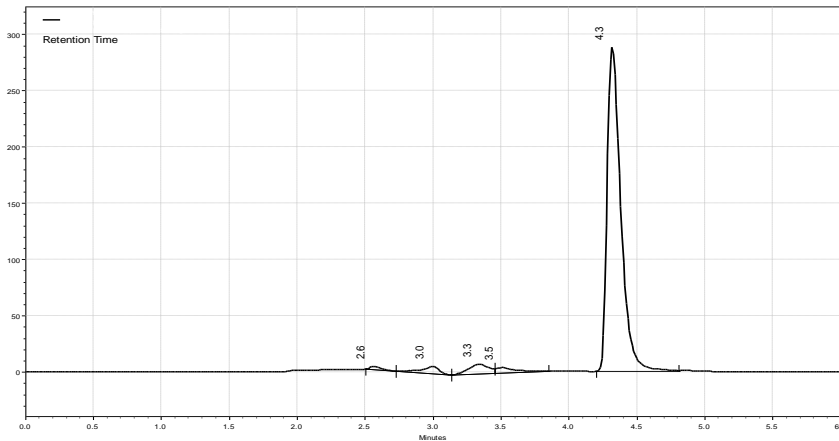
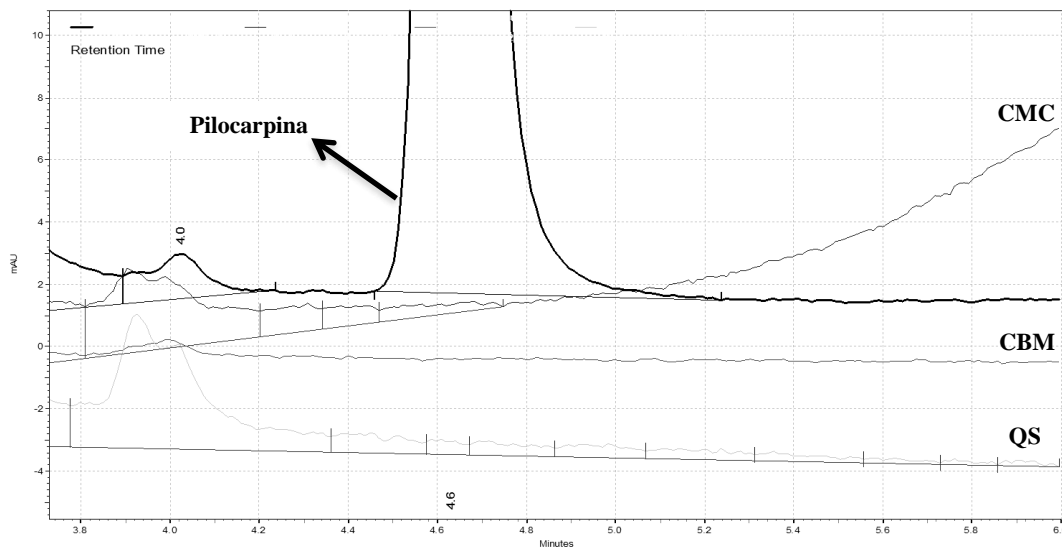


Figura 4d - Sobreposição dos cromatogramas de solução aquosa de pilocarpina ($50 \mu\text{g.mL}^{-1}$), carboximetilcelulose de sódio (CMC), polímero acrílico carbomer 940® (CBM) e quitosana (CS). Todos os adjuvantes foram submetidos à solubilização em água ultrapura até uma concentração final de $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$, e depois foram filtrados através de um filtro de PVDF de $0,45 \mu\text{m}$ antes da análise por HPLC.



A precisão intra-dia e inter-dia foi obtida e mostrou ótimos resultados (Tabela 3). Os valores de exatidão estão em intervalo aceitável (85 - 115%) e também estão listados na Tabela 3. A recuperação obtida a partir de picos de cloridrato de pilocarpina foi de $92,30 \pm 0,27\%$ a $200 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $95,20 \pm 0,19\%$ a $80 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e $91,60 \pm 0,31\%$ a $5 \mu\text{g.mL}^{-1}$. A robustez testada dentro de 6 parâmetros não mostrou diferença significativa para todas as médias em comparação com os testes de Kruskal-Wallis [17] (Tabela 4).

Tabela 3. Precisão e exatidão do método analítico.

Precisão							Exatidão				
Intra-dia			Inter-dia								
Concentração											
ug.mL ⁻¹	AVR	SD	RSD%	AVR	SD	RSD%	Experimental*	Calculado**	Δ[]	SD	RSD%
200							9727834	9919487	-191652	- 3.89	95.55
150							7587797	7457887	129910	+ 2.63	101.33
100	4995427	40873	0.82	4989732	129691	2.60					
80							4278527	4011647	266880	+ 5.42	106.77
50							2504950	2534687	-29736	- 0.60	98.80
20	1073727	9663	0.90	1068912	21378	2.00					
10							496450	565407	-68956	- 1.40	86.00
5							288720	319247	-30527	- 0.62	87.60

A quantidade de pilocarpina declarada por comprimido em ambas as amostras é de 5,0 mg. A concentração final da amostra antes da análise por HPLC foi de 50 µg.mL⁻¹.

*Obtido a partir de três injeções em triplicata em três dias diferentes; ** Calculado a partir da curva analítica $ABS = (49232,0 \pm 1557,5) \times \text{concentração} + (73087,7 \pm 4576,7)$; $\Delta []$ = diferença de concentração; $\square\%$ = diferença em percentagem.

Table 4. Parâmetros de robustez testados para cloridrato de pilocarpina em solução aquosa (200 e 1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$).

Parâmetros	Condições							
	0	1	2	3	4	5	6	
Concentração do tampão fosfato mM	A	a	A	A	A	A	A	
Porcentagem de ACN na fase movel	B	B	b	B	B	B	B	
Taxa de fluxo mL.min ⁻¹	C	C	C	c	C	C	C	
Tampão pH	D	D	D	D	d	D	D	
Temperatra de forno °C	E	E	E	E	E	e	E	
Marca da ACN	F	F	F	F	F	F	f	
Concentração da amostra $\mu\text{g.mL}^{-1}$								
200	9636617	9438875	9356464	9023919	8977370	9142228	9227969	
200	9376527	9116174	9549760	9053490	8909480	9690788	9573346	
200	9770984	9319290	9222646	8967496	8975537	9620713	9419902	
200	9567624	9062258	9680724	9257822	8941660	9324742	9016864	
AVR	9587938	9234149	9452398	9075681	8951011	9444617	9309520	
SD	164299	175714	202979	126558	32190	256528	240892	
RSD%	1.71	1.90	2.15	1.39	0.36	2.72	2.59	
Concentração da amostra $\mu\text{g.mL}^{-1}$								
1	44344	39616	44820	38783	38394	39348	40659	
1	42295	42402	42774	39871	38699	38333	38747	
1	41722	41416	42338	39236	40295	42236	38628	
1	44012	40461	40242	38276	39271	41716	37290	
AVR	43093	40974	42543	39041	39164	40408	38831	
SD	1281	1203	1877	678	837	1869	1386	
RSD%	2.97	2.94	4.41	1.74	2.14	4.63	3.57	

Condição: 0 = melhor condição cromatografica 8 – A= 10 mM, B = 60, C = 1.0, D = 5.30, E = 50, F = Tedia; 1 – a = 11 mM, B = 60, C = 1.0, D = 5.30, E = 50, F = Tedia; 2 - A= 10 mM, b = 61, C = 1.0, D = 5.30, E = 50, F = Tedia; 3 - A= 10 mM, B = 60, c = 1.1, D = 5.30, E = 50, F = Tedia; 4 - A= 10 mM, B = 60, C = 1.0, d = 5.20, E = 50, F = Tedia; 5 - A= 10 mM, B = 60, C = 1.0, D = 5.30, e = 45, F = Tedia; 6 - A= 10 mM, B = 60, C = 1.0, D = 5.30, E = 50, f = Lichrosolv.

Nenhuma diferença estatística (teste de Kruskal-Wallis [17]) entre a média para ambas as concentrações.

Um total de 10 comprimidos comerciais (Salagen®, Novartis) e 20 comprimidos formulados de cloridrato de pilocarpina foram quantificados (Tabela 5). O teor de cloridrato de pilocarpina estava na gama especificada pelo produtor Salagen® ($4,81 \pm 0,07$ mg/ comprimido, $96,16 \pm 1,33\%$) e pela formulação em comprimidos de carbomer 940® + quitosana ($4,80 \pm 0,02$ mg/ comprimido, $95,99 \pm 0,49\%$) e em comprimidos de carboximetilcelulose de sódio + quitosana ($4,95 \pm 0,04$ mg/ comprimido, $99,08 \pm 0,79\%$).

Conclusão

Os ensaios cromatográficos sobre HPLC-DAD para cloridrato de pilocarpina em solução aquosa permitiram estabelecer os melhores parâmetros cromatográficos em termos de simetria de sinal e factor de retenção. Os melhores parâmetros cromatográficos foram alcançados em termos de seletividade ($\alpha=2,09$), eficiência e resolução ($R_s=2,02$) para separar pilocarpina e ácido pilocarpico em tempo rápido (6 minutos). Foi possível validar um novo método analítico para a dosagem de cloridrato de pilocarpina em comprimidos utilizando um procedimento de extração simples e eficiente (água ultrapura para comprimidos comerciais ou tampão di-hidrogenofosfato de potássio 10 mM para comprimidos formulados), coluna de sílica cianopropil modificada, com fase móvel isocrática com ACN/ tampão di-hidrogenofosfato de potássio 10 mM (60:40,v/v), pH 5,30, temperatura do forno de 50 °C e taxa de fluxo de 1,0 mL.min⁻¹. O teor de cloridrato de pilocarpina estava na gama especificada para comprimidos comerciais e formulados.

Tabela 5. Teor de cloridrato de pilocarpina em comprimidos formulados e comerciais (Salagen®, Novartis).

Amostra	Média da área de sinal	SD	RSD%	Media de concentração ug.mL ⁻¹	SD	Média de percentual	SD	Média do teor de pilocarpina/comprimido mg	SD
Formulação 1									
Comprimido 1	2397176	14372	0.63	47.13	0.31	94.27	0.61	4.71	0.03
Comprimido 2	2428684	12236	0.53	47.77	0.26	95.55	0.52	4.78	0.03
Comprimido 3	2446140	12144	0.52	48.13	0.26	96.25	0.52	4.80	0.03
Comprimido 4	2357938	24851	1.11	46.34	0.53	92.67	1.06	4.62	0.05
Comprimido 5	2467641	13280	0.57	48.56	0.28	97.13	0.57	4.87	0.03
Comprimido 6	2449928	12173	0.52	48.20	0.26	96.41	0.52	4.83	0.03
Comprimido 7	2433658	5015	0.22	47.87	0.11	95.75	0.21	4.79	0.01
Comprimido 8	2469551	3602	0.15	48.60	0.08	97.21	0.15	4.87	0.01
Comprimido 9	2466771	14234	0.61	48.55	0.30	97.09	0.61	4.84	0.03
Comprimido 10	2497198	2100	0.09	48.80	0.04	97.60	0.09	4.89	0.00
Média						95.99	0.49	4.80	0.02
Formulação 2									
Comprimido 1	2430315	15061	0.62	50.27	0.32	100.55	0.64	5.03	0.03
Comprimido 2	2413604	17113	0.71	49.92	0.36	99.84	0.73	4.99	0.04
Comprimido 3	2329994	12704	0.55	48.13	0.27	96.27	0.54	4.80	0.03
Comprimido 4	2350527	67160	2.86	48.57	1.43	97.14	2.86	4.85	0.14
Comprimido 5	2350134	13280	0.57	48.56	0.28	97.13	0.57	4.87	0.03
Comprimido 6	2408453	15156	0.63	49.81	0.32	99.62	0.65	4.99	0.03
Comprimido 7	2418400	10150	0.42	50.02	0.22	100.04	0.43	5.00	0.02
Comprimido 8	2436184	10096	0.41	50.40	0.22	100.80	0.43	5.05	0.02
Comprimido 9	2398455	12834	0.54	49.59	0,27	99.19	0.55	4.95	0.03
Comprimido 10	2421819	12014	0.50	50.09	0,26	100.19	0.51	5.02	0.03
Média						99.08	0.79	4.95	0.04
Salagen®									
Comprimido 1	2520892	52743	2.09	49.72	1.07	99.44	2.14	4.97	0.11

Comprimido 2	2434162	12496	0.51	47.96	0.25	95.92	0.51	4.80	0.03
Comprimido 3	2385034	75157	3.15	46.96	1.53	93.92	3.05	4.70	0.15
Comprimido 4	2521334	34884	1.38	49.73	0.71	99.46	1.42	4.97	0.07
Comprimido 5	2370848	87972	3.71	46.67	1.79	93.34	3.57	4.67	0.18
Comprimido 6	2429696	17693	0.73	47.87	0.36	95.73	0.72	4.79	0.04
Comprimido 7	2425091	6826	0.28	47.77	0.14	95.55	0.28	4.78	0.01
Comprimido 8	2398349	11501	0.48	47.23	0.23	94.46	0.47	4.72	0.02
Comprimido 9	2416627	15674	0.65	47.60	0.32	95.20	0.64	4.76	0.03
Comprimido 10	2499612	13044	0.52	49.29	0.26	98.58	0.53	4.93	0.03
Média						96.16	1.33	4.81	0.07

A quantidade de pilocarpina declarada por comprimido em amostras comerciais e formuladas é de 5,0 mg. A concentração final da amostra antes da análise por HPLC foi de 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Formulação 1 = pilocarpina 5,0 mg + carbómero 940 + quitosana; Formulação 2 = pilocarpina 5,0 mg + carboximetilcelulose de sódio + quitosana [12].

Referencias

- SANTOS, A.P. AND MORENO, P.R.H. *Pilocarpus* spp.: A survey of its chemical constituents and biological activities. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2004, 40(2), 115-137.
- SAWAYA, A.C.H.F.; VAZ, B.G.; EBERLIN, M.N.; MAZZAFERA, P. Screening species of *Pilocarpus* (Rutaceae) as sources of pilocarpine and other imidazole alkaloids. *Genet Resour Crop Evol*, 2011, 58, 471-480.
- RIEKE, J.W.; HAFERMANN, M.D.; JOHNSON, J.T.; LEVEQUE, F.G.; IWAMOTO, R.; STEIGER, B.W.; Muscoplat, C.; Gallagher, S.C. Oral pilocarpine for radiation-induced xerostomia: Integrated efficacy and safety results from two prospective randomized clinical trials. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 1995, 31(3), 661-669.
- HENDRICKSON, R.G.; MOROCCO, A.P.; GREENBERG, M.I. Pilocarpine toxicity and the treatment of xerostomia. *The Journal of Emergency Medicine*, 2004, 26 (4), 429-432.
- BUNDGAARD, H. AND HANSEN, S.H. Hydrolysis and epimerization kinetics of pilocarpine in basic aqueous solution as determined by HPLC. *Internatiol Journal of Pharmaceutics*, 1982,10, 281-289.
- FAN, T.Y.; WALL, G.M.; STERNITZKE, K.; BASS, L.; MORTON, A.B.; MUEGGE, E. Improved high-performance liquid chromatographic determination of pilocarpine and its degradation products in ophthalmic solutions Importance of octadecylsilane column choice. *Journal of Chromatogr. A*, 1996, 740, 289-295.
- GOMEZ-GOMAR, A.; GONZALEZ-AUBERT, M.; COSTA-SEGARRA, J. HPLC method for the simultaneous determination of pilocarpine, isopilocarpine, pilocarpic acid and isopilocarpic acid. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis*, 1989, 7 (12), 1729-1734.
- OLSEN, B.A.; CASTLE, B.C.; MYERS, D.P. Advances in HPLC technology for the determination of drug impurities. *Trends in Analytical Chemistry*, 2006, 25(8), 796-805.
- GALEA, C.; MANGELINGS, D.; HEYDEN, Y.V. Characterization and classification of stationary phases in HPLC and SFC – a review. *Anal. Chim. Acta*, 2015, 30(886), 1-15.
- RAVICHANDRAN V.; SHALINI S.; SUNDRAM K.M.; HARISH R. Validation of analytical methods – Strategies & Importance. *Int J Pharmacy and Pharm Sci*, 2010, 2(3), 18-22.

- Ibrahim, H.; Boye, T.; Wermeille, M.; Gurny, R.; Buri, P. Determination of pilocarpine by HPLC in presence of isopilocarpine and a pH-sensitive polymer in ophthalmic dispersions. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis*, 1997, 5(4), 379-382.
- SÁ, L.L.F. Technological development of Pilocarpine tablets for Xerostomia treatment. Master Degree Thesis, Federal University of Piauí, Piauí, Basil, November, 2013.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolu o n  899, de 29 de maio de 2003. Guia para valida o de métodos analíticos e bioanalíticos. <http://portal.anvisa.gov.br> (Accessed November 2015).
- INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA. DOQ-CGCRE-008 - Orienta o sobre valida o de Métodos analíticos. <http://www.inmetro.gov.br> (Accessed November 2015).
- INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION (ICH), Q2 A (R1) Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Validation of analytical procedures. <http://www.ich.org> (Accessed November 2015)
- INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION (ICH), Q2 B (R1) Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Validation of analytical procedures. <http://www.ich.org> (Accessed November 2015)
- SUSIN, C. Basic statistical analysis for dental research. In: Handbook of scientific methodology. 1st ed.; Rode, S.M.; Dias, K.R.H.C.; França, C.M. IADR latinoamericana; 2009.
- SNYDER, L.R.; KIRKLAND, J.J.; GLAJCH, J.L. Practical HPLC Method Development, 2nd ed., New York: Wiley-Interscience, 1997.
- AHUJA, S. AND DONG, M.W. Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC. 1st ed., London UK: Elsevier, 2005, 6, 679p.
- SARAIVA, F.R.S.; INOUE, T.Y.; CAMARGO, S.S.; MALHEIROS, A.; SILVA, R.M.L.; BRESOLIN, T.M.B. Rapid HILIC Method for Assay and Dissolution Analysis of Rivastigmine Hydrogen Tartrate from Hydrophilic Matrix. *Current Pharmaceutical Analysis*, 2014, 10(3), 169-174.

CAPÍTULO 3

CHITOSANA COMO PLATAFORMA PARA PREPARAÇÃO DE COMPRIMIDOS MUCOADESIVOS PARA LIBERAÇÃO MODIFICADA DE PILOCARPINA

Laisa Sá¹, Ana Figueiras², António Ribeiro², Célia Cabral², Alberto Pais³, Francisco Veiga², José Lamartine Sobrinho⁴, Lívio Nunes¹.

1-Pharmacy Department, Federal University of Piauí, State of Piauí, Brazil. 2-Faculty of Pharmacy, University of Coimbra, Portugal; 3-Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, University of Coimbra, Portugal; 4-Pharmacy Department, Federal University of Pernambuco, State of Pernambuco, Brazil.

