



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**CAMILA MARIA BARROS DA SILVA**

**FORMULAÇÃO DE GEL TERMOSENSÍVEL MUCOADESIVO  
CONTENDO CLORIDRATO DE PILOCARPINA PARA  
TRATAMENTO DE XEROSTOMIA**

**Recife  
2017**

**CAMILA MARIA BARROS DA SILVA**

**FORMULAÇÃO DE GEL TERMOSENSÍVEL MUCOADESIVO  
CONTENDO CLORIDRATO DE PILOCARPINA PARA  
TRATAMENTO DE XEROSTOMIA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

**Orientador:** Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho

**Coorientadora:** Prof. Dra. Leila Bastos Leal

**Recife**

**2017**

Catálogo na Fonte  
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

S586f Silva, Camila Maria Barros da.  
Formulação de gel termossensível mucoadesivo contendo cloridrato de pilocarpina para tratamento de xerostomia / Camila Maria Barros da Silva. – 2017.  
86 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientador: José Lamartine Soares Sobrinho.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2017.

Inclui referências.

1. Pilocarpina. 2. Poloxamer. 3. Xerostomia. I. Soares Sobrinho, José Lamartine (Orientador). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2017-229)

**CAMILA MARIA BARROS DA SILVA**

**FORMULAÇÃO DE GEL TERMOSENSÍVEL MUCOADESIVO  
CONTENDO CLORIDRATO DE PILOCARPINA PARA  
TRATAMENTO DE XEROSTOMIA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

**APROVADA EM: 28 de Julho de 2017.**

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho** (Presidente)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Luíse Lopes Chaves** (Examinador externo)  
Universidade de Porto- Portugal

---

**Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno** (Examinador externo)  
Universidade Estadual da Paraíba

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**

**REITOR**

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

**VICE-REITOR**

Prof. Dra. Florisbela de Arruda Camara e Siqueira Campos

**PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

Prof. Dr. Ernani Rodrigues de Carvalho Neto

**DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

**VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Profa. Dra. Vânia Pinheiro Ramos

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**

**FARMACÊUTICAS**

Prof. Dr. Luiz Alberto Lira Soares

**VICE-COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**

**FARMACÊUTICAS**

Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradecer a Deus por ter me permitido esta oportunidade e ter me dado forças para vencer todos os obstáculos durante essa desafiadora jornada que foi o mestrado.

Ao Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho pela oportunidade, orientação, confiança, ensinamentos e paciência.

À Prof. Dra. Mônica Felts de La Roca Soares pelos conselhos nos meus momentos de dúvidas, confiança no meu trabalho e ensinamentos.

À minha coorientadora Dra. Leila Bastos Leal, pelo projeto, confiança, ensinamentos e todo apoio.

Aos meus pais: Águida e Alexandre por todo carinho e amor.

Ao meu namorado Bruno Felipe por toda ajuda durante todo o projeto, carinho, amor e paciência.

As minhas tias Edypaula e Maria Betânia e minha avó Iracema pela admiração ao meu trabalho.

Um agradecimento muito especial a Ana Cristina, Maria Luiza, Daniella, Marcelino, David, Dayane Albuquerque, Andrea Vidal, Edson que sempre acreditaram e me incentivaram na realização deste trabalho.

Aos meus colegas e amigos do Núcleo de Controle de Qualidade de Medicamentos e Correlatos (NCQMC) por todos os momentos de amizade, força, apoio e descontração durante a realização deste trabalho.

Ao Núcleo de Desenvolvimento Farmacêutico e Cosmético (NUDFAC), ao Prof. Dr. Danilo Bedor, a Prof. Dr. Leila Basto, a Dr. Giovana e a Dr. Karine pela disponibilidade sempre que precisei realizar meus ensaios e tirar minhas dúvidas e a todos os alunos que sempre me receberam e me ajudaram de forma muito especial.

Aos alunos da Universidade Federal do Piauí (UFPI), Ana Cristina, Ricardo e Laisa por toda a ajuda neste trabalho.

Ao Laboratório de Tecnologia de Medicamentos (LTM) pela disponibilidade para realização de alguns ensaios.

À Central Analítica do Departamento de Química Fundamental (DQF), da UFPE, pelo apoio nos ensaios de análises térmicas e ao Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE), pelo apoio nas análises de infravermelho, DR-X e reologia.

À empresa Vegeflora Extrações do Nordeste Ltda, do grupo Centeflora, pela doação do fármaco pilocarpina.

À Universidade Federal de Pernambuco pela estrutura e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

*Conhecimento não é aquilo que você sabe, mas o que você faz  
com aquilo que você sabe.*  
(Aldous Huxley)

## RESUMO

O cloridrato de pilocarpina tem sido utilizado no tratamento da xerostomia, entretanto sua atuação sistêmica promove reações adversas indesejáveis. Tal problemática leva a necessidade da criação de formulações para a aplicação na mucosa bucal visando efeito local e diminuição da intensidade dos efeitos adversos. Assim, este trabalho objetivou o desenvolvimento de formulações termossensíveis utilizando Poloxamer 407 associado a polímeros naturais mucoadesivos para o carreamento do cloridrato de pilocarpina. Inicialmente foi realizada a caracterização das matérias primas por infravermelho (IV) e análise térmica. As formulações foram obtidas pela solubilização inicial dos polímeros naturais goma do cajueiro e goma karaya em água purificada e quitosana em solução de ácido acético a 1%. As concentrações utilizadas dos polímeros naturais foram de 0,25%, 0,5% e 1,0 % na proporção peso/volume (p/v). Posteriormente, o Poloxamer 407 foi adicionado à solução anterior na concentração de 18% (p/v) e mantida sob resfriamento (4° a 8°C) até completa solubilização do polímero. As formulações obtidas foram avaliadas quanto capacidade de transição solução-gel (sol-gel), temperatura e tempo de gelificação, viscosidade, módulo elástico e propriedades reológicas, além do perfil de liberação. As formulações de Poloxamer 407 18% contendo quitosana e goma do cajueiro em todas as concentrações não apresentaram propriedades de gelificação com o aumento de temperatura. Já as associadas a goma karaya apresentaram um incremento nas propriedades de gelificação com aumento da viscosidade. A formulação contendo goma karaya 1% apresentou maior viscosidade, menor tempo de transição sol-gel, assim como a maior capacidade mucoadesiva. Para avaliação do perfil de liberação, foram comparados o fármaco isolado, a formulação de Poloxamer 407 18% com pilocarpina e Poloxamer 407 18% + goma karaya 1% com pilocarpina e observou-se que a formulação contendo goma karaya 1% apresentou a liberação mais sustentada do fármaco. Diante disto, a utilização de polímeros naturais podem aumentar a capacidade geleificante de componentes já existentes no mercado, sendo a goma karaya um material promissor para a obtenção de novos sistemas mucoadesivos de liberação local e modificada.

Palavras-chave: Pilocarpina. Poloxamer. Xerostomia.

## ABSTRACT

Pilocarpine chloride has been used on treatment of xerostomia, however its systemic action promotes undesirable adverse events. Due to this problem it is necessary create formulation to be applied directly on buccal mucosa to produce local effect and reduce the intensity of adverse effects. So, this work aimed the development of thermosensitive formulation using poloxamer 407 associated to mucoadhesive natural polymers as carrier of pilocarpine chloride. First the characterization of raw materials was realized by infrared (IV) and thermal analysis. Formulations were obtained by initial solubilization of natural polymers cashew and karaya gums in purified water and chitosan in 1% acetic acid solution. The concentrations of the natural polymers used were 0.25, 0.5 and 1.0% in proportion weight/volume (w/v). After, the poloxamer 407 was added to previous solution in concentration of 18% (w/v) and maintained under cooling (4 to 8°C) until complete polymer solubilization. The formulations obtained were evaluated as to solution-gel (sol-gel) transition capacity, gelling temperature and time, elastic modulus and rheological properties. The gels with thermosensitive property were submitted to mucoadhesive force and release profile by dialysis method evaluation. Poloxamer 407 formulation 18% containing chitosan and cashew gum in all different concentrations did not presented gelling properties with temperature of increase. However, the formulation associated to karaya gum showed a increase in gelling properties with high viscosity. The 1% karaya gum formulation presented higher viscosity, shorter time of sol-gel transition, as well as greater mucoadhesive capacity. To release profile evaluation were compared the isolated drug, 18% poloxamer 407 formulation with pilocarpine and poloxamer 407 18% + karaya gum 1% with pilocarpine, which was observed that formulation containing 1% karaya gum showed more sustained release of drug. On these, the use of natural polymers can increase the gelling capacity of components on the market and karaya gum showed as promissor material to obtaining of new mucoadhesive systems to modified and local release.

Keywords: Pilocarpine. Poloxamer. Xerostomia.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura molecular do cloridrato de pilocarpina .....	22
Figura 2 - Estrutura química do Poloxamer 407 .....	27
Figura 3 - Ilustração da formação de micelas do Poloxamer 407 .....	28
Figura 4 - Estrutura da quitosana.....	30
Figura 5 - Estrutura química da galactose, principal polissacarídeo contido na goma do cajueiro .....	31
Figura 6 - Estrutura química da goma karaya acetilada.....	32
Figura 7 - Espectroscopia de absorção na região do infravermelho da quitosana.....	41
Figura 8 - Espectroscopia de absorção na região do infravermelho da goma do cajueiro.....	42
Figura 9 - Espectroscopia de absorção na região do infravermelho da goma karaya ....	43
Figura 10 - Espectroscopia de absorção na região do infravermelho do Poloxamer 407.....	44
Figura 11 - Espectroscopia de absorção na região do infravermelho do cloridrato de pilocarpina .....	45
Figura 12 - Curva de TG/DTG da quitosana .....	46
Figura 13 - Curva de TG/DTG da goma do cajueiro.....	47
Figura 14 - Curva de TG/DTG da goma karaya.....	48
Figura 15 - Curva de TG/DTG do Poloxamer 407 .....	49
Figura 16 - Curva de TG/DTG (A) e DSC (B) do cloridrato de pilocarpina .....	50
Figura 17 - Resultado da análise estatística para temperatura de gelificação entre Poloxamer 407 18% e as formulação contendo Goma Karaya - Teste do tubo invertido.....	53
Figura 18 - Resultado da análise estatística para temperatura de gelificação entre as formulação contendo goma karaya - Teste do tubo invertido. ....	54
Figura 19 – Viscosidade versus temperatura das formulações Poloxamer 407 18% + quitosana (0,25%; 0,5% e 1%).....	55
Figura 20 - Viscosidade versus temperatura das formulações Poloxamer 407 18% + Goma do Cajueiro (0,25%; 0,5% e 1%).....	56
Figura 21 - Viscosidade versus temperatura das formulações P407 18% + GK (0,25%; 0,5% e 1%).....	57
Figura 22 - Resultado da análise estatística para temperatura de gelificação entre as formulação contendo goma karaya – Reômetro. ....	59

Figura 23 – Módulo elástico em função da temperatura a uma frequência de 0,1 Hz, formulações Poloxamer 407 18% + Quitosana (0,25%; 0,5% e 1%).....	60
Figura 24 – Módulo elástico em função da temperatura a uma frequência de 0,1 Hz, formulações Poloxamer 407 18% + Goma do Cajueiro (0,25%; 0,5% e 1%). .....	61
Figura 25 – Módulo elástico em função da temperatura a uma frequência de 0,1 Hz, formulações Poloxamer 407 18% + Goma Karaya (0,25%; 0,5% e 1%).....	62
Figura 26 – Comportamento reológico das formulações a 25 °C e 37 °C – Reômetro..	64
Figura 27 - Curva de fluxo do Poloxamer 407 18% (A) viscosidade versus taxa de cisalhamento (B) tensão de cisalhamento versus taxa de cisalhamento a 37 °C.....	65
Figura 28 - Curva de fluxo do Poloxamer 407 18% + Goma Karaya 0,25% (A) viscosidade versus taxa de cisalhamento (B) tensão de cisalhamento versus taxa de cisalhamento a 37 °C. ....	66
Figura 29 - Curva de fluxo do Poloxamer 407 18% + Goma Karaya 0,5% (A) viscosidade versus taxa de cisalhamento (B) tensão de cisalhamento versus taxa de cisalhamento a 37 °C. ....	67
Figura 30 - Curva de fluxo do Poloxamer 407 18% + Goma Karaya 1% (A) viscosidade versus taxa de cisalhamento (B) tensão de cisalhamento versus taxa de cisalhamento a 37 °C. ....	68
Figura 31 - Força de mucoadesão das formulações - Análise estatística por ANOVA - teste dunnet ( $p < 0,05$ ) .....	70
Figura 32 - Análise estatística da força de mucoadesão comparação entre P407 18% e as formulações contendo goma karaya .....	71
Figura 33 - Análise estatística da força de mucoadesão comparação entre as formulações contendo goma karaya .....	71
Figura 34 - Perfil de liberação da pilocarpina nas formulações .....	73

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Concentração de Poloxamer 407, Goma Karaya, Goma do Cajueiro e Quitosana para obtenção das formulações.....	36
Tabela 2 - Equações utilizadas para avaliar a cinética de liberação da pilocarpina nas formulações .....	39
Tabela 3 – Resultado de temperatura e tempo de transição sol-gel das formulações ....	52
Tabela 4 – Resultados da avaliação da viscosidade em função da temperatura das formulações .....	58
Tabela 5 – Resultado da cinética de liberação da pilocarpina nas formulações.....	74

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CS	Quitosana
CST	Temperatura crítica de solução ( <i>Critical solution temperature</i> )
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DTG	Termogravimetria derivada
FAD	Food and Drug Administration
FT-IR	Espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier
G'	Módulo elástico ou módulo de armazenamento
GC	Goma do cajueiro
GK	Goma Karaia
LCST	Abaixo da temperatura crítica de solução ( <i>lower Critical solution temperature</i> )
P407 + CS	Poloxamer 407 + Quitosana
P407 + GC	Poloxamer 407 + Goma do cajueiro
P407 + GK	Poloxamer 407 + Goma Karaya
P407	Poloxamer 407
PEO	Polioxietileno
PPO	Polioxipropileno
TG	Termogravimetria
Tsol-gel	Transição solução-gel
UCST	Acima da temperatura crítica de solução ( <i>upper Critical solution temperature</i> )

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>20</b>
<b>2.1</b>	<b>OBJETIVO GERAL .....</b>	<b>20</b>
<b>2.2</b>	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>20</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>22</b>
<b>3.1</b>	<b>CLORIDRATO DE PILOCARPINA.....</b>	<b>22</b>
<b>3.2</b>	<b>XEROSTOMIA .....</b>	<b>23</b>
<b>3.3</b>	<b>POLÍMEROS INTELIGENTES.....</b>	<b>25</b>
<b>3.4</b>	<b>SISTEMAS TERMO-RESPONSIVOS .....</b>	<b>26</b>
<b>3.5</b>	<b>POLÍMEROS TERMO-RESPOSSÍVOS .....</b>	<b>26</b>
<b>3.6</b>	<b>POLOXAMER 407.....</b>	<b>27</b>
<b>3.7</b>	<b>POLÍMEROS COM PROPRIEDADES MUCOADESIVAS.....</b>	<b>29</b>
3.7.1	Quitosana.....	29
3.7.2	Goma do Cajueiro.....	30
3.7.3	Goma Karaya.....	31
<b>3.8</b>	<b>PROPRIEDADE MUCOADESIVA E TEORIAS MUCOADESIVAS.....</b>	<b>32</b>
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>35</b>
<b>4.1</b>	<b>MATERIAIS .....</b>	<b>35</b>
<b>4.2</b>	<b>IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS PRIMAS ...</b>	<b>35</b>
4.2.1	Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho.....	35
4.2.2	Análise Térmica.....	35
<b>4.3</b>	<b>OBTENÇÃO DAS FORMULAÇÕES TERMOSENSÍVEIS .....</b>	<b>35</b>
<b>4.4</b>	<b>AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES DE TRANSIÇÃO SOL-GEL .....</b>	<b>36</b>
4.4.1	Determinação da temperatura de transição sol-gel pelo método do tubo invertido	36
4.4.2	Determinação do tempo de transição sol-gel pelo método do tubo invertido .....	37
<b>4.5</b>	<b>AVALIAÇÃO DA PROPRIEDADES DE TRANSIÇÃO SOL-GEL DAS FORMULAÇÕES .....</b>	<b>37</b>
4.5.1	Determinação da viscosidade em função da temperatura.....	37
4.5.2	Determinação do módulo elástico das formulações .....	37
<b>4.6</b>	<b>AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO REOLÓGICO DAS FORMULAÇÕES .....</b>	<b>37</b>
<b>4.7</b>	<b>DETERMINAÇÃO FORÇA MUCOADESIVA DOS GÉIS .....</b>	<b>38</b>

<b>4.8 AVALIAÇÃO DO PERFIL DE LIBERAÇÃO .....</b>	<b>38</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>41</b>
<b>5.1 IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS MATERIAS PRIMAS ....</b>	<b>41</b>
5.1.1 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho.....	41
5.1.2 Análise Térmica.....	45
<b>5.2 AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES DE TRANSIÇÃO SOL-GEL DAS FORMULAÇÕES .....</b>	<b>51</b>
5.2.1 Determinação da temperatura e tempo de transição sol-gel pelo método do tubo invertido.....	51
<b>5.3 AVALIAÇÃO DA PROPRIEDADES DE TRANSIÇÃO SOL-GEL DAS FORMULAÇÕES .....</b>	<b>54</b>
5.3.1 Determinação da viscosidade em função da temperatura.....	54
5.3.2 Determinação do módulo elástico .....	59
<b>5.4 AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO REOLÓGICO DAS FORMULA ÇÕES POR MÉTODO VISCOSIMETRICO.....</b>	<b>63</b>
<b>5.5 DETERMINAÇÃO FORÇA MUCOADESIVA DOS GÉIS .....</b>	<b>70</b>
<b>5.6 AVALIAÇÃO DO PERFIL DE LIBERAÇÃO .....</b>	<b>72</b>
<b>6 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS .....</b>	<b>76</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>78</b>

# *INTRODUÇÃO*

## 1 INTRODUÇÃO

O cloridrato de pilocarpina, é uma agonista colinérgico, muito explorado para o tratamento de xerostomia, principalmente em pacientes com síndrome de Sjögren e pacientes submetidos a radioterapia para o tratamento do câncer de cabeça e pescoço (SANTANA, 2009; SÁ, 2013; SOCORRO et al., 2017). Apesar da importância do uso da pilocarpina nas patologias citadas, existem algumas limitações relacionadas ao uso desse fármaco, visto que a única formulação comercial a base de pilocarpina para tratamento de xerostomia é o comprimido oral da marca Salagen®, não disponível no Brasil (BRAGA et al., 2009). Além da não disponibilidade dessa formulação no Brasil a sua administração oral tem efeito sistêmico geram várias reações adversas, reduzindo muitas vezes a adesão do paciente a terapia. A busca por novas alternativas terapêuticas vem sendo bastante explorada nos últimos anos.