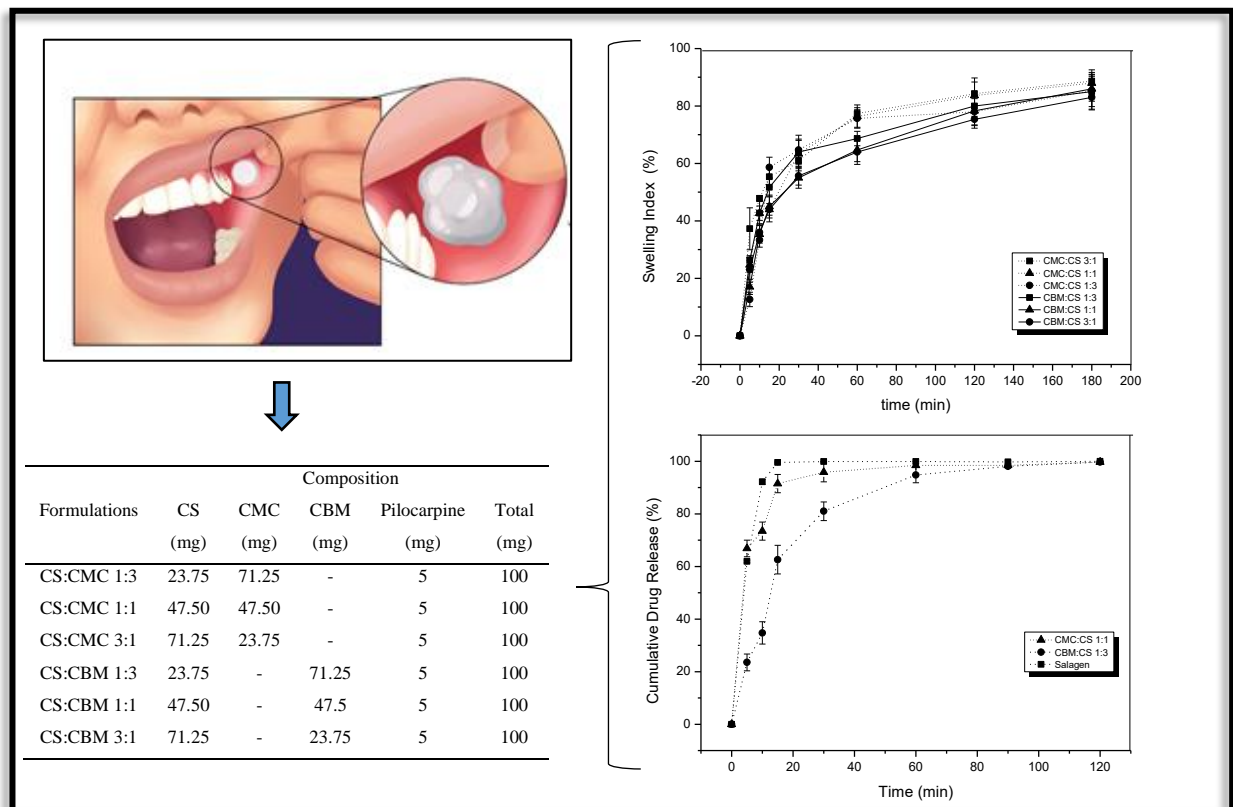


Gráfico síntese

Resumo

A adição de quitosana a outros polímeros para formação de blendas, a fim de aumentar a interação com as membranas mucosas e a modulação da liberação do fármaco, é bastante discutida. Neste estudo, a quitosano (CS) foi associada com carboximetilcelulose de sódio (CMC) e carbopol 940 (CBM) em proporções de 1: 3, 1: 1 e 3: 1 com o objetivo de obter um sistema de liberação sustentada para pilocarpina, um agonista colinérgico com atividade silagoga, utilizada no tratamento da xerostomia. As misturas produzidas foram caracterizadas por diferentes técnicas, e estudos de citotoxicidade. Depois, os discos foram preparados e sua performance mucoadesiva e perfil de liberação do fármaco foram avaliados. Os resultados de FTIR e TG/DTA mostram o estabelecimento de interações entre as misturas de CMC:CS e CBM:CS. Os estudos de citotoxicidade revelaram que o CBM induz a morte celular em todas as concentrações testadas. No entanto, a toxicidade de suas misturas diminui com o aumento da quantidade de CS na formulação. Os discos contendo CBM: CS (1: 3) e CMC: CS (1: 1) foram selecionados para os estudos de liberação de pilocarpina devido à sua compatibilidade com o pH da mucosa bucal, desempenho mucoadesivo e intumescimento crescente de forma linear. O perfil de dissolução para Salagen[®] - (formulação de referência) e discos contendo CS: CMC (1: 1) pode ser considerado de liberação imediata. Por outro lado, os discos contendo CBM: CS (1:3) seguem um modelo de primeira ordem sugerindo que o mecanismo de liberação é principalmente baseado na difusão de Fick, com um tempo médio de dissolução (MDT) próximo de 20min e sustentando a liberação do medicamento durante 1h, proporcionando uma boa plataforma bucoadesiva para liberação de pilocarpina na cavidade bucal.

Palavras-chave: Comprimidos mucoadesivos; adesivos, bucal, pilocarpina, quitosana, liberação controlada, xerostomia.

Introdução

A Xerostomia, também conhecida como "boca seca", é uma condição comum, mas freqüentemente negligenciada, tipicamente associada à hipofunção da glândula salivar (Plemons, Al-Hashimi e Marek, 2014). Aproximadamente 50% da população idosa e 20% dos adultos mais jovens sofrem com isso devido a câncer, síndrome de sjogren ou reação adversa a medicamentos (Mortazavi et al., 2014). Os tratamentos atualmente disponíveis, como substitutos salivares, proporcionam alívio temporário, na melhor das hipóteses, funcionando como paliativo para manejo da qualidade de vida desses pacientes (Vivino et al., 1999). Entretanto, estes geralmente acham essa alternativa medicamentosa dispendiosa, ineficazes, inconveniente ou irritantes (Bots et al., 2005).

A pilocarpina é um composto obtido a partir das folhas de arbustos sul-americanos do gênero *Pilocarpus*. É um alcalóide colinérgico parassimpáticomimético que atua nos receptores muscarínicos-M₃ e pode causar a contração de células musculares lisas em humanos e estimulação das glândulas exócrinas (Taylor, 1990; Davies et al., 2015). Os comprimidos para administração oral de cloridrato de pilocarpina (Salagen[®]), contendo 5mg de ativo, tomados 3-4 vezes ao dia, são indicados para o tratamento da xerostomia. No entanto, esses comprimidos estão associados a uma alta taxa de falha devido a efeitos colaterais graves que levam à cessação da terapia (Noaiseh, Baker e Vivino, 2014). Em um ensaio controlado randomizado ajustado por dose, 23% dos pacientes foram trocados do regime de 7,5 mg para 5 mg após 6 semanas de tratamento (Papas et al., 2004). Esse e outros estudos sugerem, portanto que a dose mais baixa é melhor tolerada (Ramos-Casals et al., 2012; Davies et al., 2015).

Para contornar este problema considera-se a opção de formulações tópicas, que em contato com a mucosa bucal, promova a liberação do fármaco e permita o efeito farmacológico antes da absorção sistêmica do primeiro. Os sistemas mucoadesivos são alternativas de liberação de fármacos que têm o potencial de liberação controlada somado as propriedades mucoadesivas que proporcionam uma atuação direcionada, promovendo uma interação íntima com a camada de muco (Boddupalli et al., 2010). As formulações bucais devem possuir uma alta resistência à troca de muco, proporcionando contato prolongado entre a fármaco e a mucosa. Uma alternativa tecnológica surgida recentemente foi o disco, ou comprimido mucoadesivo. Estes discos são formados por polímeros que interagem diretamente com a camada de muco que reveste as células locais (Cid et al., 2012).

Este muco é um excelente lubrificante constituído por mucina, uma glicoproteína que ao pH oral forma uma estrutura de gel altamente coesa. As mucinas são glicoproteínas com

cadeias laterais de péptidos e cadeias laterais de oligossacarídeos, que geralmente terminam em resíduos de ácido siálico que criam uma carga negativa global na cavidade oral, com um pH de aproximadamente 6,8 (Meng-Lund et al., 2014). Assim, o muco desempenha um papel importante na adesão dos discos mucoadesivos. Por outro lado, a liberação controlada do fármaco ajuda a evitar a perda no processo de deglutição e lavagem salivar e espalha-a através da superfície da mucosa, aumentando a eficácia terapêutica quando comparada às formulações convencionais (Cid et al., 2012) (Morales & McConville, 2011).

As propriedades exigidas para o polímero ser administrado na cavidade oral incluem a presença de grupos que possuem capacidade de formação de ligação de hidrogênio e/ou interações iônicas fortes com a mucina (Salamat-Miller, Chittchang e Johnston, 2005). Os polissacarídeos geralmente são preferíveis aos polímeros sintéticos porque possuem baixa toxicidade e baixo custo associados (Shiledar, Tagalpallewar e Kokare, 2014). Nesse sentido, quitosana (CS) emergiu como um potencial excipiente farmacêutico devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e propriedades mucoadesivas. É um biopolímero catiónico obtido a partir da desacetilação da quitina, que se encontra no exoesqueleto de crustáceos e insetos. Após a celulose, é o composto orgânico mais abundante na natureza (Abdollahi, Rezai e Farzi, 2012), (Yu et al., 2013), (Benediktsdottir, Baldursson e Masson, 2014). CS contém unidades de glucosamina e acetilglucosamina, que possuem grupos amina (-NH₂) responsáveis pelo seu comportamento catiônico. Além disso, apresenta um caráter hidrofílico devido à presença de vários grupos hidroxilas (-OH) (Pattnayak & Nayak, 2013). Assim, CS é capaz de interagir com as mucinas na camada de muco pelo estabelecimento de interações eletrostáticas, hidrofóbicas, hidrofílicas e ligação de hidrogênio (Meng-Lund et al., 2014).

No entanto, CS mostra uma baixa compressibilidade quando utilizado isoladamente na preparação de formulações sólidas do tipo comprimido (Szymanska et al., 2014). Por este motivo, os comprimidos contendo CS foram associados à excipientes alternativos para conferir maior resistência. Para isso foram selecionados os polímeros sintéticos com também propriedades adesivas, incluindo os poliacrílicos do tipo Carbomer® (CBM) e um derivado da celulose, carboximetilcelulose (CMC), ambos polímeros aniônicos com tempos de mucoadesão referidos em alguns estudos, próximos de 10 e 4 h, respectivamente (Grabovac, Guggi e Bernkop-Schnurch, 2005).

Este estudo é dirigido para a preparação e caracterização de mistura polimérica entre quitosana e polímeros sintéticos, selecionados para desenvolver matriz polimérica para

administração controlada de pilocarpina. A partir desta matriz, comprimidos serão desenvolvidos com intuito de obter uma formulação para o tratamento da xerostomia.

Cultura celular, materiais e métodos

Todos os reagentes e substâncias químicas foram utilizadas como recebidas, incluindo CS (Quitosana - Polymar - Brazil, Lote: 20091115, Grau de Desacetilação: 75%, Peso Molecular: 31 kDa), CMC (carboximetilcelulose de sódio - AtivosMagistrais – Brazil, Lote: ACX01122F4, Grau de substituição (SD) 0,95, peso molecular: 700 kDa), CBM (Carbomero 940[®] - Pharma Nostra - Brazil, Lot: 12672106F, 72 kDa) e pilocarpina (Vegeflora – Brazil, Lote: VC-1101). Tripsina, 3 - (4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 brometo de difeniltetrazol (MTT) foi adquirida da Sigma-Aldrich Co. Ltd., Dorset, UK. As células de fibroblasto (linhagem COS-7) foi obtida da ATCC[®] (CRL-1651) e gentilmente cedida pelo Prof. Dr Marco Lemos (MARE – Marine and Environmental Sciences Centre, ESTM, Instituto Politécnico de Leiria, Peniche, Portugal). Os fibroblastos foram cultivados em meio de Dulbecco's modificado (DMEM) suplementado com 10% (v/v) de soro bovino fetal, 12mM de bicarbonato de sódio, 1% de estreptomicina e 1% de penicilina a 37°C em uma atmosfera humidificada de 95% ar e 5% CO₂.

Caracterização físico-química das blendas

As misturas preparadas foram caracterizadas por análises térmicas (TG e DTA) e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).

Os espectros das matérias-primas e misturas físicas foram registrados usando um espectrômetro Perkin-Elmer. Os espectros foram avaliados em reflectância total atenuada usando cristal de diamante (ângulo de incidência = 45°). A aquisição foi realizada com a aplicação de 64 varreduras a uma resolução de 4cm⁻¹ na faixa de 4000-400 cm⁻¹.

A caracterização térmica foi realizada usando uma termobalança modelo Shimadzu DTG-60H sob uma atmosfera de nitrogênio a uma taxa de fluxo de 50 mL / min. O comportamento térmico foi estudado através do aquecimento das amostras (5 mg) em uma panela de alumínio selada de 25 a 600°C, a uma taxa de 10°C / min. Os dados foram analisados usando o software TA-60WS (ThermaAnalysis) versão 2.20 do Shimadzu[®].

Estudo de citotoxicidade in vitro das blendas (Ensaio MTT para viabilidade celular)

A viabilidade celular foi avaliada para as formulações preparadas sobre fibroblastos (Cos7). A avaliação da viabilidade celular foi realizada por meio de um ensaio colorimétrico utilizando o teste de redução MTT, conforme relatado anteriormente (Mosmann, 1983). Os fibroblastos foram cultivados a densidade de $0,1 \times 10^6$ células/poço, em microplacas de 96 poços num volume final de 200 μ L durante 24 horas e foram ainda tratados com as diferentes formulações.

Após 24h, foram adicionados 20 μ L de uma solução de MTT (5 mg / mL em PBS) por poço e as células foram ainda incubadas durante 3 horas a 37°C em uma atmosfera humidificada de 95% de ar e 5% de CO₂. Após este período de tempo de incubação com MTT, os sobrenadantes foram descartados e 100 μ L de dimetilsulfóxido (DMSO) foram adicionados a cada poço. A quantificação de cristais de formazan foi realizada utilizando um leitor de microplacas ELISA a 570 nm com um comprimento de onda de referência de 620 nm. Foram realizadas quatro experiências independentes com as formulações. Os resultados foram expressos como porcentagem de redução de MTT em relação às células de controle.

Todos os experimentos foram realizados em triplicata, sendo os resultados expressos como média \pm desvio padrão de três experiências independentes. As análises estatísticas foram realizadas com ANOVA unidirecional, com um teste de comparação múltipla de Dunnett. Os testes estatísticos foram aplicados usando GraphPad Prism, versão 6.00 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).

Preparação e caracterização dos comprimidos adesivos de pilocarpina

Os comprimidos bucoadesivos de pilocarpina utilizando CS como principal polímero mucoadesivo foram preparados por método de compressão direta. As quantidades desejadas de pilocarpina, CS, CMC e CBM foram misturadas a seco durante 15 minutos usando gral. Os comprimidos foram obtidos por um método de compressão direta usando uma prensa hidráulica (Specapress®) com punções de 7 mm de diâmetro e pressão constante de 2 toneladas. A composição dos discos foi mostrada na Tabela 1. A área superficial do comprimido exposto na mucosa bucal foi de 3,846 cm².

A dureza dos comprimidos foi determinada pelo durômetro de modelo Ethik® 298. A uniformidade de peso dos discos foi realizada de acordo com o método oficial dado na USP (United States Pharmacopeia-24, 2000). O pH da superfície foi medido (n = 3) depois de molhar os discos com tampão de fosfato (pH $6,8 \pm 0,05$) durante 2 h à temperatura ambiente.

Tabala 1. Composição dos comprimidos desenvolvidos.

Formulação	Composição				
	CS (mg)	CMC (mg)	CBM (mg)	Pilocarpine (mg)	Total (mg)
CS:CMC 1:3	23.75	71.25	-	5	100
CS:CMC 1:1	47.50	47.50	-	5	100
CS:CMC 3:1	71.25	23.75	-	5	100
CS:CBM 1:3	23.75	-	71.25	5	100
CS:CBM 1:1	47.50	-	47.5	5	100
CS:CBM 3:1	71.25	-	23.75	5	100

Estudo de intumescimento

O comportamento de intumescimento (n = 3) dos comprimidos foi avaliado de acordo com Gowthamarajan et al. (Gowthamarajan et al., 2012). Para este fim, os comprimidos foram pesados individualmente (W1) e depois colocados numa placa de Petri contendo tampão fosfato a pH 6,8. Em tempos fixos, os discos foram removidos, o excesso de água em sua superfície foi descartado e os discos inchados foram novamente pesados (W2). O índice de intumescimento (SI) foi calculado de acordo com a seguinte fórmula.

$$SI = \frac{W2 - W1}{W1} \times 100$$

Tempo de mucoadesão ex vivo

O tempo de mucoadesão ex vivo foi realizado (n = 3) após a aplicação dos discos em uma mucosa bucal porcina recém cortada utilizando a metodologia adaptada de Perioli et al. (Perioli et al., 2004). Para este propósito, os tecidos bucais porcinos foram fixados no lado interno de uma cuba de dissolução com cola de cianoacrilato e, em seguida, cada comprimido foi molhado com 50 µL de tampão de fosfato (pH 6,8) e fixados com uma pressão de um dedo (aproximadamente 2N) sobre o tecido durante 20s. A cuba de dissolução foi preenchida com 500 mL de tampão de fosfato (pH 6,8) e mantido a 37 °C. Após 2 min, aplicou-se uma taxa de agitação de 50 rpm para simular o ambiente da cavidade bucal e a adesão do disco foi monitorada visualmente até o desprendimento ou a completa dissolução.

Força de mucoadesão Ex vivo

A força mucoadesiva foi determinada ($n = 4$) com um analisador de textura TAXT plus (Stable Micro Systems, Godalming, Surrey, Reino Unido) usando mucosa bucal porcina recém-isolada, adaptando a metodologia descrita por Sogias et al. (Sogias et al, 2012). Os seguintes parâmetros de teste foram estabelecidos: velocidade de teste 0,5 mm/s, velocidade de retorno 0,5mm/s, força aplicada 2 N, tempo de contato 20 s e temperatura 37 ° C.

Doseamento da pilocarpine por HPLC

O método para quantificar o cloridrato de pilocarpina em comprimidos foi validado de acordo com o manual de validação RE 899/2003 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Este trabalho foi publicado anteriormente no BenthanScience Journal (de Lima Moreira et al., 2016).

Estudo de perfil de liberação in vitro

O comportamento de liberação da pilocarpina a partir dos comprimidos preparados foi investigado ($n = 3$) pelo aparelho de dissolução USP, equipado com cestas (Nova Etica, Brasil), adaptando a metodologia descrita anteriormente por Perioli et al (Perioli et al., 2004) e Gowthamarajan et al. (Gowthamarajan et al., 2012). Cada disco foi colocado na cesta e imerso em 40 mL de tampão de fosfato (pH $6,8 \pm 0,05$) a $37 \pm 0,5$ ° C, para manter as condições sink. A velocidade de rotação da cesta foi mantida a 50 rpm. As amostras foram coletadas aos 5, 10, 15, 30, 60, 90 e 120 min, filtradas através de filtros de 0,22 μ m com membrana de PTFE (politetrafluoretileno) hidrofílica, analisadas por HPLC-DAD a 215 nm. Foram feitas três repetições para cada experimento. A porcentagem cumulativa de liberação de fármaco foi calculada. Os valores de dissolução foram interpretados estatisticamente usando o teste t de Student com $p \leq 0,05$.

Modelos matemáticos para comparar os perfis de liberação

Para avaliar a curva de liberação de fármaco foram utilizados modelos matemáticos dependentes e independentes. Para o primeiro os seguintes parâmetros, incluindo porcentagem de liberação do fármaco após 10min (PD10) e tempo médio de dissolução (MDT), foram

avaliados. Todos os valores são expressos como médias de experiências separadas. O MDT foi calculado utilizando a seguinte fórmula:

$$MDT = \frac{\sum_{j=1}^n t_j \Delta M_i}{\sum_{j=1}^n \Delta M_i}$$

Onde,

j = número da coleta,

n = número total de coletas,

t_j é o tempo da coleta, e

ΔM_j = é a diferença entre as quantidades de fármaco dissolvido entre t_j e t_0 .

De acordo com as diretrizes da Food and Drug Administration (FDA) para comparar perfis de dissolução, o fator de diferença (f_1) e o fator de similaridade (f_2) também foram analisados. Enquanto f_1 calcula a diferença percentual entre as duas curvas em cada ponto do tempo e é uma medida do erro relativo entre as duas curvas, f_2 é uma transformação logarítmica da raiz quadrada recíproca da soma do erro quadrado (Figueiras, Pais e Veiga, 2010). Os perfis de dissolução são considerados semelhantes quando os valores de f_1 são de até 15 (0-15) e os valores de f_2 são maiores que 50 (50-100), (FDA, 1995; FDA, 1997). Os fatores f_1 e f_2 são definidos pelas seguintes fórmulas:

$$f_1 = \left\{ \frac{\sum_{t=1}^n (Rt - Tt)}{\sum_{t=1}^n Rt} \right\} \times 100$$

e,

$$f_2 = 50 \times \log \left\{ \left[\frac{1}{1 + \frac{1}{n} \sum_{t=1}^n (Rt - Tt)^2} \right] \times 100 \right\}$$

Onde,

R_t = Concentração do medicamento referência no tempo t .

T_t = Concentração da formulação teste no tempo t .

Os modelos matemáticos também foram utilizados para a representação paramétrica dos dados de dissolução. A cinética de liberação de pilocarpina foi analisada utilizando os seguintes

modelos matemáticos independentes: primeira ordem, Weibull, Higuchi e Korsmeyer-Peppas (Tabela 2).

Tabela 2. Modelos matemáticos independentes e respectiva fórmula matemática para avaliação do perfil de liberação de fármacos.

Mathematical model	Equation
First Order	$c_2(1 - \exp(-\frac{t}{c_1})) c^2$
Weibull	$c_3(1 - \exp(-c_1 t))$
Higushi	$c_1 t^{0,5}$
Korsmeyer-Peppas	$c_1 t^{c_2}$

O modelo Korsmeyer-Peppas foi aplicado para avaliar a natureza do mecanismo de liberação de pilocarpina a partir da matriz polimérica, para isso os resultados da dissolução utilizados para o cálculo foram até 60% do fármaco liberado. Neste modelo, c_1 é uma constante dependendo da estrutura e geometria dos comprimidos, c_2 é o expoente de liberação, que depende do mecanismo de liberação e forma da matriz testada e t é o tempo de liberação. O expoente c_2 para sistemas de distribuição controlados poliméricos com geometria cilíndrica mostra valores de $n < 0,45$ para a difusão de Fickian, $0,45 < n < 0,89$ para transporte anômalo (não Fickian) e $n > 0,89$ para transporte por relaxamento das cadeias (Ritger e Peppas, 1987).

Resultados e discussão

As blendas foram preparadas por mistura física usando diferentes proporções de CMC e CBM com CS (1: 3, 1: 1, 3: 3). Para explorar o estabelecimento de interações entre polímeros, todas as misturas foram submetidas a caracterização físico-química por análise FTIR e avaliação térmica usando DSC.

CS é um polímero biodegradável obtido por desacetilação alcalina de quitina. É um copolímero linear de 2-acetamido-2-desoxi-D-glucopiranosose e 2-amino-2-desoxi-D-glucopiranosose juntado por ligações β -(1,4)-glicosídicas. Nos resultados de FTIR, retratados na Figura 1, foi possível encontrar picos característicos de sacarídeos, que foram observados em 1151, 1068, 1022 e 892 cm^{-1} . Em 3359 cm^{-1} , observou-se outro pico correspondente ao grupo hidroxilo que se sobrepõe ao estiramento amino. Os picos característicos de aminoácidos foram

encontrados em torno de 3361 cm^{-1} , 1645 cm^{-1} e 1374 cm^{-1} que foram atribuídos a bandas de amina e amida, com uma vibração de alongamento C-H a 2870 cm^{-1} (Dhawade & Jagtap, 2012).

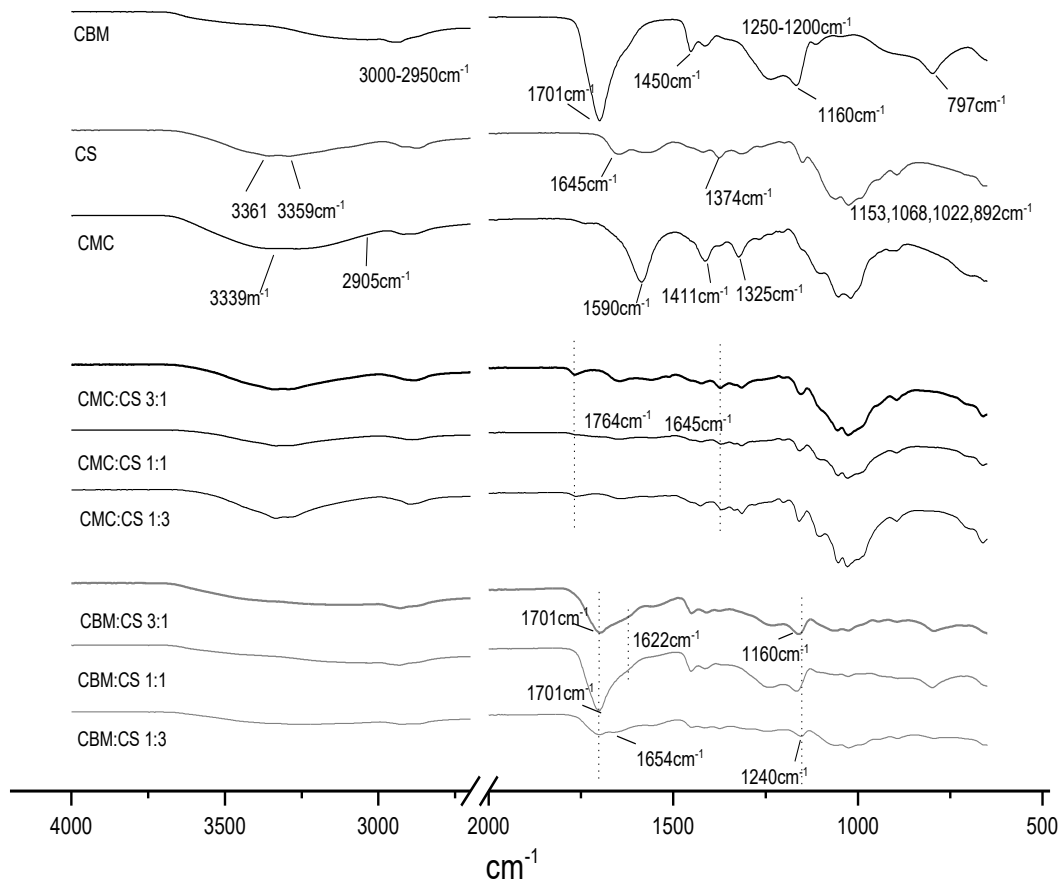
CMC é um derivado de celulose obtido por sua eterificação. No espectro de CMC foram encontrados picos do de carboxilo, grupos metilo e hidroxilo em 1590 , 1411 e 1325 cm^{-1} , respectivamente. Uma ampla banda de absorção em 3422 cm^{-1} foi devido à frequência de estiramento do grupo hidroxilo com vibração de C-H a 2923 cm^{-1} . A forte banda de absorção em 1590 cm^{-1} confirmou a presença do grupo carboxilo (Akara et al., 2012).

O espectro de CBM mostrou picos na faixa entre $3000\text{-}2950\text{ cm}^{-1}$, o que representa a vibração de estiramento de OH. O pico proeminente a 1701 cm^{-1} foi atribuído à banda de estiramento de carbonila (C = O) enquanto o pico de 1450 a 1400 cm^{-1} devido aos grupos funcionais C-O e O-H. A banda em 1250 a 1200 cm^{-1} indica a presença de C-O-C típica de acrilatos. O pico proeminente em 1160 cm^{-1} , representa uma vibração de estiramento do grupo C-O-C. A banda entre 850 e 800 cm^{-1} sugere uma flexão fora do plano de C = CH (Sahoo et al., 2011).

Em relação as blendas contendo CMC, o primeiro sinal de interação foi evidenciado pelo desaparecimento do pico relacionado ao grupo carboxilo em 1590 cm^{-1} , com mudança para 1764 cm^{-1} . Este pico sugere uma interação entre os grupos -COOH de CMC e os grupos -NH₂ de CS (Zhang et al., 2001).

Menos sinais de interação foram revelados em misturas de CS com CBM. Os grupos amina de CS foram deslocados de 1645 para 1622 cm^{-1} em misturas com proporção 1: 3 e 1: 1 sugerindo a formação de um complexo polionônico entre CS e CBM em misturas com maior concentração de CBM (Kao et al., 2006).

Figura 1. Avaliação de FTIR para polímeros isolados de CS, CMC, CBM e suas misturas.



Legenda: CBM (Carbopol 940[®]), CS (Quitosana), CMC(Carboimetilcelulose).

As interações também foram observadas nos resultados do TG/DTA. A análise térmica diferencial (DTA) permitiu confirmar essa interação através dos deslocamentos em picos endotérmicos e exotérmicos relacionados à sua degradação, como mostrado na Figura 2B, com eventos correspondentes mostrados na curva TG na Figura 2A. Assim, as interações entre os polímeros foram relatadas, com deslocamentos acima de 20° C no pico endotérmico para misturas com CBM: CS (1:1) e acima de 60 °C no pico exotérmico para misturas com CMC: CS (1:1).

Figura 2A. Análise termogravimétrica (TG), para polímeros isolados de CS, CMC, CBM e suas misturas em proporção equimolar.

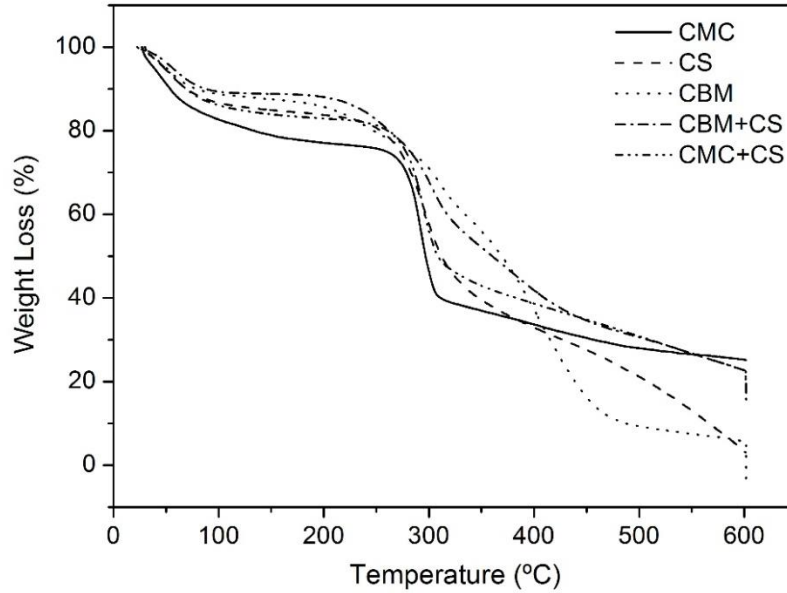
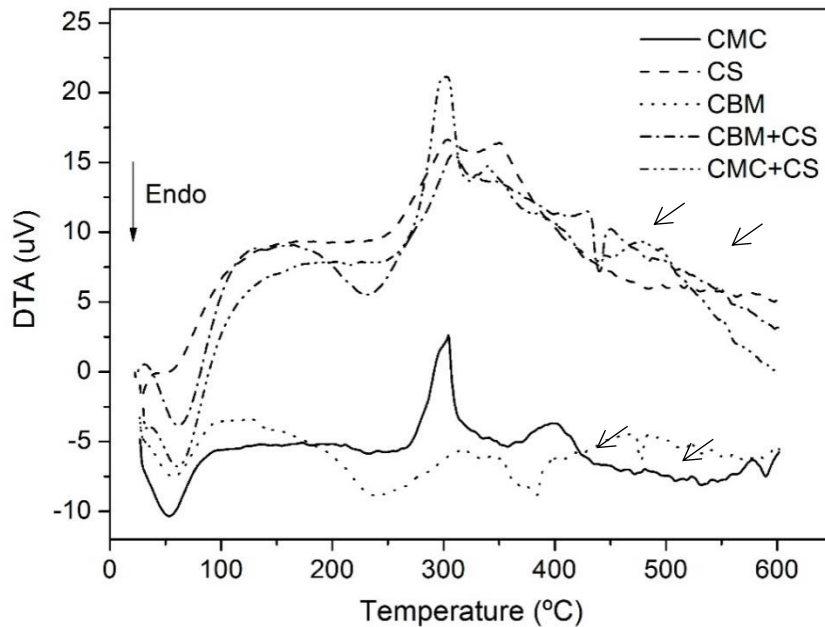


Figura 2B. Análise térmica diferencial (DTA), para polímeros isolados de CS, CMC, CBM e suas misturas em proporção equimolar.



Legenda: CBM (Carbopol 940®), CS (Quitosana), CMC(Carboimetilcelulose).

Blendas com diferentes proporções foram compactadas e os comprimidos produzidos tiveram suas propriedades físicas avaliadas, como mostra a Tabela 3. Todos os discos preparados possuíam peso médio em torno de 100 mg, assim como o comprimido oral de pilocarpina disponível no mercado (Salagen®). Nos discos contendo misturas CMC: CS, a friabilidade aumentou com o aumento da concentração de CS e com a diminuição do conteúdo de CMC. Da mesma forma, comprimidos de CBM apresentaram menor friabilidade quando em menor concentração de CS. A espessura dos discos foi semelhante para todas as formulações.

Tabela 3. Resultados de peso médio, friabilidade, espessura e dureza dos comprimidos desenvolvidos.

Formulação (m/m)	Peso médio (mg)	Friabilidade (%)	Espessura (mm)	Dureza (Kgf)
CMC:CS (3:1)	107,3 ± 2,5	0,1 ± 0,1	2,5 ± 0,0	4,7 ± 0,5
CMC:CS (1:1)	103 ± 3,6	1,3 ± 0,5	2,3 ± 0,3	4,4 ± 0,4
CMC:CS (1:3)	99,9 ± 3,9	2,6 ± 0,9	2,0 ± 0,0	3,7 ± 0,5
CBM:CS (3:1)	96,9 ± 3,0	1,3 ± 0,6	2,1 ± 0,2	6,4 ± 0,5
CBM:CS (1:1)	98,1 ± 2,5	1,5 ± 0,2	2,0 ± 0,0	6,3 ± 0,4
CBM:CS (1:3)	99,3 ± 3,8	0,2 ± 0,1	2,2 ± 0,2	5,7 ± 0,3

Legenda: CBM (Carbopol 940®), CS (Quitosana), CMC(Carboimetilcelulose).

Tabela 4. Resultados de mucoadesividade e pH de superfície para os comprimidos desenvolvidos.

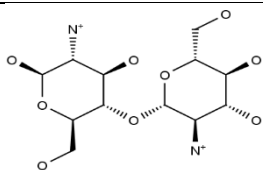
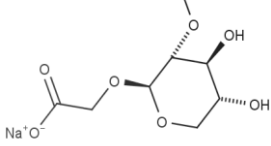
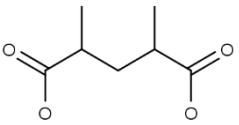
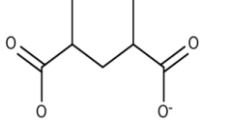
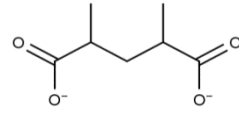
Formulação Relação (w/w)	pH de superfície	Tempo de Mucoadesão (hours)	Força de mucoadesão (N)
CMC:CS (3:1)	7,0±0,3	2,53±0,17	0,193 ± 0,097
CMC:CS (1:1)	7,3±0,1	3,88±0,24	0,249 ± 0,142
CMC:CS (1:3)	7,1±0,3	3,02± 0,19	0,215 ± 0,170
CBM:CS (3:1)	3,7±0,,2	15,72±1,44	0,532 ± 0,088
CBM:CS (1:1)	4,6±0,1	16,56±0,84	0,367 ± 0,132
CBM:CS (1:3)	5,8±0,2	7,61±1,13	0,237 ± 0,087

Legenda: CBM (Carbopol 940®), CS (Quitosana), CMC(Carboimetilcelulose).

O pH de superfície foi medido para avaliar compatibilidade com a mucosa oral e os resultados são mostrados na Tabela 4. Para todos os comprimidos contendo CMC:CS, o pH foi de aproximadamente 7 (neutro), indicando uma boa compatibilidade quando em contato com a mucosa oral. No entanto, as formulações contendo CBM: CS mostraram valores de pH inferior a 7 devido à natureza ácida do CBM, sugerindo um risco potencial de danos na mucosa ou irritação.

Os resultados das propriedades mucoadesivas dos comprimidos preparados pela mistura de CS com os polímeros sintéticos, CMC e CBM, revelaram maior tempo de mucoadesão para aqueles contendo CBM. Quando esses resultados são comparados com as características de ionização de polímeros (Tabela 5), é possível sugerir que os comprimidos contendo a maior concentração de CBM mostram um pH de superfície que permite um aumento nas hidroxilas disponíveis para interagir com mucosas a partir de interações de hidrogênio.

Tabela 5. Relação entre pH de superfície e grau de ionização das unidades monoméricas dos polímeros de cada formulação.

Polímero	pH	Forma química mais estável
CS	3,7-7,3	
CMC	3,7-7,3	
CBM	3,7	
	4,6	
	5,8-7,3	

Para determinar a forma iônica predominante de cada polímero de acordo com o pH, observa-se uma correlação entre o pKa de polímero isolado, obtido a partir do programa MarvinSketch 6.0.0 e o pH de cada formulação na Tabela 5. Não foi encontrada influência do pH das formulações nas formas iônicas de CMC e CS. No entanto, o pH de superfície das formulações dita a proporção de íons presentes em CBM.

CBM é um polímero aniônico com uma pKa de 3, e suas propriedades mucoadesivas são mais elevadas em sua forma menos ionizada (Takeuchi et al., 2003), (Gujarathi, Rane, & Patel, 2012). Os grupos carboxílicos deste polímero não são dissociados a pH 1,2; no entanto, eles se dissociarão gradualmente quando o pH aumentar, terminando com a dissociação total a um pH de aproximadamente 6,8 (Gujarathi, Rane, & Patel, 2012). Assim, a pH 3,9, o polímero é parcialmente ionizado aumentando a repulsão com a mucosa resultando em menor força e tempo mucoadesivo para comprimidos contendo maior teor de CBM. Este fato ocorre porque as mucinas são glicoproteínas com um esqueleto peptídico e cadeias laterais de oligossacarídeos, que geralmente terminam em resíduos de ácido siálico que oferecem uma carga negativa global na cavidade oral, assim, quando CBM encontra-se mais ionizado, um efeito repulsivo é observado (Meng-Lund et al., 2014). Este comportamento iônico foi previamente relatado por Takeuchi et al. (Takeuchi et al., 2003).

Entretanto, uma formulação bucal deve ser compatível com o pH fisiológico para evitar desconforto, irritação ou mesmo danos (Bhanja et al., 2010). O pH fisiológico da boca é de aproximadamente 6,8, no entanto, pode variar entre 5,3 (com baixas taxas de fluxo) e 7,8 (no pico de salivação) (Humphrey & Williamson, 2001). CBM, CMC e CS têm pKa's de aproximadamente 3,2, 6 e 7, respectivamente (Grabovac, Guggi e Bernkop-Schnurch, 2005), indicando que a compatibilidade da formulação com o pH fisiológico da boca aumenta com o aumento da concentração de CS na formulação.

O tempo e a força de mucoadesão mais altos foram observados para comprimidos contendo CBM em proporções maiores. No entanto, esses fenômenos podem contribuir para alterações na integridade da mucosa. Verificou-se que os carbómeros produzem irritação da mucosa (Bottenberg et al., 1991), que acredita ser resultante desse aumento das forças de interação (Nafee et al., 2004).

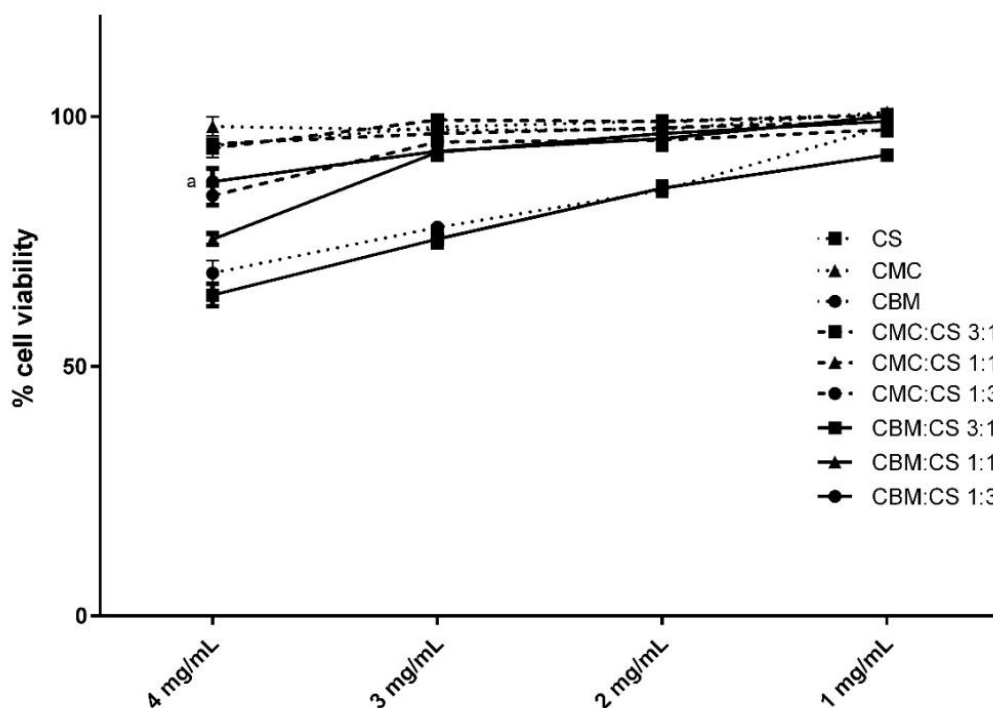
Para selecionar a formulação ideal para realizar estudos de dissolução, a análise de citotoxicidade foi desenvolvida com todos os polímeros e suas misturas. Uma vez que estas formulações poliméricas devem estar em contato com a mucosa bucal por algumas horas é conveniente assegurar a viabilidade celular. Na Figura 3 é mostrada a porcentagem (%) de viabilidade celular utilizando o ensaio MTT, um método eficaz para testar a insuficiência

mitocondrial correlacionando-a com a porcentagem de proliferação celular (Wasnik et al, 2014).

Os polímeros isolados CS e CMC mostraram comportamento semelhante com viabilidade superior a 90% em todas as concentrações testadas ($p < 0,05$). Por outro lado, o CBM mostrou viabilidade inferior a 70% em concentrações testadas mais altas (4 e 3 mg/mL). Este fato indica uma toxicidade basal para células cos 7 devido à presença de solução polimérica CBM nos poços de cultura.

Todas as formulações contendo CMC e CS mostraram viabilidade superior a 80%, o que é compatível com a aplicação mucoadesiva na cavidade bucal. Enquanto isso, para CBM, apenas as formulações com menor quantidade deste polímero foram viáveis para as células. As formulações contendo CBM: CS 3: 1 e 1: 1 em concentrações de 3 e 4 mg/mL mostraram viabilidade inferior a 80% sem aceitação para administração bucal. No entanto, as formulações contendo CBM: CS 1: 3 em todas as concentrações testadas mostraram viabilidade superior a 90% ($p < 0,05$).

Figura 3. Estudo de citotoxicidade para polímeros isolados de CS, CMC, CBM e suas misturas.



Legenda: CBM (Carbopol 940[®]), CS (Quitosana), CMC(Carboimetilcelulose).