O desenvolvimento de sistemas inteligentes de carreamento de fármacos e com propriedades mucoadesivas vem sendo bastante estudados como alternativa para melhorar a biodisponibilidade e, conseqüentemente, o efeito terapêutico desejado, uma vez que permite um direcionamento da fármaco ao local de ação. Entre as vantagens destes sistemas é possível reduzir os efeitos adversos, evitar o efeito de primeira passagem, possibilita liberação prolongada do fármaco e a permanência por mais tempo do princípio ativo no local de ação (MOHAMMADI-SAMANI; BAHRI-NAJARI; YOUSEFI, 2005).

Polímeros inteligentes ou polímeros *stimuli-responsive* são muito utilizados no que se refere à tecnologia de administração de fármacos, entre suas diversas vantagens, eles apresentam a propriedade de responder a pequenos estímulos ambientais, tais como pH e temperatura. Sendo os polímeros sensíveis à temperatura a classe mais comumente estudada de sistemas poliméricos sensíveis a estímulos, devido a sua capacidade de sofrer transição solução-gel com o aumento de temperatura. Além disso, permitem a associação com os polímeros com propriedades mucoadesivas prolongando o tempo de retenção da formulação na mucosa.

O Poloxamer 407 (P407) tem excelentes propriedades gelificantes termossensíveis. No entanto, ele é pobre com relação as propriedades mucoadesivas devido a sua elevada permeabilidade à água, o que se faz necessário a utilização de um polímero que incremente esta propriedade adesiva a formulação. Diversos trabalhos na literatura abordam a obtenção sistemas com essas propriedades, dentre eles: a associação de P407 com carbopol

934P como agente mucoadesivo para liberação de extrato de própolis para tratamento oral de Herpes (MAZIA et al., 2016); e Jung et al. 2017 que desenvolveu um hidrogel termossensível mucoadesivo utilizando P407 e ácido hialurônico para como plataforma de entrega de piroxicam para tratamento de artrite.

Neste contexto, este trabalho visa desenvolver uma formulação termossensível mucoadesiva, utilizando P407 como agente termossensível e os polímeros naturais quitosana (CS), goma do cajueiro (GC) e goma karaya (GK) com o intuito de atribuir propriedade mucoadesiva à formulação, promovendo a formação de um gel de ação local, de fácil administração e com perfil melhorado de liberação do fármaco, restringindo as reações adversas, fundamental para a adesão dos pacientes ao tratamento.

***OBJETIVOS***

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

- **Formular gel termossensível com propriedades mucoadesivas contendo cloridrato de pilocarpina.**

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Caracterizar das matérias primas e insumo farmacêutico ativo por espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) e análise térmica;
- Identificar as melhores proporções P407: polímero mucoadesivo
- Verificar a temperatura de transição solução-gel ( $T_{sol-gel}$ );
- Verificar o tempo necessário para transição solução-gel ( $T_{sol-gel}$ );
- Avaliar as propriedades da formulação por testes reológicos e viscosimétricos;
- Determinar a capacidade mucoadesiva através do teste de força de mucoadesão;
- Realizar teste de liberação de cloridrato de pilocarpina a partir das formulações desenvolvidas.

# *REVISÃO BIBLIOGRÁFICA*

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

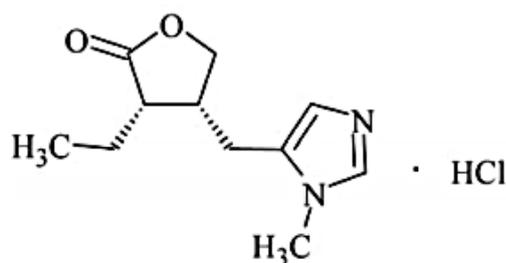
#### 3.1 CLORIDRATO DE PILOCARPINA

A pilocarpina é um alcaloide imidazólico exclusivamente encontrado em plantas do gênero *Pilocarpus*. Este gênero inclui 17 espécies, das quais quatorze são distribuídas no território brasileiro. Entretanto, apenas duas espécies são cultivadas para produção das folhas de onde se extrai o alcalóide: *Pilocarpus microphyllus* e *Pilocarpus jaborandi* (SAWAYA et al., 2011).

O cloridrato de pilocarpina ( $C_{11}H_{16}N_2O_2 \cdot HCl$ ) (Figura 1), como é quimicamente chamado, é descrito pela Farmacopeia Brasileira como cristais incolores, solúvel em água, facilmente solúvel em álcool, fracamente solúvel em clorofórmio e insolúvel em éter.

Trata-se de uma substância colinérgica com estrutura de uma amina terciária (Figura 1), que apresenta ações nicotínicas e muscarínicas, com predominância das últimas, cujo mecanismo de ação está relacionado à ligação reversível do fármaco aos receptores muscarínicos do tipo M3 (MIURA, 2009).

Figura 1 - Estrutura molecular do cloridrato de pilocarpina



Fonte: Farmacopeia Brasileira, 2010

Sua principal ação explorada comercialmente é a atividade hipotensora ocular, para o tratamento de glaucoma. 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 esfíncteres, estimulação do peristaltismo dentre outras (PAPPANO, 2007; SANTANA, 2009; MIURA, 2009).

Além de sua atividade principal para controlar a pressão intra-ocular, vem sendo relatado em diversos trabalhos na literatura sobre o uso do cloridrato de pilocarpina para tratar xerostomia associada à síndrome de Sjögren e pacientes submetido a radioterapia devido as neoplasias malignas de cabeça e pescoço (HORIOT et al., 2000; NAPEÑAS; BRENNAN; FOX, 2009). Devido a sua ação parassimpatomimética que estimula os receptores colinérgicos na superfície das glândulas exócrinas, causando aumento da secreção salivar e, consequentemente, reduzindo os sintomas da xerostomia (ALMEIDA; KOWALSKI, 2010).

A pilocarpina é o fármaco de escolha no tratamento da xerostomia e o seu efeito sobre o fluxo salivar é interrompido quando a administração do medicamento é interrompida, logo o seu uso deve ser contínuo (BOSSOLA; TAZZA, 2012). Relatos da literatura abordam que a pilocarpina melhora a qualidade de vida, diminuindo o incômodo causado pela xerostomia (LÓPEZ-LÓPEZ; SALAS; KÜSTNER, 2014).

Para o tratamento da xerostomia a única formulação farmacêutica comercial até o momento, não disponível no Brasil, a base de pilocarpina é o comprimido oral de administração sistêmica cuja referência no mercado é a marca Salagen® (MGI Pharma Inc., Bloomington, Minnesota, EUA), que contém 5 mg do fármaco, aprovado em 1994 pela Food and Drug Administration (FDA) (BRAGA et al., 2009).

Além da não disponibilidade dessa formulação no Brasil a sua administração oral, com efeito sistêmico, ocasiona reações adversas como sudorese, cefaleia, aumento de frequência urinária, calafrios, sintomas semelhantes ao resfriado, corrimento nasal, lacrimejamento, rinite e palpitações, esses fatores levam a necessidade da criação de formulações a serem aplicadas diretamente na mucosa bucal que tenham efeito local e diminuam a intensidade dos seus efeitos adversos (BERNARDI et al., 2002; FÁVARO; FERREIRA; MARTINS, 2006; HAMLAR et al., 1996).

### 3.2 XEROSTOMIA

A xerostomia é caracterizada pela diminuição da quantidade de saliva produzida pelas glândulas salivares. O que pode afetar desfavoravelmente a saúde bucal causando atrofia, ulcerações da mucosa, cáries e outras infecções, afetando a qualidade de vida dos indivíduos provocando dificuldades em falar, comer e engolir, diminuição do sentido do paladar, sendo esta uma condição clínica de grande elevância médica (BRAGA et al., 2009; KALUZNY et al., 2014).

As principais causas dessa patologia são doença autoimune como a síndrome de Sjogren e tratamentos com radiações ionizantes de cânceres da cabeça e pescoço. Além desses, muitos fármacos anticolinérgicos, ou de outras classes, incluindo antidepressivos tricíclicos, anti-histamínicos, anti-hipertensivos e diuréticos, ainda, doenças como HIV, hepatite C, diabetes mellitus e hipertensão, além do consumo de álcool e fumo, podem negatar o fluxo salivar (BARROS; MORSELI; CROPANESE, 2004; VISVANATHAN; NIX, 2010)

Essa patologia pode ser observada por dois aspectos: hipofunção da glândula salivar resultando em produção da saliva diminuída, e xerostomia, a sensação subjetiva de uma seca boca. Para o tratamento da xerostomia é importante identificar a etiologia e assim proceder com a estratégia terapêutica a fim de reduzir ou eliminar a causa. (LÓPEZ-LÓPEZ; SALAS; KÜSTNER, 2014).

As abordagens terapêutica para xerostomia tem como objetivo principal a redução do sintomas, que incluem principalmente a utilização de salivas artificiais e fármacos que estimulem a produção de saliva, sendo estimulantes mais eficazes, pois produzem maior alívio do que os substitutos da saliva (KALUZNY et al., 2014).