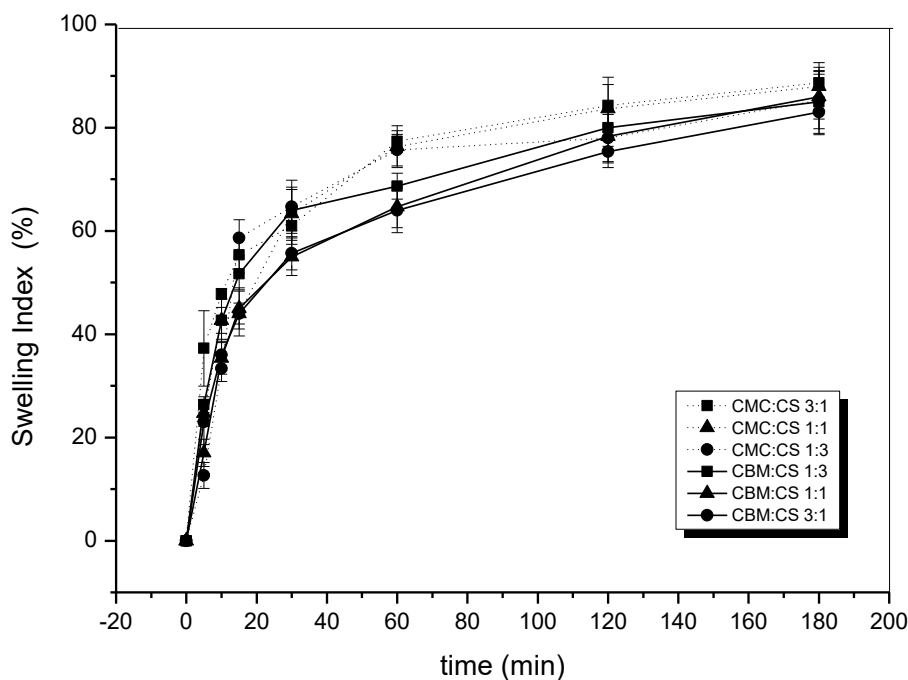
As formulações contendo sistemas mucoadesivos de administração de fármacos requer mais do que apenas alto tempo e força mucoadesiva. Os polímeros devem fornecer um reservatório compatível com uma liberação controlada do medicamento ao meio ambiente para

obter o efeito terapêutico desejado. A liberação de fármaco a partir de matriz hidrofílica envolve a formação de uma camada viscosa hidratada ao redor dos comprimidos, que atua como uma barreira ao movimento do fármaco opondo-se a sua liberação, ao mesmo tempo que retarda e controla esse processo. Assim, o comportamento de hidratação dos polímeros hidrofílicos e as subsequentes propriedades de intumescimento da camada viscosa hidratada podem ter um impacto crítico na liberação do fármaco (Sriamornsak et al., 2007).

Esse fenômeno é conhecido por ser um processo complexo de interação entre mecanismos de dissolução, difusão e erosão (Huanbutta et al., 2013). Quando em contato com o meio aquoso, o polímero hidrofílico inicia gradualmente o intumescimento da periferia para o centro, formando uma massa gelatinosa que controla a difusão do fármaco através da matriz polimérica, ou é submetida a um processo de relaxamento, o que resulta em uma erosão lenta do polímero hidratado. Como esses mecanismos podem operar simultaneamente, cada um contribuirá para a taxa global da liberação do medicamento. Em particular, é necessário um equilíbrio cuidadoso entre os mecanismos de difusão e erosão para otimizar a liberação de fármaco a partir de uma matriz polimérica (Sujja-Areevath et al., 1998).

O efeito de diferentes polímeros e suas misturas no comportamento de intumescimento dos comprimidos é mostrado na Figura 4.

Figura. 4. Porcentagem de intumescimento para misturas entre os polímeros de CS com CMC ou CBM.



Legenda: CBM (Carbopol 940®), CS (Quitosana), CMC(Carboimetilcelulose).

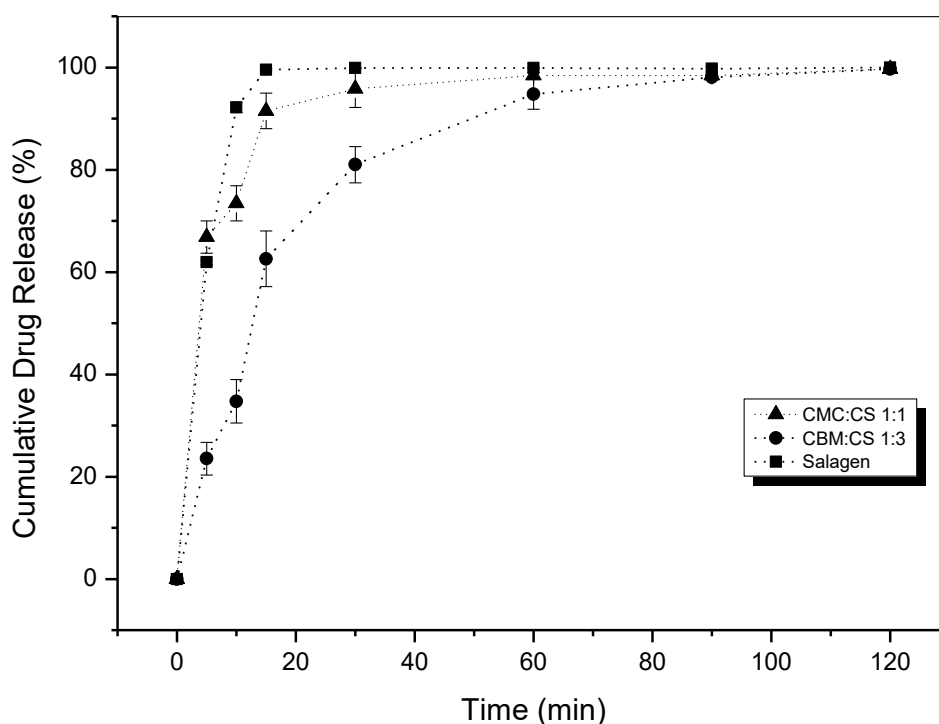
Para os discos contendo polímeros isolados, a porcentagem de intumescimento até a primeira hora de análise foi maior para comprimidos com CMC, seguindo a ordem: CMC > CBM > CS (dados não mostrados). A porcentagem de intumescimento para comprimidos preparados apenas com CMC foi de 80% em 1h, enquanto se observou valores inferiores para comprimidos contendo CS ou CBM, no mesmo período.

Para as blendas, um comportamento semelhante a de seus polímeros isolados foi visualizado. Foi observada maior porcentagem de intumescimento em menos tempo para comprimidos com CMC:CS, enquanto que para aqueles com CBM:CS, maior tempo foi necessário. Enquanto os primeiros levaram 1 h para atingir 80% de intumescimento, os seguintes levaram 2 horas. Por fim, após 3 h, todas as formulações atingiram o equilíbrio em aproximadamente 90%, após a qual, não foram encontradas diferenças estatísticas entre as formulações.

O comportamento de intumescimento de um sistema adesivo bucal é um ponto crítico para a liberação controlada de fármacos e sua mucoadesividade. O comportamento de intumescimento é frequentemente correlacionado com os resultados obtidos nos estudos de liberação. No entanto, é também determinante para a qualidade de formulações bucais a compatibilidade com o pH fisiológico da cavidade oral. Assim apenas as formulações mais

apropriadas quanto ao desempenho mucoadesivo foram selecionadas para integrar os estudos de liberação. Os comprimidos contendo CBM: CS (1: 3) e CMC: CS (1:1) foram selecionados para os estudos de liberação devido à baixa citotoxicidade e ao bom desempenho mucoadesivo. Os perfis de dissolução in vitro da pilocarpina a partir desses são mostrados na Fig. 5.

Figura 5. Perfil de liberação para as formulações escolhidas da mistura entre CS com CMC ou CBM, comparadas com o medicamento de referência, Salagen[®].

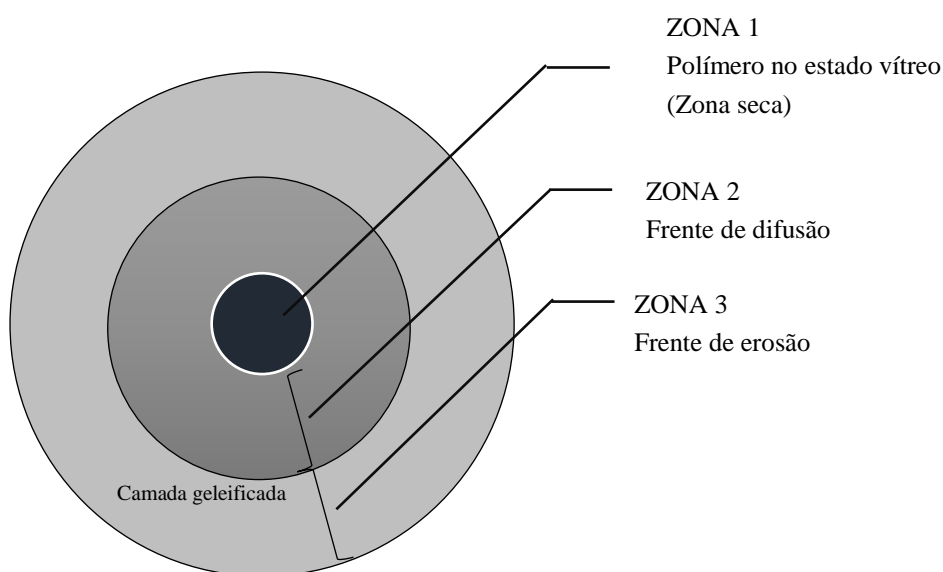


Legenda: CBM (Carbopol 940[®]), CS (Quitosana), CMC(Carboimetilcelulose), Salagen (Nome de marca do comprimido referência contendo pilocarpina para administração oral).

A formulação contendo CMC liberou 100% do fármaco nos primeiros 30 minutos do teste, enquanto a liberação total de pilocarpina de comprimidos contendo CBM ocorreu em tempo superior a 1 h ($p < 0,05$). A liberação retardada de pilocarpina foi obtida para CBM: CS. Um efeito de liberação sustentada maior pode ser obtido se a estequiometria entre CBM e CS fosse alterada ou se o peso molecular (Kassem, ElMeshad e Fares, 2014) de CS fosse adequado para formar uma rede mais próxima retardando a difusão da pilocarpina para fora da matriz polimérica formada.

Após a exposição ao meio, a penetração de água nos comprimidos conduz a subsequente hidratação/intumescimento e formação de gel na interface deste e do meio, resultando num controle da liberação do fármaco, como mostra o esquema da figura 6. A zona 1 representa o núcleo do comprimido, formado por polímeros no estado vítreo, esperando intumescer. A zona 2 e 3, representa a camada geleificada, onde o controle da liberação fármaco se dará como função da difusão do fármaco através da malha e/ou capacidade erosiva da camada mais externa (Lopes, Lobo & Costa, 2005). Os mecanismos de liberação de fármacos a partir de matrizes hidrofílicas dependem da solubilidade do fármaco e também das características de inchaço e erosão da matriz polimérica (Savaser et al, 2013; Li et al., 2014). O cloridrato de pilocarpina é um fármaco solúvel, o que transforma sua liberação altamente influenciada por processos de difusão (Maderuelo, Zarzuelo e Lanao, 2011).

Figura 6. Relação teórica entre o processo de intumescimento de comprimidos desenvolvidos como matriz polimérica, e a liberação do fármaco nele inserido.



Fonte: Adaptado de Lopes, Lobo & Costa, 2005.

Os resultados obtidos sugerem que há influência do índice de intumescimento na taxa de liberação de pilocarpina (Huanbutta et al., 2013). Enquanto comprimidos de CBM levaram maior tempo para intumescer, mais tempo foi necessário, portanto, para formação da matriz gelatinosa de controle de liberação. Para CMC, polímero hidrofílico, o alto intumescimento nos

primeiros minutos levou a criação da matriz gelatinosa de controle de liberação, somado a uma alta erosão da camada mais externa, resultante da friabilidade aumentada para formulações com maior proporção de CS. Além disso, uma possível malha com baixa interação entre si, resultantes da baixa interação da mistura física entre CMC e CS, podem facilitar o processo de liberação a partir da matriz gelatinosa formada nesses comprimidos. Assim, formulações com CMC: CS, formam uma matriz hidrofílica rapidamente, a qual relaciona-se a baixa resistência no processo de liberação do fármaco solúvel pilocarpina.

Modelos matemáticos dependentes e independentes foram utilizados para avaliar as taxas de liberação do fármaco dependendo das propriedades do comprimido e, assim, para entender melhor o mecanismo da liberação. Parâmetros de dissolução, incluindo MDT (tempo médio de dissolução), e fatores de ajuste, f_1 e f_2 , foram calculados para as formulações estudadas e estão resumidos na Tabela 6. Além disso, foram utilizados cinco modelos matemáticos para avaliar o mecanismo de liberação de pilocarpina. Após a aplicação desses modelos, os parâmetros obtidos foram resumidos na Tabela 7.

Tabela 6. Valor para as análises matemáticas, modelo independente, do perfil de liberação das formulações escolhidas.

Formulação	MDT (min)	Fator de ajuste	
		f_1	f_2
Salagen [®]	4.96	NA	NA
CMC: CS 1:1	7.95	15.39	47.44
CBM: CS 1:3	19.50	62.21	19.93

Legenda: MDT (tempo médio de dissolução), f_1 (fator de diferença), f_2 (fator de semelhança).

De acordo com as especificações da FDA sobre fatores de ajuste, o perfil de liberação de fármaco para ambas as formulações pode ser considerado diferente de Salagen[®]. No entanto, Salagen[®] e comprimidos contendo CS: CMC podem ser considerados formulações de liberação imediata, uma vez que a porcentagem de droga dissolvida é de 85% nos primeiros 15 minutos, com os valores de MDT de 5 e 8 min, respectivamente. Eles não exigem qualquer caracterização adicional no que diz respeito ao comportamento de dissolução. Para a formulação CBM, o valor de MDT é maior, atingindo aproximadamente 20 min.

Tabala 7. Valor para as análises matemáticas, modelo dependente, do perfil de liberação das formulações escolhidas.

Modelos matemáticos	$c_1 \pm DP$	$c_2 \pm DP$	$c_3 \pm DP$
First order	-	99.21±2.61	-
Weibull	0.04±0.01	1.10±0.14	98.20±2.79
Higushi	10.82±0.15	-	-
Korsmeyer–Peppas	9.51±5.28	5.61±2.63	-

Vários modelos foram testados, incluindo primeira ordem, Weibull, Higuchi e Korsmeyer-Peppas para formulações contendo CBM: CS 1: 3 (Tabela 7). Os dois últimos modelos foram testados para liberações não superiores a 60%. O modelo de ordem zero foi descartado. Os modelos de primeira ordem e Weibull, com um parâmetro adicional correspondente ao valor de dissolução assintótica, ofereceram boa representação dos dados. Nota-se que eles preveem uma dissolução assintótica próxima a 100% e o expoente de tempo na função Weibull é próximo de 1, de acordo com o modelo de primeira ordem. Finalmente, o expoente na expressão de Korsmeyer-Peppas é próximo de 0,5, sugerindo que o mecanismo de liberação é principalmente baseado na difusão de Fick.

Conclusão

Os discos mucoadesivos contendo CS com CMC ou CBM foram preparados com sucesso por compressão direta. Apesar do perfil mucoadesivo mais favorável obtido para comprimidos de CBM:CS, aqueles contendo CMC mostraram um pH mais apropriado para aplicação terapêutica na cavidade bucal. Os discos contendo CBM só se tornaram adequados para esta aplicação com uma relação 1: 3 (m/m) com CS. A interação entre CBM e CS mostrou-se maior, resultando em melhor aplicabilidade dessas formulações na liberação controlada de pilocarpina, enquanto CMC:CS, produzindo uma camada gelatinosa frouxa, relaciona-se a uma liberação imediata deste fármaco. Assim, a formulação contendo CBM: CS (1: 3) mostra-se como sistema bucoadesivo promissor para o tratamento da xerostomia.

Agradecimentos

Os autores agradecem às Universidades do Piauí, Pernambuco e Coimbra, e particularmente ao governo brasileiro através do programa 'Ciencias sem Fronteiras', que permitiu uma interação frutífera entre essas universidades. Somos muito gratos também à

VegeFlora Ltda., que forneceu a pilocarpina para o projeto, e que apoia nossos estudos de desenvolvimentos de novas formas farmacêuticas para o ativo por eles produzidos.

Referencias

- ABDOLLAHI, M.; REZAEI, M.; & FARZI, G. A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan. *Journal of Food Engineering*, 2012, 111, 343-350;
- AKARA, E.; ALTINIŞIKB, A.; SEKIB, Y. Preparation of pH- and ionic-strength responsive biodegradable fumaric acid crosslinked carboxymethyl cellulose. *Carbohydrate Polymers* 2012, 90, 1634–1641;
- BAGORY, I.; BAYOMI, M.A. Chitosan and sodium sulfate as excipients in the preparation of prolonged release theophylline tablets. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 2005, 31, 385-395;
- BENEDIKTSDOTTIR, B.E.; BALDURSSON, O.; & MASSON, M. Challenges in evaluation of chitosan and trimethylated chitosan (TMC) as mucosal permeation enhancers: From synthesis to in vitro application, *Journal of Controlled Release* 2014, 173, 18-31;
- BHANJA, S.; ELLAIAH, P.; MARTHA, S.K.; SAHU, P.K.; TIWARI, S.P.; PANIGRAHI, B.B.; DAS, D. Formulation and in vitro evaluation of mucoadhesive buccal tablets of Timolol maleate. *International Journal of Pharmaceutical Biomedical Research* 2010, 4, 129-134;
- BODDUPALLI, B.M.; MOHAMMED, Z.N.K.; NATH, R.A.; BANJI, D. Mucoadhesive drug delivery system: An overview. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research* 2010, 1, 381-387;
- BOTTENBERG, P.; CLEYMAET, R.; DEMUYNCK, C.; REMON, J.P.; COOMANS, D.; MICHOTTE, Y.; SLOP, D. Development and testing of bioadhesive, fluoride-containing slow-release tablets for oral use. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 1991, 43, 457-464;
- BOTS, C.P.; BRAND, H.S.; VEERMAN, E.C.; VALENTIJN-BENZ, M.; VAN AMERONGEN, B.M.; NIEUW AMERONGEN, A.V.; VALENTIJN, R.M.; VOS, P.F.; BIJLSMA, J.A.; BEZEMER, P.D.; TER WEE, P.M. The management of xerostomia in patients on haemodialysis: comparison of artificial saliva and chewing gum. *Palliative medicine* 2005, 19, 202-207;
- CID, Y.; PEDRAZZI, V.; DE SOUSA, V.P.; PIERRE, M.B.R. In Vitro Characterization of Chitosan Gels for Buccal Delivery of Celecoxib: Influence of a Penetration Enhancer. *AAPS Pharmscitech* 2012, 13, 101-111;

- DAVIES, A.N.; SHORTHOSE, K.; THOMPSON, J. Parasympathomimetic drugs for the treatment of salivary gland dysfunction due to radiotherapy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015, 10, CD003782;
- DHAWADE, P.P.; & JAGTAP, R.N. Characterization of the glass transition temperature of chitosan and its oligomers by temperature modulated differential scanning calorimetry. *Advances in Applied Science Research* 2012, 3 (3):1372-1382;
- FIGUEIRAS, A.; PAIS, A.A.C.C; VEIGA, F.J.B. A Comprehensive Development Strategy in Buccal Drug Delivery. *AAPS PharmSciTech* 2010, 11(4): 1703-1712;
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA), Center for Drug Evaluation and Research. Immediate release solid oral dosage forms—scale-up and postapproval changes: chemistry, manufacturing, and controls; in vitro dissolution testing, and in vivo bioequivalence documentation. Rockville: FDA, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research; 1995.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, Center for Drug Evaluation and Research. Dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms. Rockville: FDA, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research; 1997a.
- GOWTHAMARAJAN, K.; JAWAHAR, N.; WAKE, P.; JAIN, K.; SOOD, S. Development of buccal tablets for curcumin using *Anacardium occidentale* gum. *Carbohydrate Polymers* 2012, 88, 1177-1183;
- GRABOVAC, V.; GUGGI, D.; & BERNKOP-SCHNURCH, A. Comparison of the mucoadhesive properties of various polymers. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2005, 57, 1713-1723;
- GUJARATHI, N.A.; RANE, B.R.; & PATEL, J.K. pH sensitive polyelectrolyte complex of O-carboxymethyl chitosan and poly (acrylic acid) cross-linked with calcium for sustained delivery of acid susceptible drugs. *International Journal of Pharmaceutics* 2012, 436: 418-425;
- HOOGSTRAATE, J.A.J; & WERTZ, P.W. Drug delivery via the buccal mucosa. *Pharmaceutical Science & Technology Today* 1998, 1, 309-316;
- HUANBUTTA, K.; CHEEWATANAKORNKOOL, K.; TERADA, K.; NUNTHANID, J.; SRIAMORNSAK, P. Impact of salt form and molecular weight of chitosan on swelling and drug release from chitosan matrix tablets. *Carbohydrate Polymers* 2013, 97, 26-33;
- HUMPHREY, S.P.; & WILLIAMSON, R.T. A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *Journal of Prosthetic Dentistry* 2001, 85, 162-169;

- KASSEM, M.A.A; ELMESHAD, A.N.; & FARES, A.R. Lyophilized Sustained Release Mucoadhesive Chitosan Sponges for Buccal Buspirone Hydrochloride Delivery: Formulation and In Vitro Evaluation. *AAPS PharmSciTech* 2014,16,1-11;
- KORSMEYER, R.W.; GURNY, R.; DOELKER, E.; BURI, P.; PEPPAS, N.A. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *International Journal of Pharmaceutics* 1983, 15, 25-35;
- LI, L.; WANG, L.; LI, J.; JIANG, S.; WANG, Y.; ZHANG, X.; DING, J.; YU, T.; MAO, S. Insights into the mechanisms of chitosan-anionic polymers-based matrix tablets for extended drug release. *International Journal of Pharmaceutics* 2014, 476, 253-265;
- LOCKHART, P.B.; FOX, P.C.; GENTRY, A.C.; ACHARYA, R.; NORTON, H.J. Pilot study of controlled-release pilocarpine in normal subjects. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics* 1996, 82, 517-524;
- LOPES, C. M., LOBO, J. M. S., & COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 2005, 41(2), 143-154;
- MADERUELO, C.; ZARZUELO, A.; & LANAO, J.M. Critical factors in the release of drugs from sustained release hydrophilic matrices. *Journal of Controlled Release* 2011, 154, 2-19;
- MENG-LUND, E.; MUFF-WESTERGAARD, C.; SANDER, C.; MADELUNG, P.; JACOBSEN, J. A mechanistic based approach for enhancing buccal mucoadhesion of chitosan. *International Journal of Pharmaceutics* 2014, 461, 280-285;
- MORALES, J.O., & MCCONVILLE, J.T. Manufacture and characterization of mucoadhesive buccal films. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2011, 77, 187-199;
- MORTAZAVI, H., BAHARVAND, M., MOVAHHEDIAN, A., MOHAMMADI, M., KHODADOUSTAN, A. Xerostomia due to systemic disease: a review of 20 conditions and mechanisms. *Annals of Medical and Health Sciences Research* 2014, 4, 503-510;
- NAFEE, N.A.; ISMAIL, F.A.; BORAIE, N.A.; MORTADA, L.M. Mucoadhesive delivery systems. I. Evaluation of mucoadhesive polymers for buccal tablet formulation. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 2004, 30, 985-993;
- NOAISEH, G.; BAKER, J.F.; & VIVINO, F.B. Comparison of the discontinuation rates and side-effect profiles of pilocarpine and cevimeline for xerostomia in Primary Sjogren's syndrome. *Clinical and Experimental Rheumatology* 2014, 32, 575-577;

- PAPAS, A.S.; SHERRER, Y.S.; CHARNEY, M.; GOLDEN, H.E.; MEDSGER, T.A. JR.; WALSH, B.T.; TRIVEDI, M.; GOLDLUST, B.; GALLAGHER, S.C. Successful treatment of dry mouth and dry eye symptoms in Sjögren's syndrome patients with oral pilocarpine: a randomized, placebo-controlled, dose-adjustment study. *Journal of Clinical Rheumatology* 2004, 10, 169–177;
- PATTNAYAK, M.; & NAYAK, P.L. Natural Based Polysachharides For Conroll Drug Release. *International Journal of Research and Reviews in Pharmacy and Applied Science* 2013, 3, 72-117;
- PERIOLI, L.; AMBROGI, A.; ANGELICI, F.; RICCI, M.; GIOVAGNOLI, S.; CAPUCCELLA, M.; ROSSI, C. Development of mucoadhesive patches for buccal administration of ibuprofen. *Journal of Controlled Release* 2004, 99, 73-82;
- PLEMONS, J.M.; AL-HASHIMI, I.; & MAREK, C.L. Managing xerostomia and salivary gland hypofunction: executive summary of a report from the American Dental Association Council on Scientific Affairs. *Journal of the American Dental Association* 2014, 145, 867-873;
- RAMOS-CASALS, M.; BRITO-ZERON, P.; SISO-ALMIRALL, A.; BOSCH, X.; TZIOUFAS, A.G. Topical and systemic medications for the treatment of primary Sjogren's syndrome. *Nature Reviews Rheumatology* 2012, 8, 399-411;
- RITGER P.L.; PEPPAS, N.A. A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. *J Control Release* 1987, 5:37-42;
- SAHOO, S.; CHAKRABORTI, C.K.; MISHRA, S.C. Qualitative analysis of controlled release ciprofloxacin/carbopol 934 mucoadhesive suspension . *J Adv Pharm Technol Res* 2011, 2(3): 195–204;
- SALAMAT-MILLER, N.; CHITTCHANG, M.; & JOHNSTON, T.P. The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2005, 57, 1666-1691;
- SALEEM, M.A.; SUDHIR, S.P.; SHAIK, A.U.; VISHAL, K.S. Formulation and evaluation of mucoadhesive buccal tablets of sumatriptan succinate. *Internacional Journal Nov Drug Delivery Technology* 2011, 1, 105-115;
- SHILEDAR, R.R.; TAGALPALLEWAR, A.A.; & KOKARE, C.R. Formulation and in vitro evaluation of xanthan gum-based bilayered mucoadhesive buccal patches of zolmitriptan. *Carbohydrate Polymers* 2014, 101, 1234-1242;

- SOGIAS, I.A.; WILLIAMS, A.C.; & KHUTORYANSKIY, V.V. Chitosan-based mucoadhesive tablets for oral delivery of ibuprofen. *International Journal of Pharmaceutics* 2012, 436, 602-610;
- SRIAMORNSAK, P.; THIRAWONG, N.; WEERAPOL, Y.; NUNTHANID, J.; SUNGTHONGJEEN, S. Swelling and erosion of pectin matrix tablets and their impact on drug release behavior. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2007, 67, 211-219;
- SUJJA-AREEVATH, J., MUNDAY, D.L., COX, P.J., KHAN, K.A. Relationship between swelling, erosion and drug release in hydrophilic natural gum mini-matrix formulations. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 1998, 6, 207-217;
- SZYMANSKA, E.; WINNICKA, K.; AMELIAN, A.; CWALINA, U. Vaginal Chitosan Tablets with Clotrimazole-Design and Evaluation of Mucoadhesive Properties Using Porcine Vaginal Mucosa, Mucin and Gelatine. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 2014, 62, 160-167;
- TAKEUCHI, H.; MATSUI, Y.; YAMAMOTO, H.; KAWASHIMA, Y. Mucoadhesive properties of carbopol or chitosan-coated liposomes and their effectiveness in the oral administration of calcitonin to rats. *Journal of Controlled Release* 2003, 86, 235-242;
- TAYLOR, P. CHOLINERGIC AGONISTS. IN A. GILMAN, A.S. TWNIES, & P. TAYLOR. *The Pharmacologic Basis of Therapeutics*, 1990, 8th ed, pp. 122 - 130. New York: Pergamon Press Inc;
- VIVINO, F.B.; AL-HASHIMI, I.; KHAN, Z.; LEVEQUE, F.G.; SALISBURY, P.L.; TRAN-JOHNSON, T.K.; MUSCOPLAT, C.C.; TRIVEDI, M.; GOLDLUST, B.; GALLAGHER, S.C. Pilocarpine tablets for the treatment of dry mouth and dry eye symptoms in patients with Sjogren syndrome - A randomized, placebo-controlled, fixed-dose, multicenter trial. *Archives of Internal Medicine* 1999, 159, 174-181;
- WASNIK, M.N.; GODSE, R.D.; NAIR, H.A. Development and evaluation of bucoadhesive tablet for selegiline hydrochloride based on thiolated polycarbophil. *Drug development and industrial pharmacy* 2014, 40 (5): 632-638;
- YU, L.; GONG, J.; ZENG, C.F.; ZHANG, L.X. Preparation of zeolite-A/chitosan hybrid composites and their bioactivities and antimicrobial activities. *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications* 2013, 33, 3652-3660;
- ZHANG, L.; JIN, Y.; LIU, H.; DU, Y. Structure and control release of chitosan/carboxymethyl cellulose microcapsules. *Journal of Applied Polymer Science* 2001, 82, 584-592.

CAPÍTULO 4

AVALIAÇÃO DE BLENDA POLIMÉRICA COMO NOVO EXCIPIENTE PARA SISTEMAS MUCOADESIVOS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS

Laisa Lis Fontinele de Sá^{1,2}; Marciana Socorro Ferreira Cordeiro¹; Camila Maria Barros da Silva¹; Amanda Carla Quintas de Medeiros Vieira¹; Daniela Nadvorny¹; Mônica Felts de La Roca Soares¹; Edson Cavalcanti Da Silva Filho²; Lívio César Cunha Nunes²; José Lamartine Soares-Sobrinho¹.

1 – Núcleo de Controle de Qualidade de Medicamentos e Correlatos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil; 2 – Laboratório de Inovação Tecnológica e empreendedorismo, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brazil;

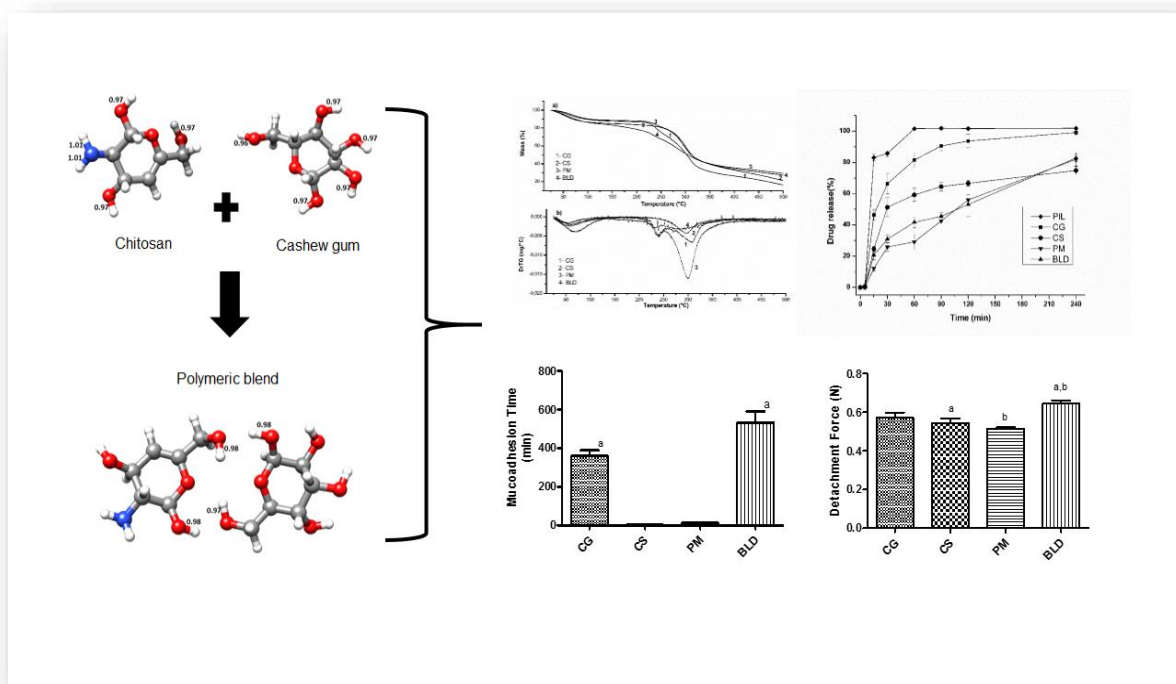


Gráfico síntese

Resumo

Neste trabalho foi investigada a formação de uma blenda polimérica com propriedades mucoadesivas. Para obtenção desse novo material foi realizada a miscibilidade dos polímeros goma de cajueiro e quitosana em solução seguido de liofilização. A investigação das interações entre os polímeros para formação da blenda polimérica foi avaliada por meio de estudos de infravermelho, análise térmica e dinâmica molecular. Os resultados mostraram que o produto obtido apresenta características diferenciadas em relação aos polímeros isolados. Para realização dos testes de intumescimento, avaliação de tempo e força de mucoadesão, um estudo de liberação *in vitro* e cinética foram obtidos comprimidos utilizando cloridrato de pilocarpina como droga modelo. Os resultados da mucoadesão demonstram que a blenda polimérica apresenta propriedades mucoadesivas superiores aos polímeros isolados e a mistura física. O estudo de liberação demonstrou que a blenda proporciona uma liberação prolongada quando comparado com os demais polímeros, seguindo o modelo de Korsmeyer-Peppas indicando que a liberação depende da formação da camada de gel, governado pela difusão e erosão da matriz.

Palavras chave: goma de caju, quitosana, mucoadesão, mistura biopolimérica, liberação prolongada.

Introdução

Nos últimos avanços no desenvolvimento de formulações, o emprego de polímeros naturais biodegradáveis é estendido para um grande número de aplicações, tais como a administração controlada de fármacos e sistemas sofisticados (sistemas de entrega de fármacos dirigidos, sensíveis ao ambiente, pulsáteis e inteligentes) (Dash e Konkimalla, 2012). Entre as possibilidades, a administração de fármacos por via bucal é uma possível alternativa à via de administração oral, devido às suas numerosas vantagens tais como boa acessibilidade, robustez do epitélio, fácil remoção da dosagem caso seja necessário, atividade enzimática relativamente baixa, ausência de degradação do fármaco no trato gastrointestinal, bem como ausência de metabolismo hepático de primeira passagem. Desta forma, esses benefícios tornam essa via de administração um alvo de crescente interesse (Gowthamarajan et al., 2012).

A partir de investigações realizadas até agora, observou-se que diferentes formulações farmacêuticas requerem diferentes formas de otimização, as quais podem ser adaptadas e alcançadas, entre outras técnicas, através do desenvolvimento de misturas poliméricas (Dash e Konkimalla, 2012). Estas são obtidas a partir de misturas de, pelo menos, dois polímeros ou copolímeros que não reagem quimicamente entre si. Esta associação pode melhorar as propriedades físico-químicas do produto quando comparado com os polímeros isolados (Work et al., 2007), (Horn, n.d.). Para a administração bucal de fármacos, uma boa propriedade bioadesiva parece ser um ponto chave, de modo que pode ser retida na cavidade bucal durante o período de tempo desejado (Gowthamarajan et al., 2012).

A quitosana é um copolímero de unidades de glucosamina e N-acetilglucosamina ligadas por ligações 1-4 glicosídicas. Este composto é derivado da desacetilação parcial da quitina e é referido como o aminopolissacarídeo natural mais abundante, com várias aplicações na área farmacêutica e de biotecnologia (Kamoun et al., 2015). Dentre suas propriedades, a quitosana é capaz de intensificar o contato com a mucosa proporcionando uma área de atividade específica, assim, sua atividade mucoadesiva tem sido explorada e destacada ao longo dos anos (Lueßen et al., 1996), (Takeuchi et al., 1996) (Abdelbary, 2012), (Gök et al., 2016), mas as formulações que a contem frequentemente requerem outros excipientes devido às suas propriedades de baixa compactação e compressibilidade (Rege et al., 2003).

Além da quitosana, a goma de caju tem mostrado uma atividade mucoadesiva promissora (Fazil et al., 2012), (Viana et al., 2014). Esta goma é extraída de *Anacardium occidentale* L., uma árvore muito comum no nordeste do Brasil. É constituída por um polissacarídeo complexo que compreende galactose, arabinose, ramnose, glicose, ácido

glicurônico e outros resíduos de açúcar (Viana et al., 2014), (Ribeiro et al., 2016) que foi usado principalmente na indústria para fabricar livros, adesivos para envelopes, etiquetas, selos e cartazes; aditivo na produção de goma de mascar devido à sua propriedade espessante; e como um agente de gelificante em alimentos enlatados e gelatinas para geleia de frutas (Viana et al., 2014), (Gowthamarajan et al., 2012).

Considera-se que associar quitosana e goma de caju resultaria num material inovador interessante com propriedades físico-químicas e mecânicas úteis. Dessa forma, alguns estudos têm sido realizados na obtenção de géis, esferas e nanogéis com ambos os polímeros, entretanto, nenhum dos trabalhos anteriores investigaram sobre a melhora da capacidade de mucoadesão dessa associação (de Paula e Rodrigues, 1995) (Maciel et al., 2006), (Paula et al., 2011).

Desta forma, este trabalho objetivou investigar profundamente a aplicação da quitosana e da goma de caju, como uma mistura biopolimérica, destacando sua atividade de mucoadesão. O cloridrato de pilocarpina foi utilizado aqui como objeto de estudo.

Material e Métodos

A quitosana foi adquirida da Polymar - Brasil, Lote: 20091115, grau de desacetilação 75% e peso molecular 31 kDa, e a pilocarpina da VegeFlora, Lote # VC - 1101. A goma de caju foi desenvolvida a partir de um exsudado natural obtido da *A. occidentale* com precipitação em álcool, centrifugação e filtração (Freitas, 2013). A partir da planta *Anacardium occidentale* Linn foi obtido o exsudato, secreção produzida pela planta após incisão de corte no tronco desta. A excicata foi previamente depositada no herbário Graziela Barroso, localizado na Universidade Federal do Piauí, sob o número 31446. Todos os outros reagentes (produtos químicos e solventes) eram de grau analítico.

Isolamento da goma de Anacardium occidentale Linn

Esse procedimento foi realizado a partir da metodologia descrita por Rodrigues et al (1993), na qual, o exsudato do cajueiro foi dissolvido em água destilada na proporção 1:10 (m/v) permanecendo 12 horas sob agitação à temperatura ambiente em meio neutro. Em seguida, o material foi filtrado com auxílio de gaze e algodão e o pH ajustado para 7,0 (neutro) com solução de NaOH a 1,0 N. Para que houvesse formação de precipitado foi adicionado etanol 95% na proporção de 1:4 (v/v) com transferência desse corpo de fundo para tubos tipo falcons, os quais foram lavados com álcool para obtenção da goma livre de impurezas, finalizando com o processo de secagem em estufa (marca Fanem, modelo 520) (Freitas, 2013).

Preparação da mistura polimérica

A mistura polimérica foi preparada por solubilização prévia da quitosana em água destilada e da goma de cajú em solução de ácido acético a 2% (v / v). Ambas as soluções foram agitadas, separadamente, durante 12 horas. Depois, as soluções foram misturadas numa proporção 1: 1 (v / v). Inicialmente a mistura foi secada utilizando um evaporador rotativo (Marconi MA-120), e depois utilizando liofilização (Liotop®). Para liofilização, a amostra foi congelada a $-90 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 24 horas e depois liofilizada sob pressão de 24 μmm de Hg e vácuo de $220 \pm 2 \text{ Vca}$ por 96 horas. A metodologia foi adaptada de Grabovac; Guggi; Bemkop-Schurch (2005).

Para comparar esta mistura obtida por processo de solubilização, foi preparada uma mistura física de quitosana e goma de caju em proporção de 1: 1.

Comprimidos

Foram preparados comprimidos com polímeros isolados (quitosana e goma de caju), suas misturas físicas e misturas poliméricas foram preparadas por compressão direta (sellc, w216), utilizando punções circulares côncavas de 5 mm. Em todas as formulações adicionou-se celulose microcristalina (10% p / p) (MC-101) e cloridrato de pilocarpina (7,142% p / p), para se obter comprimidos com 70 mg.

Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier

Os espectros da espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier foram obtidos no espectrofotômetro Spectrum 400 (PerkinElmer®), utilizando a Reflectância Total Atenuada Universal (Miracle ATR, Pike Technologies Spectroscopic Creativity). Os espectros da quitosana, goma de cajú, pilocarpina, misturas físicas, misturas poliméricas e comprimidos foram medidos diretamente no estado sólido. Uma média de 16 varreduras a uma resolução de 4 cm^{-1} foi registrada na faixa de $4000\text{-}650 \text{ cm}^{-1}$. Os picos dos espectros foram analisados pelo software OriginPro 8.

Análise térmica e DRX

Utilizou-se uma termobalança de Shimadzu (DTG-60H) para avaliar possíveis interações entre os compostos. O sistema foi calibrado com oxalato de cálcio monohidratado ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$). Pesou-se aproximadamente 5 mg da amostra numa cadinho de alumínio, que foi selada a frio, por meio de uma prensa. O cadinho de referência foi deixado vazio e selado da mesma maneira. A amostra e a referência foram aquecidas a partir da temperatura ambiente

a uma taxa de 10 ° C / min⁻¹ até 600 ° C, sob atmosfera de nitrogênio (fluxo 50 mL/min⁻¹). Os dados foram analisados pelo software TA-60WS (Therma Analysis), versão 2.20 da Shimadzu.