A pilocarpina, continua sendo um dos siálogos mais estudados no tratamento da xerostomia, sendo um dos seus principais problemas a ocorrência de reações adversas, como apresentadas no tópico anterior, em cerca de 30% dos pacientes (LÓPEZ-LÓPEZ; SALAS; KÜSTNER, 2014). Além do seu uso oral o cloridrato de pilocarpina foi avaliado por via tópica em pacientes com xerostomia, com o objetivo de promover a entrega local na tentativa de minimizar os efeitos secundários sistêmicos. Ao final do estudo, nenhum aumento na salivagem foi observado, porém os pacientes relatam que a xerostomia subjetiva foi aliviada, logo o sistema foi bem tolerado (HAMLAR et al., 1996). Nas preparações tópicas, a absorção do fármaco ocorre pelas membranas da cavidade oral por difusão e pode ligar-se aos receptores muscarínicos, ocorrendo uma absorção local; porém devido a vascularização, a pilocarpina pode difundir-se nas membranas da mucosa oral, e uma porcentagem pode atingir a circulação sistêmica.

Mesmo com uma possível absorção sistêmica no seu uso tópico as reações adversas poderão mais bem toleradas, principalmente se for possível proporcionar uma liberação mais lenta do fármaco no local de ação. Sendo o desenvolvimento de uma formulação termossensível para o uso tópico bucal, utilizando associação de polímeros inteligentes e

polímeros naturais com propriedades mucoadesivas uma alternativa promissora para esta problemática.

### 3.3 POLÍMEROS INTELIGENTES

Atualmente diversas pesquisas estão voltadas para o desenvolvimento de novos sistemas de administração de medicamentos utilizados para direcionar medicamentos para o um local específico de ação e para conseguir uma liberação controlada de fármaco com cinética de liberação preferível.

O desenvolvimento de uma forma farmacêutica adequada pode ser a chave para veiculação de um fármaco para um local apropriado onde deve ser liberado para exercer o respetivo efeito terapêutico e reduzir possíveis reações adversas.

Sistemas de administração de fármacos inteligente que respondem a estímulos fisiológicos, surgiram como uma abordagem inovadora para a administração de agentes terapêuticos. A administração oral de fármacos é a via de administração mais comum, mais simples e que proporciona uma melhor adesão e conforto ao paciente (BAWA et al., 2009)

Desta forma, os polímeros inteligentes ou polímeros *stimuli-responsive* são muito utilizados no que se refere à tecnologia de administração de fármacos, uma vez que estes polímeros apresentam uma resposta a pequenos sinais e alterações do ambiente circundante, inclusive em meio fisiológico, sofrendo alterações drásticas na sua microestrutura, modificando as suas propriedades físico-químicas de acordo com o objetivo desejado, sendo estas transições reversíveis (KIRCHHOF; GOEPFERICH; BRANDL, 2015).

Sendo o desenvolvimento de hidrogéis utilizando polímeros estímulos responsivos um dos sistemas que mais receberam atenção nos últimos anos (HANI; SHIVAKUMAR, 2013). Um gel formulado a partir de polímeros sensíveis ao estímulo, podem sofrer transição de fase quando expostos a diversos estímulos como: mudança de temperatura, e pH, aumento da força iônica, luz, ultrassom, presença de agentes biológicos (ALARCON; PENNADAM; ALEXANDER, 2005; ZAGO, 2014)

Várias formulações de gel com propriedades estímulo responsivas são encontradas na literatura para entrega de agente terapêutico como: buprenorfina, fluconazol, e insulina (KANG; SINGH, 2005; GRAVES; FREEMAN; MANDAL, 2007; GONJARI et al., 2009). Os hidrogéis e polímeros sensíveis à temperatura ou termo-responsivos são a classe mais comumente estudada de sistemas poliméricos sensíveis a estímulos (QIU; PARK, 2012; DEWAN et al., 2017).

### 3.4 SISTEMAS TERMO-RESPONSIVOS

Os sistemas de gelificação induzidos termicamente ganharam enorme atenção ao longo da última década. Os hidrogéis termicamente responsivos têm sido amplamente investigados por causa de sua aplicação simples e reações adversas baixas nos tecidos em comparação com outros estímulos (RUEL-GARIÉPY et al., 2004).

Acima de uma certa concentração, eles se apresentam com uma solução à temperatura ambiente, e em determinada temperatura, como por exemplo na temperatura corporal se comportam como gel (CAMELLA et al., 2015; LAI et al., 2014) Suas propriedades termossensíveis e biodegradáveis tornam esses tipos de polímeros candidatos potenciais para desenvolvimento de sistemas para administração de medicamentos, terapia celular, bem como para engenharia de tecidos (DEVI; SANDHYA; HARI, 2013; DEWAN et al., 2017).

Estes sistemas têm uma propriedade reversível de transição de estado o que permite, quando na forma de solução, facilidade de aplicação e distribuição no local de aplicação. No entanto, quando a temperatura aumenta, as formulações exibem aumentos na viscosidade e tempo de retenção no local da administração, para o período de tempo desejado (KLOUDA, 2015). Além disso, permitem a associação com os polímeros com propriedades mucoadesivas, tais como carbopol (C934P) e carboximetil celulose de sódio, prolongando o tempo de retenção na mucosa oral e, assim, diminuir a frequência de administração do fármaco e aumentar a adesão do paciente ao tratamento (KARAVASILI; FATOUROS, 2015)

### 3.5 POLÍMEROS TERMO-RESPOSSÍVOS

A estrutura dos polímeros termossensíveis reflete um equilíbrio adequado entre os grupos hidrófobos e hidrofílicos. Devido a este equilíbrio, uma pequena alteração na temperatura da solução de polímero aquosa pode criar um novo ajuste das interações hidrofóbicas e hidrofílicas entre os blocos de polímero e as moléculas de água (BAJPAI et al., 2008; MATANOVIC; KRISTL; GRABNAR, 2014). Um característica comum destes polímeros é a temperatura crítica da solução (CST – “*critical solution temperature*”), que é definida como a temperatura à qual a solução de polímero sofre a separação de fase. Abaixo da temperatura crítica de solução (LCST – “*Lower critical solution temperature*”) os polímeros são solúveis, ou seja, são solúveis em condições de resfriamento 4 a 8 °C, e com o

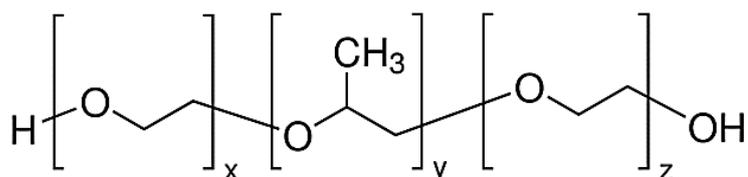
aumento da temperatura acima da CST tornam-se hidrófobos e insolúveis, causando a formação de gel, como por exemplo os vários tipos de poloxamer e Poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAm). Já uma solução de polímero que gelifica após o resfriamento apresenta uma temperatura de solução crítica superior (UCST – “*upper critical solution temperature*”), estes geralmente são solúveis quando submetidos ao aquecimento. Esse é realmente um processo crucial para a aplicação de géis termossensíveis na administração de fármacos (BROMBERG; RON, 1998; PEPPAS et al., 2000).

De um modo geral, as características como temperatura de gelificação e viscosidade desses géis são influenciadas pela concentração do polímero. No caso de polímeros que com característica de solubilidade LCST, normalmente com um aumento na concentração de polímero, a temperatura de transição sol-gel diminui à medida que as interações de polímeros hidrofóbicos ocorrem mais rapidamente (JEONG et al., 1999; MATANOVIC; KRISTL; GRABNAR, 2014).

### 3.6 POLOXAMER 407

O P407, conhecido como Pluronic® F-127, é o copolímero mais utilizado para obtenção de sistemas termossensíveis. Ele faz parte do grupo dos copolímeros de tribloco, não iônicos, comercialmente disponíveis consistindo de um bloco hidrofóbico com unidades de polioxipropileno (PPO) e dois blocos hidrofílicos com unidades de polioxietileno (PEO), como pode ser observado na figura 2 (DEVI; SANDHYA; HARI, 2013; KAROLEWICZ, 2015). Existem mais 30 tipos de poloxâmeros comercialmente disponível com uma ampla gama de composição e pesos moleculares que variam no intervalo de 1.100-14.000 Da, sendo o P407 um dos mais estudado na literatura. (CAMELLA et al., 2015; KLOUDA, 2015).

Figura 2 - Estrutura química do Poloxamer 407



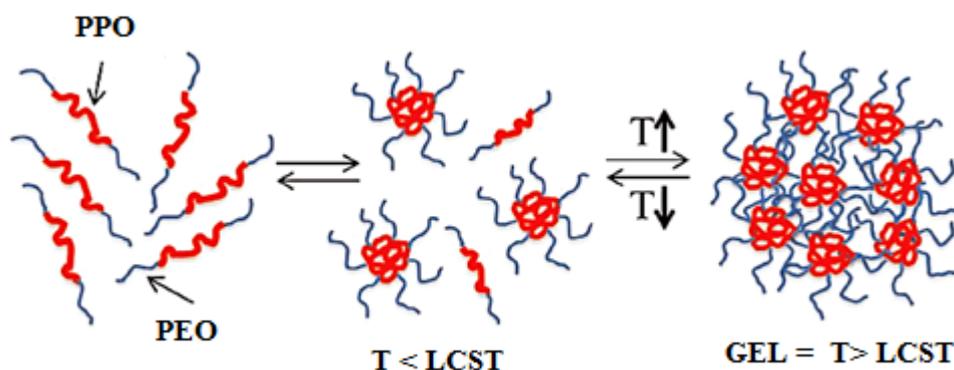
Fonte: Sigma - Aldrich

O polímero é solúvel em água fria (4-8°C), e apresenta transição sol-gel com aquecimento. A uma temperatura mais baixa em solução aquosa, uma camada de hidratação

envolve moléculas de P407 o que é responsável por sua solubilidade a frio, mas com o aumento da temperatura, as cadeias de copolímeros hidrofílicos tornam-se dessolvatadas que favorecem interações hidrofóbicas entre unidades de polioxipropileno e conduzem a formação de gel (DEWAN et al., 2015).