As curvas da calorimetria exploratória diferencial foram obtidas por meio de um calorímetro Shimadzu, modelo DSC-60 em atmosfera de nitrogênio com um fluxo de 50 mL min⁻¹ a uma taxa de aquecimento de 10 ° C min⁻¹ e a uma temperatura entre 25°C e 500°C. O procedimento foi realizado num suporte de amostra de alumínio contendo 2 e 4 mg (± 0,4) para substâncias individuais e numa mistura física, respectivamente. O sistema foi calibrado com índio. Os dados termoanalíticos foram analisados usando o software Shimadzu® TA-60WS® (Thermal Analysis), versão 2.20.

O difractograma dos polímeros em pó foi obtido utilizando um difratometro Bruker D8 Advance Bragg-Brentano, em geometria de reflexão, utilizando a radiação CuK α filtrada com Ni ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$).

Estudos de intumescência

O comportamento de intumescimento dos comprimidos foi avaliado de acordo com (Gowthamarajan et al., 2012), (Hermans et al., 2014). Inicialmente, os comprimidos foram pesados individualmente (W1) e depois colocados numa placa de Petri contendo tampão fosfato com pH 6,8. Em tempos fixos de 5, 15, 30, 60, 90, 120 e 180 min, os comprimidos foram removidos, o excesso de água superficial foi descartado por papel de filtro e os comprimidos intumescidos foram novamente pesados (W2). O índice de inchamento (SI) dos comprimidos foi calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$SI = \frac{W2 - W1}{W1} \times 100$$

O experimento foi realizado em triplicata.

Tempo de mucoadesão ex vivo

O tempo de mucoadesão *ex vivo* foi realizado (n = 3) após a aplicação dos comprimidos sobre uma mucosa bucal porcina recém-cortada utilizando metodologia adaptada de (Perioli et al., 2009) (Mishra e Ramteke, 2011). Os tecidos bucais de porco foram fixados no lado interno de um béquer com cola de cianoacrilato. Um lado de cada comprimido foi molhado com 50 μ L de tampão fosfato (pH 6,8) e depois pressionado sobre o tecido bucal porcino aplicando uma força leve com a ponta do dedo durante 20 s. O béquer foi preenchido com 500 ml de tampão

fosfato (pH 6,8) e mantido a 37 ° C. Após 2 min, foi aplicada uma velocidade de agitação de 50 rpm para simular o ambiente da cavidade bucal e a adesão do comprimido foi monitorada até desprendimento ou dissolução.

Força de mucoadesão ex vivo

A força de mucoadesão *ex vivo* de cada formulação em estudo foi estimada medindo a força necessária para separá-la de um disco de mucina, com um analisador de textura TA-XTplus (Stable Micro Systems, Surrey, Reino Unido) em modo de tensão. Os discos de mucina foram preparados por compressão de um peso conhecido de mucina de porco crua (250 mg) numa prensa de anel com uma matriz de 13 mm de diâmetro e uma força de compressão definida (1 N), aplicada durante 60 s. Estes discos foram então ligados horizontalmente à extremidade inferior da sonda cilíndrica (comprimento 5 cm, diâmetro 1 cm), utilizando cianoacrilato sobre um suporte específico previamente umedecido com uma dispersão de mucina 8% (p/p), por 30 s para assegurar o contato entre a amostra e o disco. Antes do teste de mucoadesão, o disco de mucina foi hidratado por imersão numa solução de mucina a 5% durante 30 s. Colocaram-se amostras de cada formulação, á temperatura de 37 ° C, previamente empacotadas em vasos cilíndricos rasos, sob a sonda analítica, que foi então baixada até o disco de mucina estar em contato com a superfície da amostra. Logo em seguida, foi aplicada uma força de 0,1 N durante um tempo predefinido (60s) para assegurar um contato íntimo entre o disco de mucina e a amostra. A sonda foi então movida para cima a uma velocidade constante de 1,0 mm s⁻¹ e a força necessária para separar o disco de mucina da superfície de cada formulação foi determinada a partir do gráfico de força-tempo resultante. Todas as medidas foram realizadas em três réplicas adaptadas (Bruschi et al., 2006). Os resultados foram tratados com análise estatística ANOVA e t-student Newman-Keuls como teste de post hoc com p <0,05 significativo.

Estudo de liberação da pilocarpina in vitro

O comportamento de liberação de pilocarpina dos comprimidos foi investigado (n = 8) por um aparelho de dissolução USP equipado com cestos (Nova Etica, Brasil). Esta metodologia foi adaptada por Perioli et al., 2004 e Gowthamarajan et al., 2012 (Perioli et al., 2009), (Gowthamarajan et al., 2012). Os comprimidos selecionados foram inseridos (n = 8) nos recipientes de vidro. Após a adição de 500 ml de tampão fosfato (pH 6,8 ± 0,05) aos recipientes, a temperatura foi mantida a 37°C. Após 2 min, aplicou-se uma velocidade de agitação de 50

rpm e recolheram-se as amostras a 5, 15, 30, 60, 90, 120 e 180 min. Os valores de dissolução foram interpretados estatisticamente utilizando o teste t-Student com $p < 0,05$.

A concentração de pilocarpina liberada foi quantificada por HPLC, com fase móvel feita com tampão de metanol: fosfato (35:65) e uma coluna L11 (Ascentis® Phenyl). Injetou-se 20µL da amostra, que foi lida a 215nm, sob temperatura de 35°C (USP 36).

Para avaliar a curva de liberação do fármaco como uma resposta única medida, foram utilizados os seguintes parâmetros, incluindo modelos dependentes e independentes, tempo médio de dissolução e modelos matemáticos, ajustando os dados de liberação em zero, primeira ordem, Higuchi, Weibull e Korsmeyer-Peppers (Tabela 1).

Tabela 1 - Equações dependentes do modelo do comportamento de liberação cinética utilizado para o perfil de dissolução de comprimidos de pilocarpina.

Modelo matemático	Equação
Ordem zero	$c_1 t$
Primeira ordem	$c_2(1 - \exp(-c_1 t))$
Higushi	$c_1 t^{0,5}$
Korsmeyer-Peppers	$c_1 t^n$

Metodologia Teórica

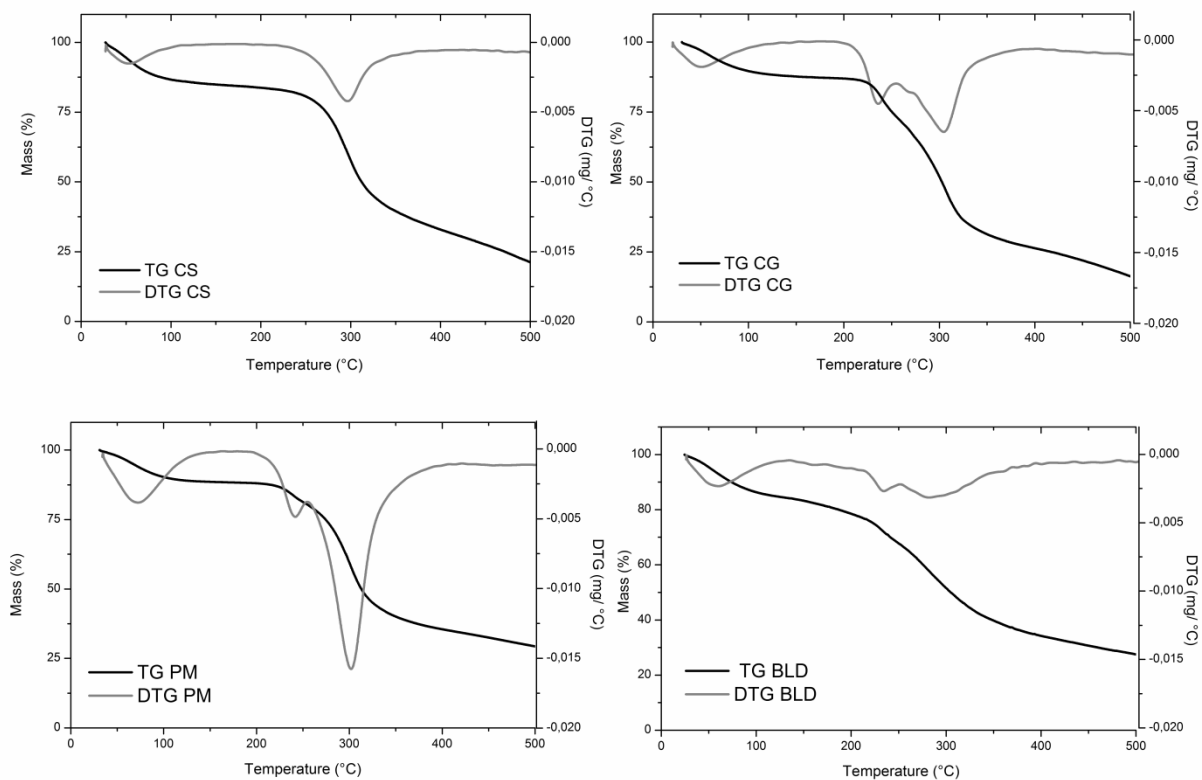
A geometria dos monômeros de pilocarpina, quitosana e galactose e dos seus complexos ligados com hidrogênio foi otimizada com cálculos do nível B3LYP/6-31 ++ G(d, p) com o programa GAUSSIAN 09 (Frisch et al., n.d.). Estas energias de ligação foram corrigidas levando em consideração a contribuição da energia de ponto zero e foram corrigidas em relação ao erro de superposição de base por meio do método de correção de contrapeso (Balabin, 2008) (Vdovenko et al., 2013), (Boys e Bernardi, 1970). As frequências de vibração nos complexos foram comparadas às mesmas vibrações nos monômeros para evidenciar as mudanças derivadas da formação de ligações de hidrogênio e comparadas com os espectros de infravermelho experimentais. Na tentativa de gerar um sistema teórico capaz de avaliar interações presentes em nossos sistemas a galactose foi utilizada em sua forma monomérica pelo fato do monossacarídeo se apresentar principalmente na goma de cajú.

Resultados e Discussão

As curvas da análise termogravimétrica, derivada da curva termogravimétrica e calorimetria exploratória diferencial da quitosana, goma de caju, mistura física e mistura polimérica foram fornecidas para identificar possíveis interações entre os componentes.

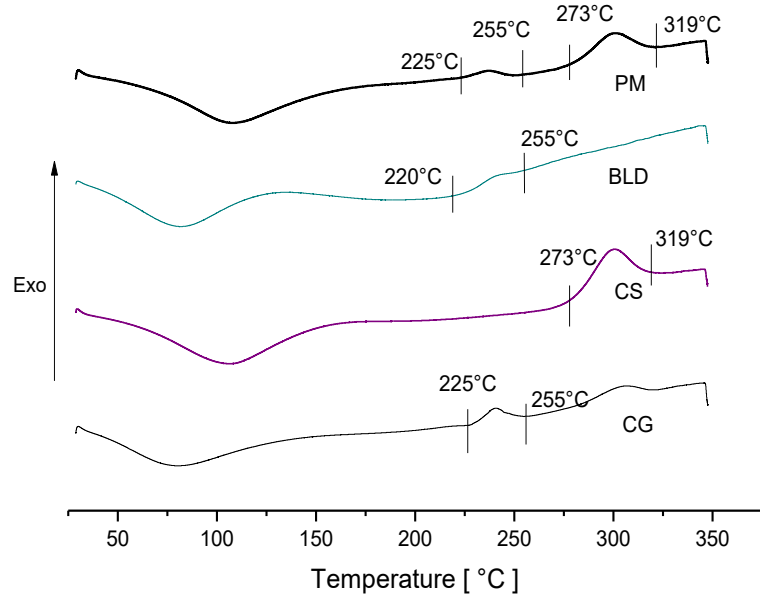
Observou-se comportamento similar dos polímeros isolados (quitosana e goma de caju), com o primeiro evento relacionado à perda de água (cerca de 94° C e 79,46°C para goma de caju e quitosana, respectivamente) e um ou dois eventos exotérmicos decorrentes da degradação do polímero (245 a 310 ° C para goma de caju e 270,89 °C para quitosana). Para os polímeros associados, a mistura física mostrou um comportamento de degradação muito semelhante aos componentes isolados, portanto, se houver alguma interação entre esses componentes não haveria alterações em seu comportamento térmico. Por outro lado, a mistura polimérica mostrou uma antecipação do evento de degradação (211,65 °C), o que pode mostrar que sob esta condição os polímeros interagem entre si (Figura 1).

Figura 1 - Resultados da termogravimetria acima e das curvas de sua derivada abaixo para todos os polímeros, quitosana (CS), goma de caju (CG), mistura física (PM) e mistura polimérica (BLD).



Na análise por DSC, apresentado na Figure 2, grandes diferenças nos eventos endotérmicos e exotérmicos são observadas quando são comparadas as misturas após o processo de liofilização ou mistura física. Sobre o processo de degradação, a goma de caju (CG) mostra Tonset 226 e Tendset 255 ° C, e a quitosana (CS), Tonset 272 e Tendset 319 ° C, corroborando com dados da literatura (Bahulkar et al., 2015). A mistura física mostra superposição dos gráficos nas mesmas temperaturas que os seus polímeros isolados, mas a BLD apresentou comportamento diferenciado, com evento entre 220 e 255°C, o que demonstra a criação de um novo material por processo de liofilização.

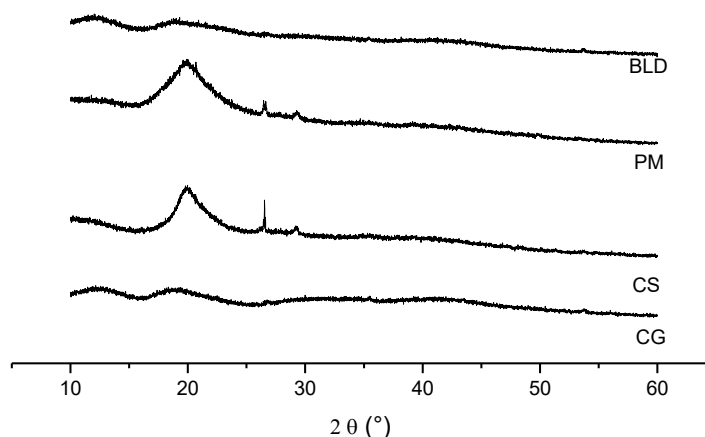
Figura 2 – Análise de DSC para polímeros isolados e suas misturas.



Legenda: Chitosan (CS), Goma de Caju (CG), PM (CS:CG mistura física); BLD (CS:CG após solubilização e liofilização).

Sobre o difractograma de raios-X (Figura 3), os polímeros isolados não mostraram picos afiados que indicam natureza amorfa como são descritos na literatura (Antoniou et al., 2015; Okoye et al., 2012; Baulkara et al., 2015). No entanto, um pico único e discreto é notado em torno de 20° para CS e CG, que se mantém no mesmo grau quando comparado com a sua mistura física. Mas para BLD, o processo de liofilização tem a capacidade de transformar o material em amorfo.

Figura 3 – Análise de DRX para polímeros isolados e suas misturas.



Legenda: Chitosan (CS), Goma de Caju (CG), PM (CS:CG mistura física); BLD (CS:CG após solubilização e liofilização).

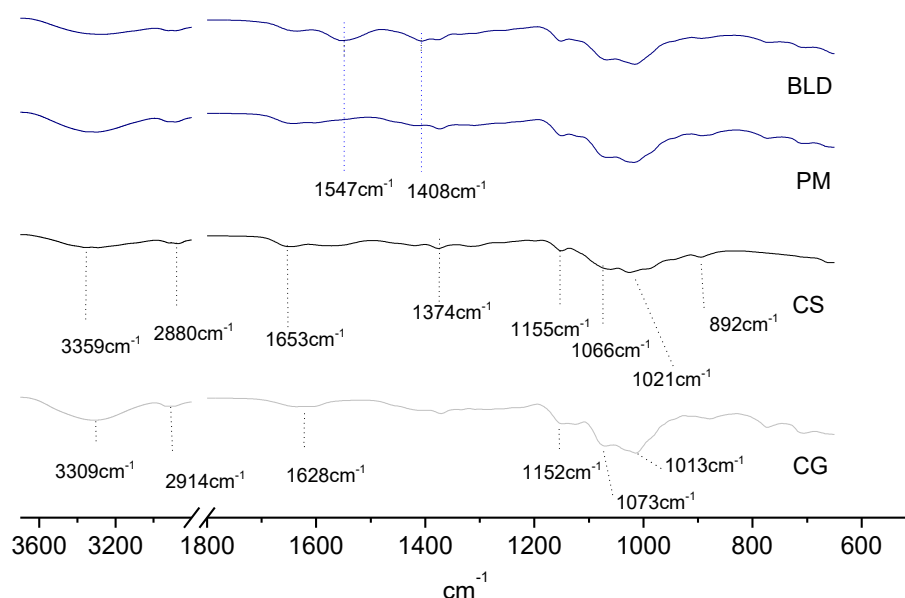
As estruturas químicas de CG e CS são bastante semelhantes, devido à grande quantidade de grupos hidroxilos em suas unidades monoméricas, com diferença na presença de grupo amina na molécula de CS. No espectro FTIR (Figura 4) para ambos os polímeros isolados é possível observar uma banda em aproximadamente 3373 cm^{-1} devido à vibração de estiramento de OH, um pico pequeno a 2900 cm^{-1} , atribuído à vibração de alongamento CH e picos fortes a 1150 , 1080 e 1010 cm^{-1} devido a vibrações de estiramento de C-O-C a partir de ligações de glucósidos.

Especificamente para CG, o FTIR resulta em banda característica em torno de 1628 cm^{-1} atribuído à vibração de estiramento C=O de ácido glucurônico. Devido sua maior constituição ser de galactose, picos entre 3500 e 3100 cm^{-1} relacionada à vibração de alongamento O-H, são observados. Ainda há bandas relacionadas ao alongamento C-H em 2945 e 2891 cm^{-1} e bandas relacionadas à ligação simples C-O em 1071 e 1070 cm^{-1} . As ligações glicosídicas são identificadas em 1152 e 1142 cm^{-1} (Mothé e Freitas, 2013).

Para a quitosana, é possível encontrar picos característicos, como em 1155 , 1066 , 1021 e 892 cm^{-1} que confirmam sua estrutura sacarídica. As hidroxilas da quitosana são identificadas em 3359 cm^{-1} , que se sobrepõe ao estiramento amino. Picos característicos de amina e amida foram encontrados em torno de 1653 cm^{-1} e 1374 cm^{-1} com uma vibração de alongamento C-H de amida em 2880 cm^{-1} (Dhawade & Jagtap, 2012).

A mistura física mostra as mesmas bandas já descritas para os polímeros isolados. A blenda, entretanto, apresenta picos não visualizados nos espectros anteriores. Para BLD são identificados picos em 1547 e 1408 cm^{-1} . Estas estão relacionadas à deformação na ligação N-H e estiramento na ligação C-N, respectivamente, provavelmente um aumento no grau de desacetilação da quitosana original, que ainda deve possuir resquícios de acetilação da molécula precursora, quitina (Ummathur et al., 2009).

Figura 4 – Análise de FTIR para polímeros isolados e suas misturas.



Legenda: Chitosan (CS), Goma de Caju (CG), PM (CS:CG mistura física); BLD (CS:CG após solubilização e liofilização).

A fim de investigar profundamente as interações entre os polímeros após o processo de formação da mistura polimérica e avaliar a estabilidade do complexo na presença e/ou ausência de pilocarpina, procederam-se cálculos computacionais teóricos. Após o cálculo geométrico dos monômeros de menor energia de cada polímero, foram calculadas diferentes possibilidades de dímeros entre as moléculas dos polímeros para determinação do complexo de hidrogênio mais estável. Foram observadas alterações no comprimento das ligações adjacentes aos locais que formam o complexo, devido ao comprometimento destas ligações para as moléculas individuais (Figura 5). Esse fenômeno é o resultado da diminuição da constante de força dessas ligações, o que também se reflete na mudança para frequências mais baixas no espectro vibracional (Oliveira, 2002) (Figura 6).

Figura 5 - Estrutura do monômero (a) pilocarpina, (b) quitosana e (c) goma de caju (d) complexo de hidrogênio mais estável da goma de caju-quitosana, (e) complexo mais estável para os polímeros-pilocarpina e distância das ligações de hidrogênio (em Å) calculado para o nível B3LYP. Energia das ligações de hidrogênio para os compostos mais estáveis.