Embora o processo de gelificação do P407 já ter sido extensivamente investigado, o mecanismo real ainda continua sendo um assunto controverso. Acreditasse que a formação de micelas em soluções aquosas de P407 é resultado da desidratação bloco de PPO (Figura 3) que formam o núcleo, essas micelas entram em contato entre si formando uma estrutura altamente ordenada que leva formação do gel acima da temperatura crítica de micelização, sendo este processo reversível com a diminuição da temperatura (RUEL-GARIÉPY et al., 2004; JUNG et al., 2017).

Figura 3 - Ilustração da formação de micelas do Poloxamer 407



Fonte: Adaptado de JUNG et al, 2017

Devido às suas propriedades únicas de gelificação termossensível, o P407 tornou-se um dos materiais mais extensivamente investigados. Formulações farmacêuticas à base de P407 apresentam um excelente potencial como sistema controlado de administração de fármaco devido à sua propriedade de gelificação termo-responsiva, alta capacidade de solubilização e baixa toxicidade (KLOUDA, 2015; DEWAN et al., 2015)

No entanto, apesar destas vantagens, os géis de P407, geralmente não apresentam boas propriedades mucoadesivas. Sendo necessário a investigação da associação do P407 com polímeros mucoadesivos a fim de prolongar o tempo de permanência da formulação no local de aplicação.

### 3.7 POLÍMEROS COM PROPRIEDADES MUCOADESIVAS

O uso de polímeros mucoadesivos como sistemas de liberação de fármacos vem sendo considerada uma estratégia bastante interessante para melhorar a administração de fármacos via bucal ( PERIOLI et al., 2004; VARSHOSAZ; TABBAKHIAN; SALMANI, 2008). Estes sistemas apresentam a capacidade de aderir-se à superfície das células de epitélios ou da camada de muco que os recobre.

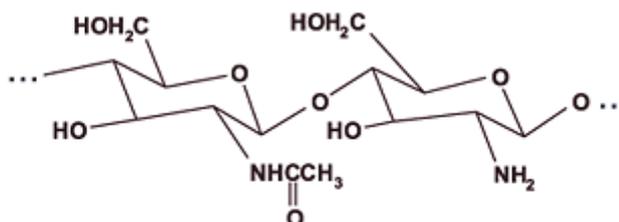
Os polímeros podem ser classificados em sintéticos e naturais, ou ainda em aniônicos, catiônicos e não iônicos (MAHAJAN et al., 2013). Segundo Prajapati e colaboradores (2014), os polímeros naturais são preferíveis quando comparados com os sintéticos, pois são inertes, seguros, não tóxicos, biocompatíveis, biodegradáveis, de baixo custo e disponíveis em abundância na natureza. E várias são as fontes de obtenção dos polissacarídeos, tais como algas, plantas, bactérias, fungos, insetos, crustáceos, animais, seres humanos e através de engenharia genética (PRAJAPATI et al., 2014)

Dentre os inúmeros polímeros mucoadesivos disponíveis, aqueles frequentemente utilizados são os derivados celulósicos (metilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose, carboximetilcelulose sódica), e polissacarídeos como gomas, ágar, alginato de sódio, quitosana, goma do cajueiro, goma karaya, etc. (AGUIAR, 2007; DE LYRA et al., 2007). Recentemente, foi também introduzida à goma do cajueiro como polímero aplicado na indústria farmacêutica e alimentícia (OKOYE; ONYEKWELI; KUNLE, 2012). A literatura aborda a potencial aplicação de sistemas mucoadesivos para liberação de fármaco (GOWTHAMARAJAN et al., 2012; HANI; BHAT; SHIVAKUMAR, 2011; MAZIA et al., 2016)

#### 3.7.1 Quitosana

A CS (Figura 4) é um polissacarídeo catiônico natural obtido a partir da desacetilação alcalina da quitina (constituente prioritário em exoesqueletos de insetos, crustáceos e parede celular de fungos). É um produto natural, de baixo custo, renovável e biodegradável, de grande importância econômica e ambiental. Por se tratar de um polímero natural biodegradável, extremamente abundante, atóxico e com propriedades mucoadesivas a CS tem várias aplicações biomédicas e de entrega de fármacos (SOGIAS; WILLIAMS; KHUTORYANSKIY, 2008; SÁ, 2013).

Figura 4- Estrutura da quitosana



Fonte: Laranjeira; Fávere, 2009.

A literatura aborda variados exemplos do desenvolvimento de formulações farmacêuticas com aplicação da CS, Sogias; Williams; Khutoryanskiy (2012) desenvolveram comprimidos de CS para administração oral do ibuprofeno, seus resultados mostraram que além das propriedades mucoadesivas a CS tem potencial de entrega sustentada de fármacos.

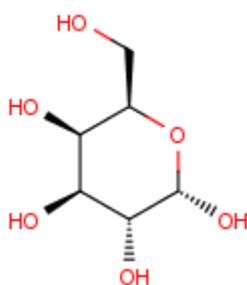
Outro estudo destaca a obtenção de um sistema de liberação mucoadesivo contendo nitrato de miconazol. Os comprimidos foram preparados utilizando-se CS e carbopol. Os autores verificaram que as formulações apresentaram propriedade mucoadesiva satisfatória e que tal propriedade pode ser modificada conforme a concentração dos polímeros na formulação (PENDEKAL; TEGGINAMAT, 2012)

### 3.7.2 Goma do Cajueiro

Goma do cajueiro é um biopolímero extraído a partir de *Anacardium occidentale* L. por exsudação natural ou através de incisões no tronco e ramos da árvore do cajueiro, uma árvore comumente cultivada no Nordeste do Brasil, Índia, Moçambique, Tanzânia, entre outros países (DE OLIVEIRA; PAULA; PAULA, 2014; MOTHÉ; DE FREITAS, 2014).

A goma do cajueiro é um heteropolissacarídeo (arabinogalactana ácida) constituído de galactose (61-72%), arabinose (4,6 -14%), glicose (8-14%), ramnose (3.2-7%), manose (1-2%) e ácido glucurônico (4,7- 6%), sendo o monossacarídeo majoritário em sua composição a galactose (Figura 5) (DE OLIVEIRA; PAULA; PAULA, 2014; PAULA; HEATLEY; BUDD, 1998; SARUBBO et al., 2007).

Figura 5 - Estrutura química da galactose, principal polissacarídeo contido na goma do cajueiro



Fonte: Software Marvin

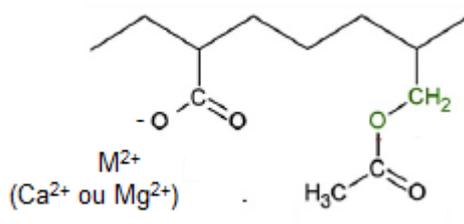
A goma do cajueiro apresenta coloração amarela, é solúvel em água e possui grande potencial de industrialização (OLIVEIRA, 2008). Neste sentido, é utilizada na área cosmética, farmacêutica e alimentícias. Na área farmacêutica ela é utilizada por possuir propriedades aglutinantes em cápsulas e comprimidos, uteis na aplicação em sistemas de liberação de fármacos, além de apresentar boa capacidade adesiva (OLIVEIRA, 2008; MOTHÉ; DE FREITAS, 2014).

### 3.7.3 Goma Karaya

A GK é um polissacarídeo extraído principalmente das espécies *Sterculia urens*. As árvores de gênero *Sterculia* são conhecidas por seus polissacarídeos com alta viscosidade em solução e características de gelificação, como a goma karaya. O Food and Drug Administration of the USA (FDA) enumera 18 espécies de *Sterculia* sp, embora a GK seja geralmente extraída do um exsudado seco das hastes e ramos das espécies *Sterculia urens* Roxburgh, *Sterculia villosa* (Índia) e *Sterculia setigera* (Sudão e Seneg ) (VERBEKEN, 2003; BRITO et al., 2004).

A GK (Figura 6) é um polissacárido complexo, parcialmente acetilado, hidrofílico, aniônico, obtido como um sal de cálcio e magnésio. Tem uma estrutura ramificada e uma massa molecular elevada de aproximadamente  $16 \times 10^6$  Da. A estrutura química de GK é composta de 55-60% de resíduos de monossacarídeos neutros (galactose e ramnose), 8% de grupos acetil e 37-40% de resíduos de ácido urônico (VERBEKEN, 2003 ; MIRHOSSEINI; AMID, 2012).

Figura 6 - Estrutura química da goma karaya acetilida



Fonte: POSTULKOVA et al., 2017

Devido à presença destes grupos de acetil, a GK nativa é insolúvel em água, a maior proporção da goma apenas incha na água, e somente 10% da goma acetilada é solúvel em água fria, aumentando para 30% quando em água quente (CERF; IRINEI; MULLER, 1990).

A GK é uma goma comercial, que possui propriedades emulsionantes, estabilizadoras e espessantes. Entre os polissacarídeos que ocorrem naturalmente, é um dos aditivos alimentares comerciais mais utilizados. A goma comercial também é utilizada na indústria do papel, bem como em preparações farmacêuticas e dentárias. Dentre as suas aplicações biomédica foi como mucoadesivo em sistemas hidrófilos utilizados na administração controlada de fármacos e como matriz para comprimidos contendo fármacos, como ibuprofeno (CERF; IRINEI; MULLER, 1990; COX et al., 1999; VINOD et al., 2011)

### 3.8 PROPRIEDADE MUCOADESIVA E TEORIAS MUCOADESIVAS

O conceito de bioadesão foi introduzido na literatura farmacêutica no início da década de 1980. E, desde então, tem sido alvo de imensa investigação no âmbito da compreensão dos mecanismos adjacentes e no desenvolvimento de formas farmacêuticas. O termo mucoadesão é utilizado quando a adesão ocorre entre o material e a camada de muco que reveste a mucosa (SMART, 2005; VARUM et al., 2008)

Normalmente, o processo de mucoadesão ocorre em duas fases: uma fase de contato e uma fase de consolidação. Na primeira fase é necessário que ocorra um contato próximo entre o polímero mucoadesivo e a camada de muco. Como consequência, ocorre a transferência de água da camada de muco para o polímero, resultando no intumescimento. Assim, as cadeias

do polímero adquirem maior mobilidade para poderem interpenetrar com as cadeias glicoproteicas do muco. O estabelecimento subsequente de ligações químicas entre o polímero e o muco contribui para a consolidação do fenômeno mucoadesivo (MADSEN et al., 2013; SMART, 2005)

A mucoadesão é um processo complexo que envolve várias teorias para explicar as etapas relacionadas a este fenômeno. De uma forma geral, as teorias de bioadesão abordadas na literatura incluem entrelaçamento físico (teoria de difusão e mecânica), ligações químicas (teoria eletrônica e de adsorção), força de deslocamento (teoria de fratura) e movimento da água do muco para o polímero (teoria de molhagem) (MADSEN et al., 2013).

A teoria da difusão considera que as moléculas mucoadesivas e as glicoproteínas do muco interajam proporcionando entrelaçamento físico e formação de uma camada de interpenetração construindo ligações secundárias (MADSEN et al., 2013; MAHAJAN et al., 2013). Já a teoria mecânica ocorre a partir de um entrelaçamento do material adesivo em irregularidades ásperas de uma superfície. A superfície áspera e porosa do material proporciona uma maior área disponível para interação, favorecendo adesão pelo aumento da área de contato (KHUTORYANSKIY, 2011; MAHAJAN et al., 2013).

O processo de adesão da teoria eletrônica ocorre pela diferença de cargas entre as estruturas. As transferências de elétrons entre o muco e a formulação farmacêutica formam uma dupla camada de cargas elétricas proporcionando a formação de forças atrativas resultando na adesão (ANDREWS; LAVERTY; JONES, 2009; MADSEN et al., 2013; MAHAJAN et al., 2013).

Na teoria de adsorção, a adesão ocorre através do contato do polímero mucoadesivo com mucosa, resultando em interações como forças de van der Waals e ligações de hidrogênio (ANDREWS; LAVERTY; JONES, 2009; DIAS et al., 2007; MAHAJAN et al., 2013). Considerando a teoria da aderência/fratura, esta refere-se à força necessária para a separação das superfícies envolvidas no processo de mucoadesão (DIAS et al., 2007; MAHAJAN et al., 2013). A teoria de aderência é de extrema importância na mucoadesão visto que, segundo Andrews; Laverty; Jones, (2009), a melhor maneira de se avaliar um sistema mucoadesivo é através da determinação da força de aderência entre o polímero e substrato ligado.

Finalmente, a teoria de molhagem é principalmente aplicável a sistemas mucoadesivos líquidos ou de baixa viscosidade, ela envolve a capacidade de um líquido de se espalhar espontaneamente em uma superfície como um pré-requisito para o desenvolvimento de adesão (MAHAJAN et al., 2013; UGWOKÉ et al., 2005).

***METODOLOGIA***

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 MATERIAIS

O fármaco cloridrato de pilocarpina foi cedido pela empresa Vegeflora Extrações do Nordeste Ltda, do grupo Centeflora (lote: VC-1101). Foram utilizados os polímeros quitosana (Lote: 20091115-Polimar), com grau de desacetilação de 75%; goma do cajueiro, que foi isolada a partir do exsudato provenientes de árvores do gênero *Anacardium occidentale* L., nativas de Parnaíba, Piauí, Brasil. A goma do cajueiro foi purificada com NaCl e precipitada em álcool etílico por método descrito por PAULA, HEATLEY e BUDD (1998); goma karaya (Lote: SLB5639V- Sigma-Aldrich) e poloxamer 407 (lote: WPAK584B - Embrafarma)

### 4.2 IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS PRIMAS

#### 4.2.1 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho

Os espectros foram obtidos por Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho Médio por Transformada de Fourier (FT –IR) entre 4500 – 600  $\text{cm}^{-1}$ , modelo Vertex 70 (Bruker, Recife, Pernambuco, Brasil). As amostras foram analisadas na forma de pó, por dispositivo de reflectância total atenuada (ATR). O número de varreduras foi de 16 e a resolução foi de 4 $\text{cm}^{-1}$  (POSTULKOVA et al., 2017).

#### 4.2.2 Análise Térmica

As curvas TG e DSC foram obtidas através de analisador térmico simultâneo modelo STA 6000 (PerkinElmer<sup>®</sup>, Recife, Pernambuco, Brasil), calibrado com índio sob atmosfera de nitrogênio com fluxo 20  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , sob razão de aquecimento de 10  $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  numa faixa de temperatura de 30 $^{\circ}\text{C}$  a 600 $^{\circ}\text{C}$ . O experimento foi executado com aproximadamente 10mg da amostras.

### 4.3 OBTENÇÃO DAS FORMULAÇÕES TERMOSENSÍVEIS

As soluções para as formulações termosensíveis foram obtidas pelo método à frio (DEVI; SANDHYA; HARI, 2013; DEWAN et al., 2015). Foram preparados levando em consideração a proporção peso/volume em porcentagem. Para obtenção das formulações o

P407 a 18% foi combinado com CS, GC e GK em diferentes concentrações como pode ser observado na tabela 1. Os polímeros mucoadesivos foram deixados em agitação por 2 horas em solução, sendo a CS, em solução de ácido acético 1%, GC e GK, em água purificada. Posteriormente, o P407 na concentração de 18% foi adicionado à solução resultante e mantida entre 4°-8° C até que completa solubilização do polímero. As formulações obtidas foram armazenadas sob refrigeração. Só após a determinação das melhores formulações foi adicionado o fármaco cloridrato de pilocarpina para avaliação do perfil de liberação.

Tabela 1 - Concentração de Poloxamer 407, Goma Karaya, Goma do Cajueiro e Quitosana para obtenção das formulações

FORMULAÇÃO	CONCENTRAÇÃO (p/v)			
	POLOXAMER 407	GOMA KARAYA	GOMA DO CAJUEIRO	QUITOSANA
1	18%	-----	-----	-----
2	18%	0,25%	-----	-----
3	18%	0,5%	-----	-----
4	18%	1%	-----	-----
5	18%	-----	0,25%	-----
6	18%	-----	0,5%	-----
7	18%	-----	1%	-----
8	18%	-----	-----	0,25%
9	18%	-----	-----	0,5%
10	18%	-----	-----	1%

#### 4.4 AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES DE TRANSIÇÃO SOL-GEL

##### 4.4.1 Determinação da temperatura de transição sol-gel pelo método do tubo invertido

A temperatura de T<sub>sol-gel</sub> foi realizada através do método de inclinação tubo de ensaio, no qual houve a inserção de 2 mL da solução, mantida num banho de água. A temperatura do banho de água foi aumentada lentamente, a cada 0,2 °C. Temperatura de gelificação foi determinada no momento em que a solução no tubo de vidro parou de fluir quando submetida a inversão (DEWAN et al., 2015; ZENG et al., 2014).

#### 4.4.2 Determinação do tempo de transição sol-gel pelo método do tubo invertido

O tempo de gelificação também foi determinado pelo método de inclinação de tubo de ensaio, no qual houve a inserção de 2 mL da solução, mantida num banho de água aquecida à temperatura de 37 °C. A cada 5 segundos o tubo de ensaio foi retirado e inclinado para observar o estado da amostra. O tempo necessário para gelificação foi determinado pela ausência de fluidez da solução presente no tubo, caracterizando assim a formação do gel (GIOVAGNOLI; TSAI; DELUCA, 2010; HANI; BHAT; SHIVAKUMAR, 2011).

### 4.5 AVALIAÇÃO DA PROPRIEDADES DE TRANSIÇÃO SOL-GEL DAS FORMULAÇÕES

#### 4.5.1 Determinação da viscosidade em função da temperatura

A análise reológica foi realizada utilizando um reômetro Anton Paar MCR 500, equipado com cilindros concêntricos. Através de condições rotacionais, a uma taxa de cisalhamento constante de 6 s<sup>-1</sup>, variando a temperatura de 25 a 45 °C, com objetivo de verificar o aumento da viscosidade em função da temperatura e assim determinar o momento de transição sol-gel através da mudança drástica na viscosidade (MAZIA et al., 2016).