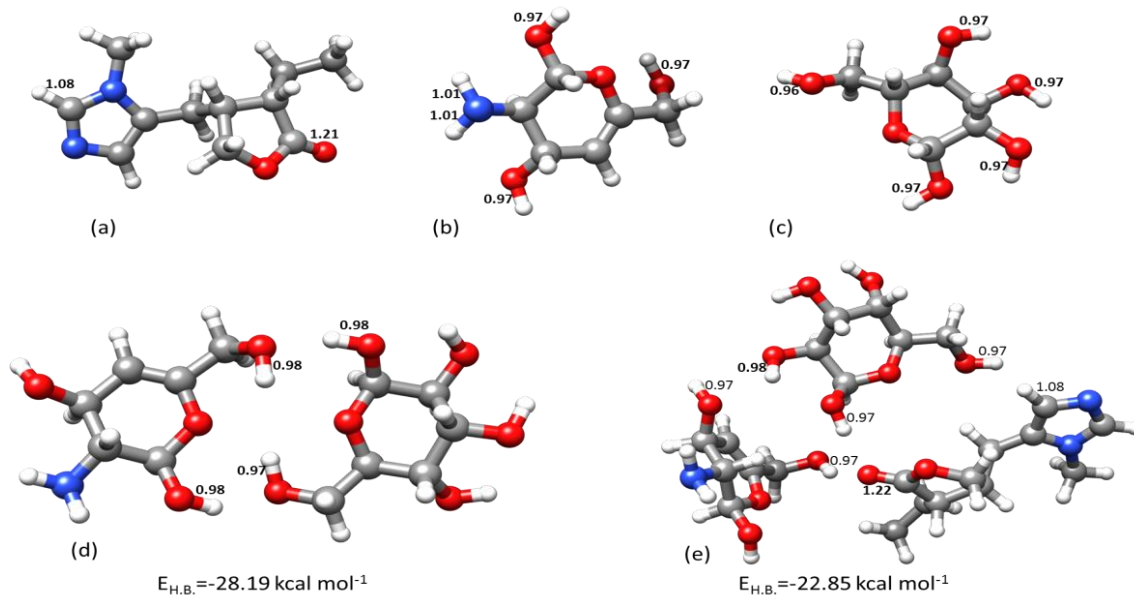
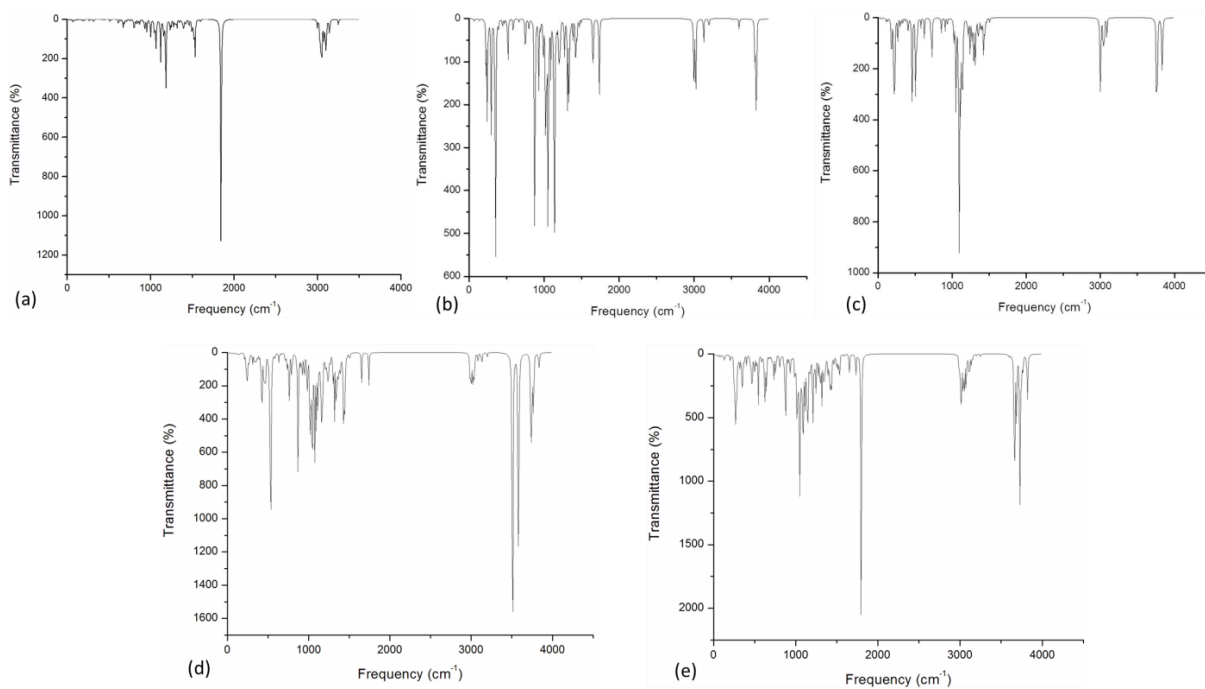


Figura 6- Espectro vibracional teórico (a) pilocarpina, (b) quitosana, (c) galactose (goma de caju), (d) complexo quitosana-galactose e (e) complexo pilocarpina-polímero.



Dos diferentes complexos avaliados, quanto mais estável for calculado, com as correções devidas, mais estável é o complexo polímero-polímero (Figura 6d) e polímero-pilocarpina (Figura 2e). Este resultado demonstra que a interação entre os polímeros formam um complexo mais estável na ausência do fármaco, uma vez que quando o fármaco está presente há competição com as ligações dos polímeros, o que concorda com os dados experimentais previamente relatados. Isto deve ser melhor avaliado levando em consideração os resultados vibracionais.

As diferenças entre os espectros teóricos e experimentais podem ser atribuídas ao fato de que o espectro teórico é calculado para a molécula isolada na fase gasosa enquanto seu espectro experimental ocorre no estado sólido. Como esperado, as principais alterações observadas no espectro teórico vibracional, referem-se a deslocamentos para frequências mais baixas devido à formação de ligações de hidrogênio no complexo. No espectro do complexo quitosana-galactose o grupo hidroxila adjacente ao grupo NH_2 da goma de caju é deslocado de 3824 para 3581 cm^{-1} ($\Delta = 243 \text{ cm}^{-1}$), enquanto a segunda hidroxila envolvido na formação do complexo tem um deslocamento inferior de 3810 para 3769 cm^{-1} ($\Delta = 41 \text{ cm}^{-1}$).

No mesmo complexo, a alteração mais significativa ocorre para a hidroxila da galactose adjacente ao heteroátomo de 3830 a 3510 cm^{-1} ($\Delta = 320 \text{ cm}^{-1}$), enquanto a outra hidroxilo envolvida na formação do complexo tem um deslocamento de 3843 para 3735 cm^{-1} ($\Delta = 108 \text{ cm}^{-1}$). As mudanças químicas observadas na presença de pilocarpina são menos significativas, 82, 168 e 16 cm^{-1} que grupo hidroxilo adjacente CH_2 na quitosana, hidroxila adjacente ao heteroátomo e hidroxila adjacente ao grupo CH_2 na galactose, respectivamente. Estes valores menos significativos na presença de pilocarpina provavelmente ocorrem devido a uma maior competição e menor estabilidade das ligações de hidrogênio formadas.

A possibilidade de um grupo interagir com mais de um sítio de ligação molecular pode resultar em uma maior competitividade na formação de ligações de hidrogênio, o que se reflete em um menor deslocamento químico, o que é consistente com nossos resultados. Estes resultados são consistentes com os valores de energia das ligações de hidrogênio, uma vez que o complexo mais estável também apresentou deslocamentos mais elevados no espectro vibracional. Com isso, também é demonstrado que a formação inicial do sistema polimérico (mistura de polímeros) na ausência do fármaco é essencial para um sistema com maior estabilidade.

Os impactos dessas interações podem ser analisados por verificação do intumescimento (Figura 7) e estudos de força e tempo de mucoadesão (Figura8). O estudo de intumescimento é muito importante para que se estabeleça a adesão e liberação do fármaco,

uma vez que o intumescimento promove flexibilidade nas cadeias poliméricas, formando uma camada de gel em torno da matriz do comprimido e permitindo a interpenetração entre eles e a mucina. Através da camada de gel formada pelo processo de intumescimento o fármaco será liberado. Este processo é dependente da solubilidade do fármaco em meio e do comportamento de intumescimento e erosão do polímero (Gilles Ponchel, Marie-Jeanne Montisci, Assia Dembri, Carlo Durrer, 1997). (Salamat-miller et al., 2005).

Figura 7 - Comparação do comportamento de intumescimento de comprimidos de matriz com quitosana (CS), goma de caju (CG), mistura física (PM) e mistura polimérica (BLD). Os valores indicados são médias (\pm DP) de três experimentos.

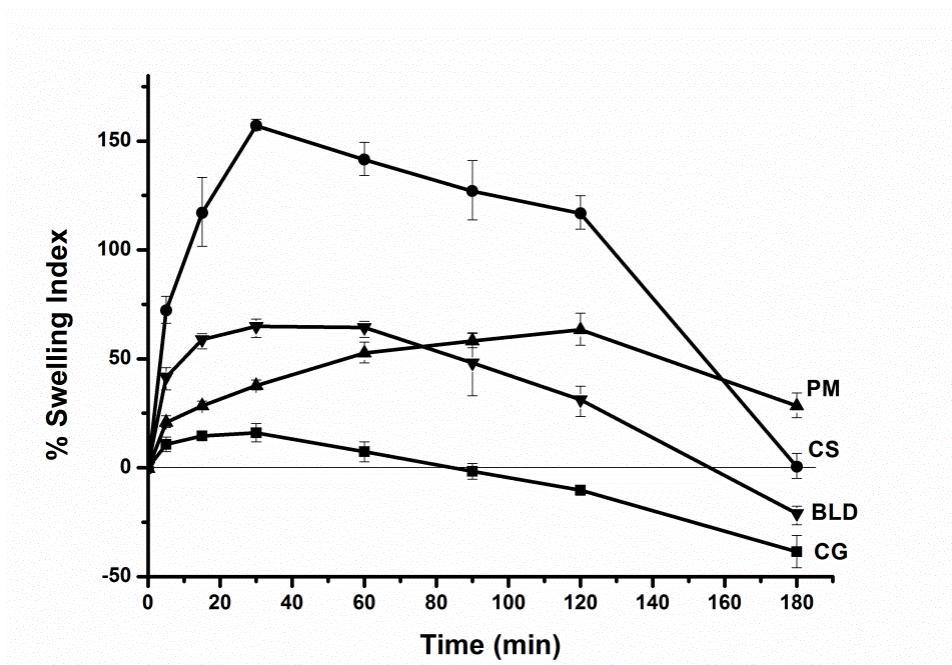
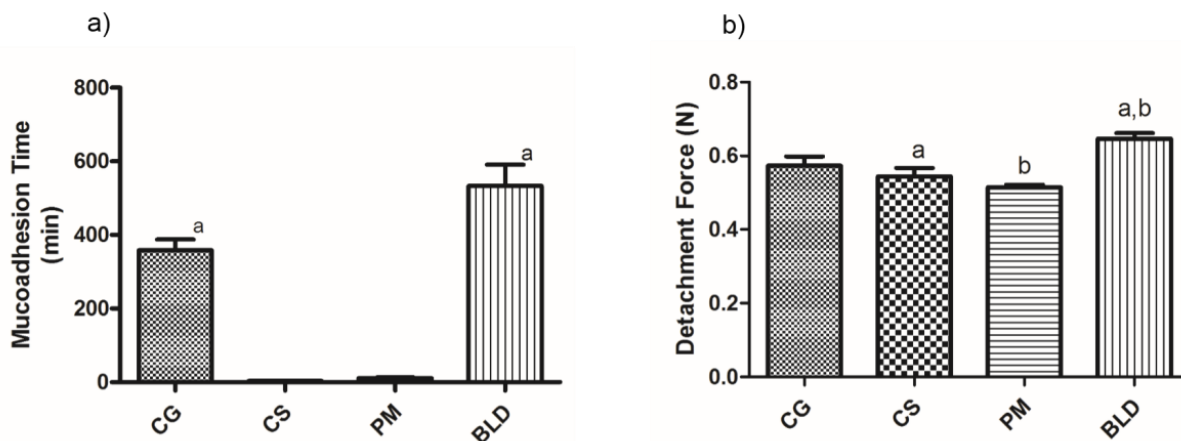


Figura 8 - Comparação das propriedades mucoadesivas dos comprimidos com quitosana (CS), goma de caju (CG), mistura física (PM) e mistura polimérica (BLD). Os valores indicados são médias (\pm DP) de três experimentos. Diferença estatística por ANOVA, pós-teste de Turkey, $p < 0,05$.



Dessa forma, os comprimidos com quitosana apresentaram uma proporção maior e mais rápida de intumescimento, com $68,1\% \pm 6,23$ nos primeiros 5 min de estudo. Adquiriu mais de 1,5 vezes do seu peso nos primeiros 30 min de ensaio, que representam uma elevada proporção de água na cadeia polimérica a partir da camada de gel formada por intumescimento. Além disso, ao mesmo tempo, o processo de erosão tinha começado. Isso caracteriza um sistema polimérico que oferece todas as alternativas de liberação, erosão e alta porcentagem de intumescimento, nos primeiros 30 minutos, o que pode facilitar uma liberação imediata do fármaco e uma adesão rápida e passageira à mucosa (Villanova et al., 2010). Os comprimidos de goma de caju apresentaram comportamento oposto, com baixo intumescimento e rápida erosão. As misturas física e polimérica tiveram um comportamento intermediário de intumescimento quando comparados a seus polímeros isolados. Para a mistura polimérica é mais fácil formar a camada do gel, com mais água entre as correntes do polímero.

Os resultados das análises de mucoadesão corroboram esta teoria. A Figura 8 mostra que os comprimidos de goma de caju tinham um tempo de adesão de 252 min enquanto os comprimidos de quitosana apenas alguns minutos. A goma de caju é um polímero aniônico já relatado na literatura devido suas boas propriedades de mucoadesão (Andrews et al., 2009), (Gowthamarajan et al., 2012), (Value et al., 2013). A quitosana é um polímero catiônico cuja capacidade mucoadesiva já foi relatada, apesar de não ter sido observada neste estudo (Meng-Lund et al., 2014). Estes resultados estão de acordo com o estudo de intumescimento realizado,

uma vez que a quitosana mostrou alta capacidade de retenção de água, podendo criar uma mucilagem escorregadia que por sua vez reduz a capacidade de mucoadesão (Morales e Mcconville, 2011), (Silva et al., 2015). Assim, a quitosana não apresentou boa atividade mucoadesiva sob as condições empregadas deste estudo (Andrews et al., 2009), (Pi, 2009).

Além disso, a Figura 8 mostra o maior tempo de mucoadesão (510min) para a BLD em comparação com seus polímeros isolados e a PM. É possível que a alta interação eletrostática entre os polímeros possa explicar o menor tempo de mucoadesão para a mistura física (Meng-Lund et al., 2014). Além disso, esta mistura tem benefícios em comparação com outros polímeros mucoadesivos descritos na literatura, tais como HPMC, PVA e PVP, com tempo de mucoadesão de 106 a 126 min (Review, 2013). Portanto, é notório que esta mistura tem propriedades mucoadesivas promissoras.

Em relação à força de mucoadesão, os resultados mostram o mesmo aumento da adesão pela mistura polimérica ($0,6463 \text{ N} \pm 0,02$) frente aos seus polímeros isolados: goma de caju ($0,5726 \text{ N} \pm 0,036$), quitosana ($0,5335 \text{ N} \pm 0,038$) e mistura física ($0,5144 \text{ N} \pm 0,010$). Entre os polímeros isolados, a goma de caju apresenta maior resistência à mucoadesão, provavelmente devido ao melhor comportamento de intumescimento nos primeiros minutos. A quitosana tem elevada absorção de água, levando a baixa capacidade de interação entre a cadeia de polímeros e a camada de mucina nas mucosas (Gowthamarajan et al., 2012). A mistura física apresentou menor força de mucoadesão. Provavelmente a associação de dois polímeros com cargas superficiais opostas (+ e -), tem influência no tempo e força de adesão. Uma vez que ambos interagem entre si, a capacidade de adesão no disco de mucina é reduzida (Andrews et al., 2009). Por outro lado, a mistura polimérica mostrou a maior força de mucoadesão, indicando que o processo empregado permite diferentes interações, aumentando as interações entre a mistura polimérica e materiais.

A Figura 9 mostra o perfil de libertação de fármaco. As cápsulas de pilocarpina são formulações de libertação imediata de fármaco, com 85% de fármaco presente no meio nos primeiros 15 min de experimento (FDA, 2016). Assim, os comprimidos feitos com quitosana e goma de caju apresentam a um perfil de libertação lento. Entre os polímeros isolados, a quitosana apresenta maior intumescimento nos primeiros 30 minutos do que a goma de caju e menor liberação de fármaco ao mesmo tempo. Isto indica que a camada de gel formada em comprimidos com quitosana dificulta a liberação do fármaco. Alguns estudos relatam essa liberação lenta da droga promovida pela quitosana devido às interações entre eles, uma vez que a quitosana tem um comportamento catiônico promovido pelos grupos amina presentes em sua molécula (Hermans et al., 2014), (Lu, 2014).

Ainda que seja clara a diferença quanto à liberação de fármaco entre os comprimidos com polímeros isolados e suas misturas, com uma liberação mais lenta das misturas físicas e polimérica, a real diferença entre elas foi obtida a partir de análises matemáticas dependentes do modelo. Os modelos matemáticos são importantes para avaliar as taxas de liberação de fármaco dependendo das propriedades do comprimido e assim compreender melhor a liberação do fármaco. Neste estudo, foram testados quatro modelos para determinar a cinética de liberação da pilocarpina. Seguindo a aplicação destes modelos, os parâmetros dos coeficientes (r^2 e outras constantes) obtidos foram resumidos na Tabela 2.

Como descrito anteriormente, todos os comprimidos poliméricos desenvolvidos são considerados formulações de liberação controlada de acordo com as especificações da FDA. No entanto, os comprimidos de quitosana e goma de caju apresentaram liberação mais rápida do que as suas misturas, com MDT de 1,93 e 1,94 h respectivamente, enquanto as misturas físicas e mistura polimérica, 2,37 e 2,23 h respectivamente.

Figura 9 - Perfil de liberação de pilocarpina *in vitro* a partir de cápsulas ou comprimidos de matrizes poliméricas

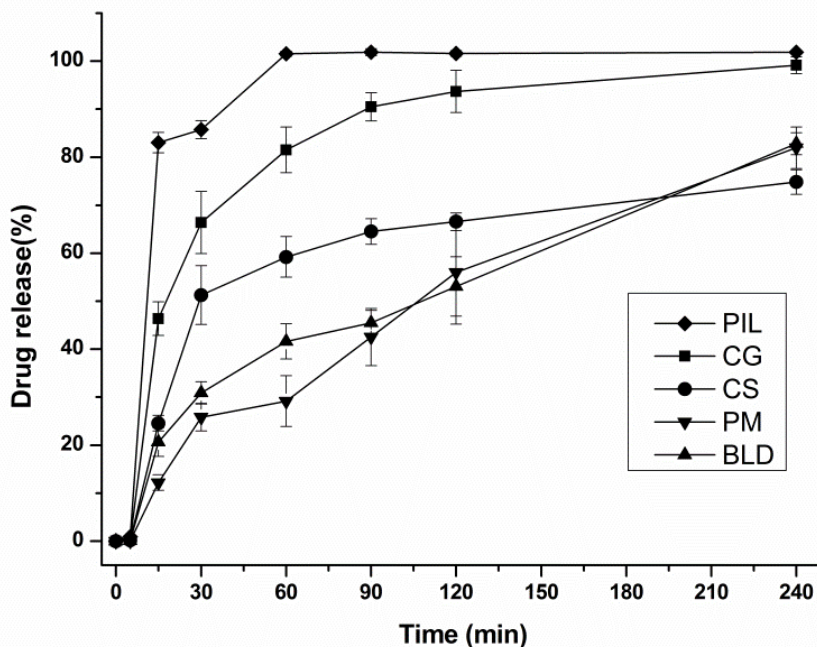


Tabela 2 – Adequação do modelo dos dados de liberação da pilocarpina *in vitro* para cálculo do mecanismo de liberação da droga

Comprimido	Modelo Matemático									
	Ordem zero		Primeira ordem		Higuchi		Korsmeyer–Peppas			MDT
	r^2	c_1	r^2	c_1	r^2	c_1	r^2	c_1	n	
CG	0.208	0.934	0.968	0.032	0.738	8.278	0.999	13.30	0.516	1.93±0.007
CS	0.173	0.696	0.673	0.011	0.765	6.009	0.985	5.571	0.608	1.94±0.095
PM	0.780	0.388	0.931	0.006	0.984	4.867	0.968	2.702	0.622	2.37±0.073
BLD	0.396	0.394	0.783	0.007	0.945	5.097	0.984	6.884	0.440	2.23±0.019

Legenda: c_1 e n são constantes para cada equação de acordo com as equações da Tabela 1.

A liberação de fármaco a partir de matrizes poliméricas é dependente dos processos de intumescimento, erosão e difusão; portanto, é quase impossível ser encaixado num modelo de ordem zero, o que representa uma condição ideal em que uma liberação linear é obtida sem interferentes e sem condições de equilíbrio estabelecidas (Costa e Lobo, 2001). A pilocarpina tem propriedades hidrófilas elevadas, mas o processo de difusão ainda dependerá do comportamento da matriz no meio. Isto é particularmente observado com os comprimidos de goma de caju, quitosana e misturas poliméricas porque todos se encaixam no modelo

Korsmeyer-Peppers (Tabela 2), o que representa uma liberação dependente da formação da camada de gel (Arora et al., 2011). O comportamento da quitosana e da mistura polimérica no teste de intumescimento mostrou uma notória formação de camada de viscosa, o que provavelmente tem relação com a liberação lenta ao longo do tempo.

Para analisar a liberação de formas farmacêuticas de dosagem polimérica, quando o mecanismo de liberação não é bem conhecido ou quando mais de um tipo de fenômeno de liberação pode estar envolvido, Korsmeyer-Peppers é geralmente utilizado. Este modelo é utilizado para caracterizar os diferentes mecanismos de liberação de fármacos. Produz $n = 0,5$ para difusão de Fick e valores entre 0,5 e 1,0 para a transferência de massa seguindo um modelo não-Fickiano (Figueiras et al., 2010). De acordo com este modelo, somente a mistura polimérica mostra a difusão de Fick.

Conclusão

As misturas com quitosana e goma de caju desenvolvidas por solubilização e processo de liofilização promovem maior interação entre as misturas de polímeros, sugerida pela formação de ligações de hidrogênio em métodos teóricos computacionais e reafirmada por análises FTIR e DSC. Este material diferente mostra ainda uma melhora das propriedades mucoadesivas, com maior força e tempo de mucoadesão. No final, além da liberação sustentada relacionada a toda a matriz polimérica, a mistura polimérica segue um comportamento de difusão de Fickiano, a única formulação cuja liberação depende principalmente do processo de difusão através da camada de gel formada no intumescimento. Assim, a matriz polimérica é uma matriz com liberação uniforme e bem conhecida de pilocarpina, o que representam uma formulação promissora no futuro, pelos desenvolvimentos da indústria farmacêutica.

Referencias

- ABDELBARY, G., 2012. Ocular ciprofloxacin hydrochloride mucoadhesive - chitosan-coated liposomes. *Pharmaceutical Development and Technology* 16, 44–56. doi:10.3109/10837450903479988
- ANDREWS, G.P., LAVERTY, T.P., JONES, D.S., 2009. Mucoadhesive polymeric platforms for controlled drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 71, 505–518. doi:10.1016/j.ejpb.2008.09.028
- ARORA, S., LAL, S., KUMAR, S., KUMAR, M., KUMAR, M., 2011. Comparative degradation kinetic studies of three biopolymers : Chitin , chitosan and cellulose 3, 188–201.
- BALABIN, R.M., 2008. Enthalpy difference between conformations of normal alkanes: Intramolecular basis set superposition error (BSSE) in the case of n-butane and n-hexane. *Journal of Chemical Physics* 129, 10–15. doi:10.1063/1.2997349
- BRUSCHI, M.L., PANZERI, H., FREITAS, O. DE, HELENA, E., LARA, G., PALMIRA, M., GREMIÃO, D., 2006. Sistemas de liberação de fármaco intrabolsa periodontal. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 42, 29–47.
- DASH, T.K., KONKIMALLA, V.B., 2012. Polymeric Modi fi cation and Its Implication in Drug Delivery : Poly- ϵ - caprolactone (PCL) as a Model Polymer.
- DE PAULA, R.C.M., RODRIGUES, J.F., 1995. Composition and rheological properties of cashew tree gum, the exudate polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. *Carbohydrate Polymers* 26, 177–181. doi:10.1016/0144-8617(95)00006-S
- FAZIL, M., HAQUE, S., KUMAR, M., BABOOTA, S., 2012. European Journal of Pharmaceutical Sciences Development and evaluation of rivastigmine loaded chitosan nanoparticles for brain targeting. *EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES* 47, 6–15. doi:10.1016/j.ejps.2012.04.013
- FIGUEIRAS, A., PAIS, A.A.C.C., VEIGA, F.J.B., 2010. Research Article A Comprehensive Development Strategy in Buccal Drug Delivery. *AAPS PharmSciTech* 11, 1703–1712. doi:10.1208/s12249-010-9546-1
- FREITAS, J.S. DE, 2013. Extraction , Purification of Cashew PolysAccharide and Characterization by GC-MS , FTIR , NMR , TG / DTG. *International Journal of Research and Reviews in Applied Sciences* 16, 401–408.
- GILLES PONCHEL , MARIE-JEANNE MONTISCI, ASSIA DEMBRI, CARLO DURRER,

- D.D., 1997. Mucoadhesion of colloidal particulate systems in the gastro-intestinal tract. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 44, 25–31.
- GÖK, M.K., ÖZGÜMÜŞ, S., DEMİR, K., CIRIT, Ü., PABUCCUOĞLU, S., CEVHER, E., ÖZSOY, Y., BACINOĞLU, S., 2016. Development of starch based mucoadhesive vaginal drug delivery systems for application in veterinary medicine. *Carbohydrate Polymers* 136, 63–70. doi:10.1016/j.carbpol.2015.08.079
- GOWTHAMARAJAN, K., JAWAHAR, N., WAKE, P., JAIN, K., SOOD, S., 2012. Development of buccal tablets for curcumin using *Anacardium occidentale* gum. *Carbohydrate Polymers* 88, 1177–1183. doi:10.1016/j.carbpol.2012.01.072
- HERMANS, K., PLAS, D. VAN DEN, KERIMOVA, S., CARLEER, R., ADRIAENSENS, P., WEYENBERG, W., LUDWIG, A., 2014. Development and characterization of mucoadhesive chitosan films for ophthalmic delivery of cyclosporine A. Elsevier B.V. 472, 10–19. doi:10.1016/j.ijpharm.2014.06.017
- HORN, M.M. Blandas e filmes de quitosana / amido de milho : estudo da influência da adição de polióis , oxidação do amido e razão amilose / amilopectina.
- KAMOUN, E.A., CHEN, X., MOHY, M.S., KENAWY, E.S., 2015. Crosslinked poly (vinyl alcohol) hydrogels for wound dressing applications : A review of remarkably blended polymers. *Arabian Journal of Chemistry* 8, 1–14. doi:10.1016/j.arabjc.2014.07.005
- LU, E.B.Đ., 2014. Evaluation of chitosan based vaginal bioadhesive gel formulations for antifungal drugs. *Acta Pharmaceutica* 64, 139–156. doi:10.2478/acph-2014-0013
- LUEßEN, H.L., LEEUW, B.J. DE, LANGEMEYER, M.W.E., BOER, A. (Bert. G. de, Verhoef, J.C., Junginger, H.E., 1996. Mucoadhesive Polymers in Peroral Peptide Drug Delivery. VI. Carbomer and Chitosan Improve the Intestinal Absorption of the Peptide Drug Buserelin In Vivo. *Pharmaceutical Research* 13, 1668–1672. doi:10.1023/A:1016488623022
- M. J. FRISCH, G. W. TRUCKS, H. B. SCHLEGEL, G. E. SCUSERIA, M. A. ROBB, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Had, 2009., n.d. Gaussian 09, Revision D.01.
- MACIEL, J.S., PAULA, H.C.B., MIRANDA, M.A.R., SASAKI, J.M., DE PAULA, R.C.M., 2006. Reacetylated chitosan/cashew gum gel: Preliminary study for potential utilization as drug release matrix. *Journal of Applied Polymer Science* 99, 326–334. doi:10.1002/app.22099
- MENG-LUND, E., MUFF-WESTERGAARD, C., SANDER, C., MADELUNG, P.,

- JACOBSEN, J., 2014. A mechanistic based approach for enhancing buccal mucoadhesion of chitosan. *International journal of pharmaceutics* 461, 280–5. doi:10.1016/j.ijpharm.2013.10.047
- MISHRA, A., RAMTEKE, S., 2011. Formulation and Evaluation of Mucoadhesive Buccal Film of Flurbiprofen. *International Journal of PharmTech Research* 3, 1825–1830.
- MORALES, J.O., MCCONVILLE, J.T., 2011. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics Manufacture and characterization of mucoadhesive buccal films. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 77, 187–199. doi:10.1016/j.ejpb.2010.11.023
- OLIVEIRA, G.M. DE, 2002. Espectroscopia Vibracional: Sistemática para o Cálculo dos Estiramentos CO de Complexos Carbonílicos de Determinação da sua Atividade IV e Raman. *Química Nova* 25, 648–656.
- PAULA, H.C.B., MATOSO, F., FREITAS, R. DE, ABREU, F.O.M.S., PAULA, R.C.M. DE, 2011. Preparation and characterization of chitosan / cashew gum beads loaded with Lippia sidoides essential oil. *Materials Science & Engineering C* 31, 173–178. doi:10.1016/j.msec.2010.08.013
- PERIOLI, L., AMBROGI, V., PAGANO, C., SCUOTA, S., ROSSI, C., 2009. FG90 chitosan as a new polymer for metronidazole mucoadhesive tablets for vaginal administration. *International Journal of Pharmaceutics* 377, 120–127. doi:10.1016/j.ijpharm.2009.05.016
- PI, C.D.P., 2009. Desenvolvimento de Comprimidos Mucoadesivos Contendo Extrato de Achyrocline Satureioides (LAM.) D.C. - Marcela. Dissertação de Mestrado.
- REGE, P.R., GARMISE, R.J., BLOCK, L.H., 2003. Spray-dried chitinosans Part II: in vitro drug release from tablets made from spray-dried chitinosans. *International Journal of Pharmaceutics* 252, 53–59.
- REVIEW, P., 2013. of unidirectional release buccal patches of carbamazepine and study of permeation through porcine buccal mucosa Formulation. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 3, 995–1002. doi:10.1016/S2221-1691(13)60192-6
- RIBEIRO, A.J., DE SOUZA, F.R.L., BEZERRA, J.M.N.A., OLIVEIRA, C., NADVORNY, D., DE LA ROCA SOARES, M.F., NUNES, L.C.C., SILVA-FILHO, E.C., VEIGA, F., SOARES SOBRINHO, J.L., 2016. Gums' based delivery systems: Review on cashew gum and its derivatives. *Carbohydrate Polymers* 147, 188–200. doi:10.1016/j.carbpol.2016.02.042
- RODRIGUES, J.F. ET AL. Métodos de isolamento de gomas naturais: comparação através da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.). *Polímeros: Ciência e Tecnologia*. p. 31-

36. 1993.
- S. F. BOYS AND F. BERNARDI, 1970. The calculation of small molecular interactions by the differences of separate total energies. Some procedures with reduced errors. *Molecular Physics* 19, 553–566.
- SALAMAT-MILLER, N., CHITTCHANG, M., JOHNSTON, T.P., 2005. The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery B. *Advanced Drug Delivery Reviews* 57, 1666–1691. doi:10.1016/j.addr.2005.07.003
- SILVA, B.M.A., FILIPA, A., SILVA, C., COELHO, J.F.J., SIMÕES, S., 2015. Mucoadhesive oral films: The potential for unmet needs. *International Journal of Pharmaceutics* 494, 537–551. doi:10.1016/j.ijpharm.2015.08.038
- TAKEUCHI, H., YAMAMOTO, H., NIWA, T., HINO, T., KAWASHIMA, Y., 1996. Enteral Absorption of Insulin in Rats from Mucoadhesive Chitosan-Coated Liposomes. *Pharmaceutical Research* 13, 896–901. doi:10.1023/A:1016009313548
- VALUE, S.J.R.I., MAHAJAN, P., KAUR, A., AGGARWAL, G., HARIKUMAR, S.L., 2013. Available online <http://www.ijddr.in> Covered in Official Product of Elsevier, The Netherlands Mucoadhesive Drug Delivery System: A Review. *International Journal of Drug Development & Research* 5, 11–20.
- VAMSHI KRISHNA, DINESH BABU GOTTIPATI, CHANDRA SEKHAR MORU, N.S.V., 2013. Formulation and Evaluation of Buccal Films of Salbutamol Sulphate. *Mintage journal of Pharmaceutical & Medical Sciences* 2, 37–40.
- VDOVENKO, S., GERUS, I., FEDORENKO, E., KUKHAR, V., 2013. C–H F Hydrogen Bond and Integral Intensities of Vinyl C–H Vibrations in Push-Pull β -Dimethylaminotrifluoromethyl Ketone and Its Deuterated Analog. *ISRN Spectroscopy* 2013, 1–13.
- VIANA, B., OTA, R., SILVA, S., FULG, G.D.O., ANTO, F., LOBATO, C.F., RIBEIRO, R.R., AUGUSTO, G., FANCA, R., BYRRO, R.M.D., CUNHA-J, S., 2014. Mucoadhesive chitosan films as a potential ocular delivery system for ofloxacin: preliminary in vitro studies. *Veterinary Ophthalmology* 17, 150–155. doi:10.1111/vop.12140
- VILLANOVA, J.C.O., ORÉFICE, R.L., CUNHA, A.S., 2010. Aplicações Farmacêuticas de Polímeros. *Polímeros: Ciência e Tecnologia* 20, 51–64.
- WORK, W.J., HORIE, K., HESS, M., STEPTO, R.F.T., WORK, W.J., 2007. Definitions of terms related to polymer blends, composites, and multiphase polymeric. 76, 1985–2007.

CONCLUSÃO

Comprimidos mucoadesivos possuem grande importância para a tecnologia dos sistemas de liberação modificada de fármacos. Sua tecnologia de obtenção necessita de conhecimentos minuciosos sobre os polímeros utilizados e o princípio ativo ao qual pretende veicular, dentre outros fatores também relevantes.

O trabalho, em seu capítulo 1, pode consolidar o conhecimento relativo a tecnologia de obtenção de formas farmacêuticas adesivas para aplicação buca. Como foi visualizado, pouco se padroniza em relação a especificações relacionadas a melhor qualidade desta tecnologia.

No capítulo 2, diante de um cenário pouco inovador quanto a formulações contendo pilocarpina, foi visualizado a falta de métodos validados possíveis para quantificação deste em formulações diferentes das líquidas, predominantemente soluções oftálmicas. O trabalho desenvolveu então um método analítico, com posterior validação, o que é de grande valia para indústrias farmacêuticas que planejam produzir qualquer outra tecnologia farmacêutica com o fármaco.

Por fim, algumas tecnologias até então considerada promissoras para o tratamento da xerostomia foram desenvolvidas. No capítulo 3, a formulação contendo quitosana e o polímero sintético classificado como carbômero, apresentou excelente comportamento adesivo com prolongamento do tempo de liberação do fármaco não superior a 1 hora. Deste modo, apesar da primeira tecnologia ter sido desenvolvida com sucesso, a busca por tecnologia com melhores propriedades de retardo da liberação do fármaco, motivou a tecnologia de mucoadesivos entre quitosana e polímeros naturais. No último capítulo (4), portanto, a associação entre quitosana e goma de cajueiro resultou em formulações com incremento nessas propriedades, tornando-se alternativa terapêutica mais promissora ainda. O processo da mistura dos dois polímeros, resultou em material novo, com propriedades adesivas incrementadas, relativo aos polímeros isolados. Estes serão posteriormente submetidos a testes clínicos para avaliar sua real aplicação para tratamento da xerostomia.

PERSPECTIVAS

Com a formulação desenvolvida, os testes clínicos de sialometria e sialoquímica poderão ser realizados. O projeto intitulado “Avaliação sialométrica de comprimidos mucoadesivos de pilocarpina” foi submetido, em novembro de 2017, ao Comitê de Ética em Pesquisa da UFPI, através da Ferramenta “Plataforma Brasil”. Este deverá ser avaliado na próxima reunião do CEP citado, com previsão para realização dos experimentos em abril no mesmo ano. Para realização destes, foi estabelecido parceria com o Laboratório de Análises Clínicas MedAnálise, o qual disponibilizará os kits bioquímicos, e cujos métodos já são padronizados pelo próprio laboratório.

Uma nova metodologia de doseamento, agora para validação bioanalítica está sendo desenvolvida para monitorização terapêutica de pilocarpina em saliva de pacientes utilizando qualquer formulação de pilocarpina para xerostomia, seja a formulação já disponível no mercado ou as formulações desenvolvidas neste trabalho.

ANEXO 1

Carta de aceite do capítulo 1

December 19, 2017

Dear Dr. Laisa Lis Fontinele de Sá,

I am pleased to inform you that your manuscript titled as "DESIGN OF BUCCAL MUCOADHESIVE TABLETS: UNDERSTANDING AND DEVELOPMENT" (Manuscript Number: JAPS-2017-10-1063) was accepted for publication in the Journal of Applied Pharmaceutical Science. You are required to submit article processing charges within next three days of receiving this mail through Banking/Paypal. Payment details will be sent in a separate email.

Please send a scanned copy of the deposition receipt of amount transferred to editor@japsonline.com

You could check your possible publication date at your author page.

You may login to your author account page, and visit accepted articles section in order to get official/formal acceptance letter as PDF.

I would like to remind that you could send your future manuscripts to Journal of Applied Pharmaceutical Science.

Sincerely yours,

Paras Sharma
Associate Editor
Journal of Applied Pharmaceutical Science
editor@japsonline.com
<http://japsonline.com/index.php>

ANEXO 2

Publicação do capítulo 2

Current Pharmaceutical Analysis x

Title:Development and Validation of a New Method to Quantify Pilocarpine in Tablets by HPLC-DAD

VOLUME: 12 **ISSUE:** 4

Author(s):Davyson de L. Moreira, Stephan Ribeiro, Antônio J. Ribeiro, Francisco B. Veiga, José L.S. Sobrinho, Edson C. da S. Filho, Laisa L.F. de Sá, Rivelilson M. de Freitas and Livio C.C. Nunes

Affiliation:Institute of Pharmaceutical Technology, Farmanguinhos, Fiocruz, Av. Sizenando Nabuco, 100, Manguinhos, Rio de Janeiro, CEP 21040-360, Brasil., School of Pharmacy, Federal University of Piauí, University Campus Min. Petrônio Portela, Ininga, CEP 64049-550, Brazil.

Keywords:Pilocarpine, pharmaceutical analysis, tablets, HPLC-DAD, cyanopropyl column.

Abstract:

Introduction: Pilocarpine, a natural alkaloid that can be obtained from species of *Pilocarpus*, has been used to treat glaucoma, ocular hypertension and xerostomia. The development and validation methods for analysis of pilocarpine and its degradation products are quite challenging since the physicochemical properties between them are relative small.

Methods: Analytical tests in HPLC-DAD were performed and 13 different conditions were take into account, employing three columns (silica based C18, modified-silica cyanopropyl and Zic-HILIC), two buffer solutions, two organic solvents, pH ranging from 5.1 to 5.45, three temperatures and flow rate from 0.8 to 2.0 mL.min⁻¹, in RP or HILIC. The chromatographic assays for pilocarpine hydrochloride in aqueous solution allowed to establish the best chromatographic parameters in terms of signal symmetry and retention as well as to separate pilocarpine from its degradation products with great selectivity, efficiency and resolution. It was possible to validate a new method to dosage pilocarpine hydrochloride in tablets using a modified-silica cyanopropyl column, mobile phase in isocratic mode with mixture of acetonitrile/ potassium dihydrogen phosphate buffer 10 mM (60:40, v/v), pH 5.30, oven temperature of 50 oC and flow rate of 1.0 mL.min⁻¹.

Conclusion: The precision, accuracy, linearity, robustness, recovery, short retention time, isocratic elution mode, quantification (250 ng.mL⁻¹) and identification (75 ng.mL⁻¹) limits allowed establishing a routine estimation for pilocarpine in tablets. The pilocarpine hydrochloride content it was in the range as specified by the Salagen® producer (4.81 ± 0.07 mg/ tablet, 96.16 ± 1.33%) and by the formulation in carbomer 940® + chitosan tablets (4.80 ± 0.02 mg/ tablet, 95.99 ± 0.49%) and in sodium carboxymethylcellulose + chitosan tablets (4.95 ± 0.04 mg/ tablet, 99.08 ± 0.79%).

ANEXO 3

PATENTE DO CAPÍTULO 4

BLENDAS POLIMÉRICAS MUCOADESIVAS PARA LIBERAÇÃO PROLONGADA DE FÁRMACOS.

Laisa Lis Fontinele de Sá^{1,2}; Marciana Socorro Ferreira Cordeiro¹; Camila Maria Barros da Silva¹; Flávia Raquel Lucena de Souza¹; Pedro José Rolim Neto¹; Edson Cavalcanti Da Silva Filho²; Mônica Felts de La Roca Soares¹; Lívio César Cunha Nunes²; José Lamartine Soares-Sobrinho¹.

1 – Núcleo de Controle de Qualidade de Medicamentos e Correlatos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil; 2 – Laboratório de Inovação Tecnológica e Empreendedorismo, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brazil;

 INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL BRASÍLIA - DF		019150000253 28/10/2015 14:49 REPE	
 BR 10 2015 027337 1			
Espaço reservado para o protocolo		Espaço reservado para a etiqueta	
		Espaço reservado para o código QR	
 INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL		INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL Sistema de Gestão da Qualidade Diretoria de Patentes	
DIRPA	Tipo de Documento: Formulário	DIRPA	Página: 1/3
Título do Documento: Depósito de Pedido de Patente		Código: FQ001	Versão: 2
		Procedimento: DIRPA-PQ006	
Ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial: O requerente solicita a concessão de um privilégio na natureza e nas condições abaixo indicadas:			
1. Depositante (71):			
1.1 Nome: UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO – UFPE			

Gráfico síntese

Pedido de depósito de patente recebido pelo INPI em 28 de outubro de 2015.