#### 4.5.2 Determinação do módulo elástico das formulações

A análise reológica foi realizada utilizando um reômetro Anton Paar MCR 500, equipado com cilindros concêntricos. Através de condições oscilatórias, a uma frequência constante de 0,1 Hz, variando a temperatura de 25 a 45 °C, com objetivo de obter informações sobre o módulo elástico das formulações (MAYOL et al., 2008; XU et al., 2014).

### 4.6 AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO REOLÓGICO DAS FORMULAÇÕES

Para obtenção das medidas de viscosidade dinâmica e curvas de fluxo (ascendentes e descendentes) para avaliação da tixotropia foi empregado um viscosímetro RI:2:M-H e spindle n° 7. O teste foi realizado utilizando 15 g de cada formulação, a temperatura de 37 °C, com rotação de 10 a 100 rpm e taxa de cisalhamento entre 2 e 20 s<sup>-1</sup>. As análises foram

realizadas em triplicatas. Por limitação do equipamento estas análises foram realizadas apenas para as formulações que apresentaram característica de gel a 37 °C (DEWAN et al., 2015; DEWAN et al., 2017).

#### 4.7 DETERMINAÇÃO FORÇA MUCOADESIVA DOS GÉIS

A força mucoadesiva das formulações poliméricas que apresentaram T<sub>sol</sub>-gel foi avaliada *in vitro*, utilizando um texturômetro TA-TX Plus, através da medida da força necessária para remover a formulação após o contato com um disco de mucina utilizando metodologia adaptada de Tais (2010) e Baloglu et al. (2011).

Inicialmente, o disco de mucina foi preparado pela compressão de mucina suína (250 mg), utilizando um anel de compressão com um diâmetro de 9 mm.

O disco foi fixado horizontalmente na extremidade inferior da prova cilíndrica (1 cm de diâmetro) com uma fita dupla-face. Em seguida, o disco de mucina foi hidratado pela submersão em uma solução aquosa de mucina 8% (p/p) por 30 s. O excesso de líquido na superfície do disco foi removido com o auxílio de um papel absorvente.

Na temperatura de 37 °C, uma amostra da formulação, previamente acondicionada em frasco de vidro cilíndrico e raso, foi colocada sob a prova analítica, a qual foi abaixada até que o disco de mucina entrasse em contato com a superfície da amostra. A velocidade de abaixamento da prova analítica foi controlada de forma que a força envolvida no contato do disco de mucina com a formulação não ultrapassasse 1N. O disco e a formulação permaneceram em contato por 30 s. A prova foi então levantada com uma velocidade constante de 0,5 mm/s e a força necessária para remover o disco de mucina da formulação foi determinada a partir da curva força pelo tempo. Para todas as formulações, as medidas foram realizadas em triplicata.

#### 4.8 AVALIAÇÃO DO PERFIL DE LIBERAÇÃO

O perfil de liberação do fármaco cloridrato de pilocarpina a partir do géis termossensíveis foi determinado pelo método do saco de diálise. Para realização do teste 5mg de cloridrato de pilocarpina foi adicionada em 2 mL da solução, após completa solubilização do fármaco a solução foi colocada em banho-maria a 37 °C para formação do gel. O gel com fármaco foi colocado no saco de diálise (acetato de celulose) que foi incubado em 50 mL de tampão fosfato pH 6,8 a 37 °C. Alíquotas de 2 mL foram coletadas nos tempos 15, 30, 60,

120, 180, 240 minutos sendo realizada em cada tempo determinado as reposição do meio. O ensaio foi realizado em triplicata (FOLEY et al., 2013). A pilocarpina liberada foi quantificada por espectrofotômetro na região do UV-vis, comprimento de onda de 215 nm.

Para avaliar o perfil cinético de liberação de fármaco foram utilizados modelos matemáticos, ajustando os dados de liberação em zero ordem, primeira ordem, Higuchi e Korsmeyer-Peppers.

Tabela 2 - Equações utilizadas para avaliar a cinética de liberação da pilocarpina nas formulações

Modelo matemático	Equação
Ordem zero	$F=k*t$
Primeira ordem	$F=100*[1-Exp(-k*t)]$
Higuchi	$F=k*t^{0.5}$
Korsmeyer-Peppers	$F=k*t^n$

***RESULTADOS E  
DISCUSSÃO***

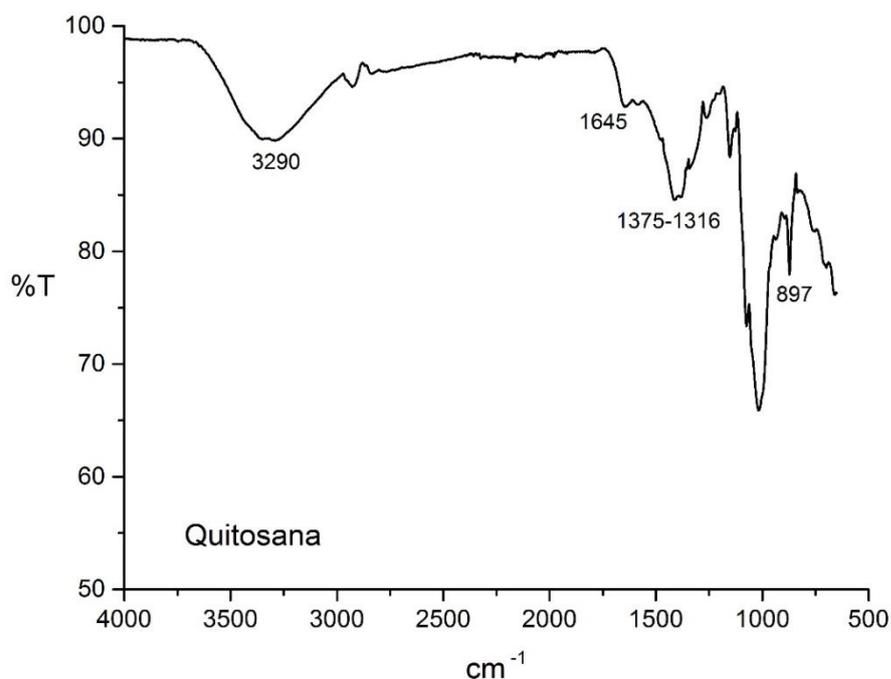
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS MATERIAS PRIMAS

#### 5.1.1 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho

No espectro de infravermelho da CS (Figura 7) é possível observar bandas representativas do estiramento axial de OH em  $3290\text{ cm}^{-1}$ , sobreposta à banda de estiramento N-H; deformação axial de C=O de amida por volta de  $1645\text{ cm}^{-1}$  proveniente do grupo amida residual da quitina; bandas atribuídas a presença de hidrocarbonetos -CH em  $1375\text{ cm}^{-1}$ ; deformação axial de -CN de grupos amino entre  $1316\text{ a }1375\text{ cm}^{-1}$  e bandas de estruturas polissacarídicas na região entre  $897\text{ a }1153\text{ cm}^{-1}$ . As bandas na região de  $1300\text{ cm}^{-1}$  a  $1000\text{ cm}^{-1}$  estão associadas ao álcool e éter e na região de  $559\text{ cm}^{-1}$  está associada às vibrações de deformação C-H. O resultados deste trabalho corroboram com as informações descritas na literatura por Rakkapao et al. (2011).

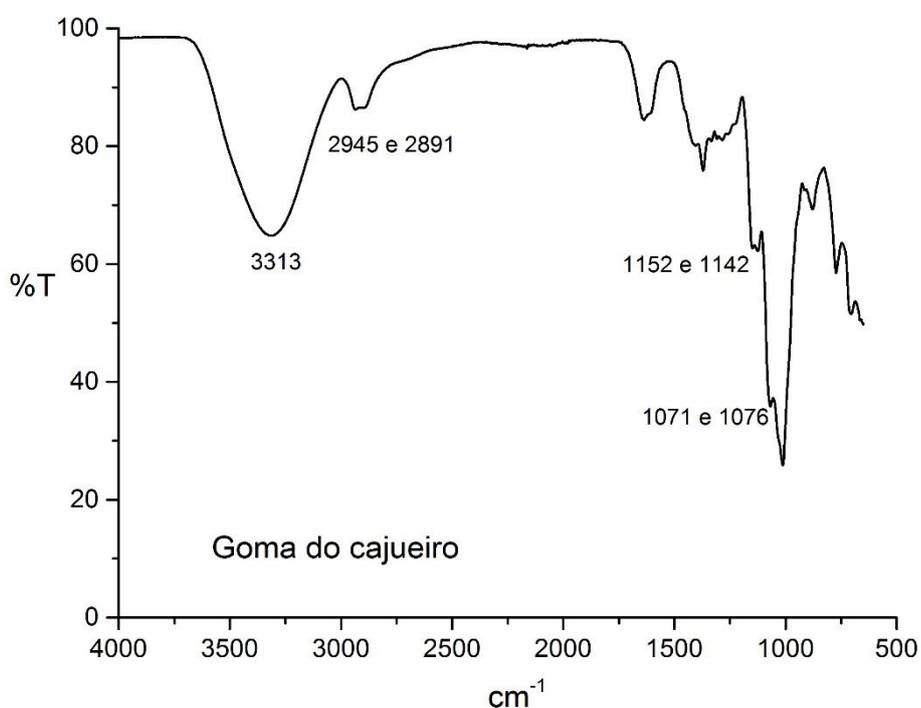
Figura 7 - Espectroscopia de absorção na região do infravermelho da quitosana



Fonte: autoria própria

O espectro de infravermelho da GC (Figura 8) apresenta bandas referente aos estiramentos O-H dos polissacarídeos no número de onda de 3500 a 3100  $\text{cm}^{-1}$ . Os sinais expressos em 2945 e 2891  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídos ao estiramento C-H. As bandas que aparecem em 1071 e 1070  $\text{cm}^{-1}$  estão relacionadas com o grupamento C-O e aquelas situadas em 1152 e 1142  $\text{cm}^{-1}$  são referentes as ligações glicosídicas entre os polissacarídeos. Resultados semelhantes foram apresentados por Mothé e Freitas (2014).

Figura 8 - Espectroscopia de absorção na região do infravermelho da goma do cajueiro

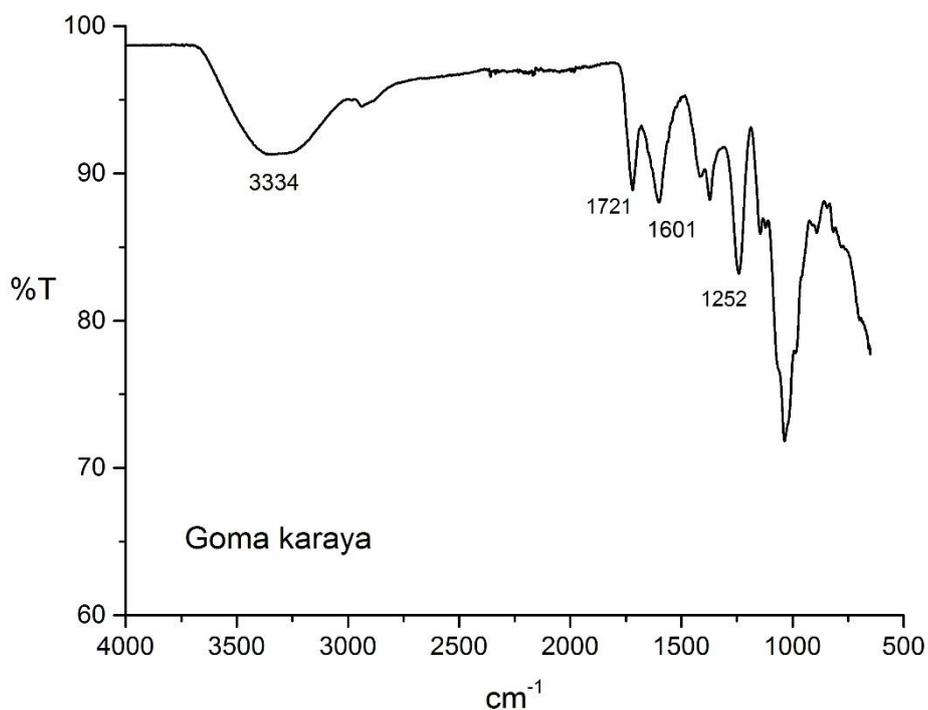


Fonte: autoria própria

No espectro de infravermelho da GK (Figura 9) é possível observar uma banda larga em 3334  $\text{cm}^{-1}$  referentes a frequência de estiramento do grupo O-H presente na sua estrutura química. Em 1372  $\text{cm}^{-1}$  e 1036  $\text{cm}^{-1}$  as bandas são atribuídas ao estiramento das ligações C-O. Na região de 1601  $\text{cm}^{-1}$  encontra-se a banda atribuídas aos grupos carbonilas (C=O) característicos da presença de ácidos urônico. Presença de pico em 1721  $\text{cm}^{-1}$  e 1252  $\text{cm}^{-1}$  são características dos grupos acetil ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), confirmado que a goma utilizada no estudo encontra-

se acetilada. Esses resultados corroboram com os estudo realizados por Brito et al. (2004) e Postulkova et al. (2017).

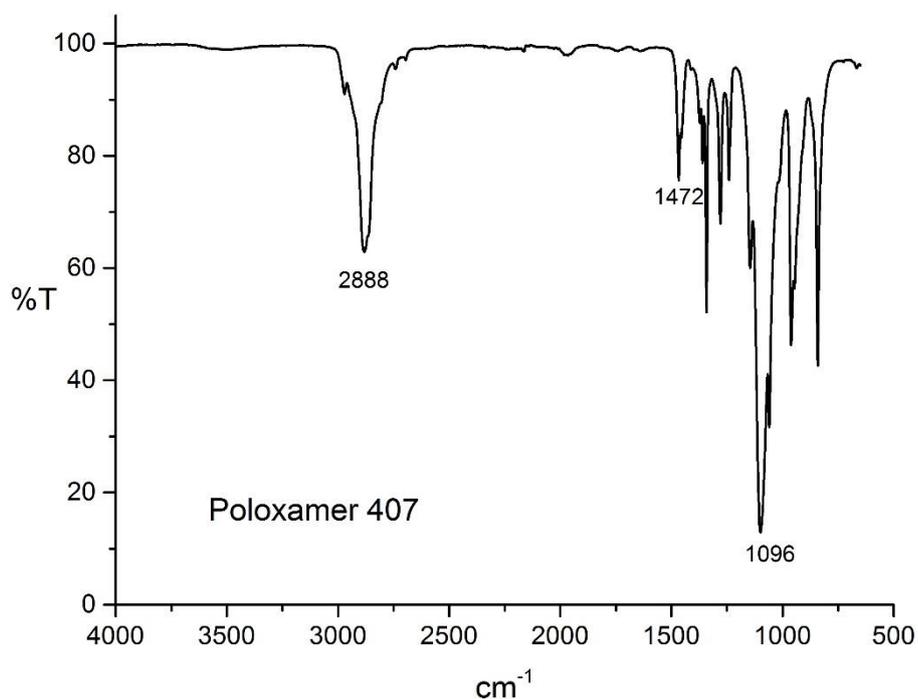
Figura 9 - Espectroscopia de absorção na região do infravermelho da goma karaya



Fonte: autoria própria

Na espectro de absorção na região do infravermelho do P407 (Figura 10) é possível identificar uma banda de absorção bem definida em 2888  $\text{cm}^{-1}$  do grupo C-H alifático. A bandas presentes em 1472  $\text{cm}^{-1}$  e 1096  $\text{cm}^{-1}$  confirmar a presença de grupos C-O característicos de éter, como pode ser confirmado o na Figura 2 referente a estrutura do P407. Resultados confirmados na literatura por Jindal e Mehta (2015).

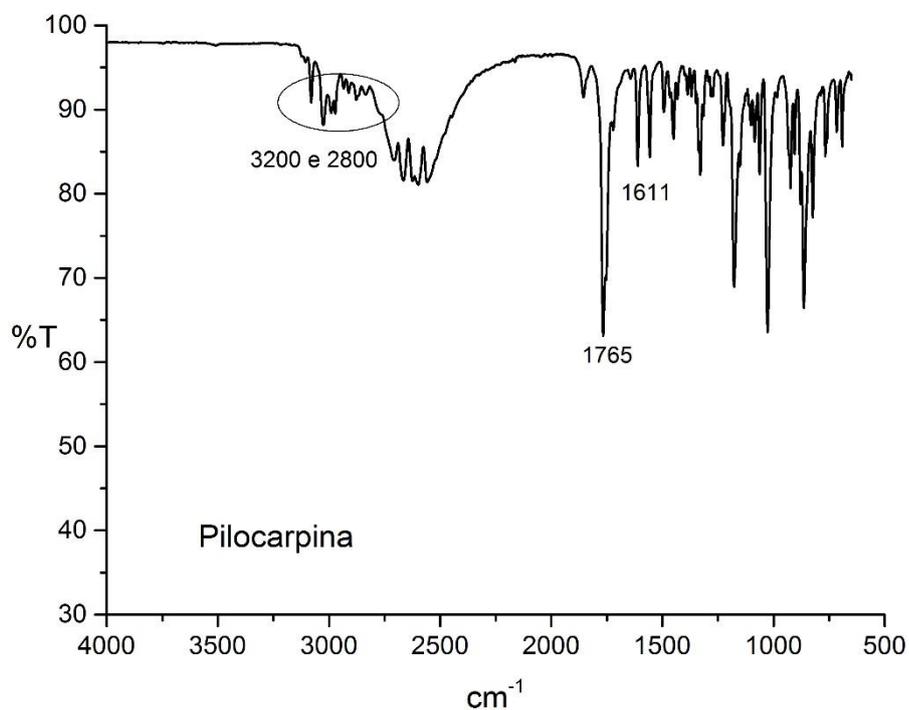
Figura 10 - Espectroscopia de absorção na região do infravermelho do Poloxamer 407



Fonte: autoria própria

Na espectroscopia de absorção na região do infravermelho do cloridrato de pilocarpina (Figura 11) é possível identificar as bandas de absorção em 2800 e 3200  $\text{cm}^{-1}$  para as frequências de estiramento referente ao grupo  $\text{NH}_2$  de amina ligada a carbono aromático, representante do anel imidazólico substituído. O sinal em 1765  $\text{cm}^{-1}$  refere-se ao estiramento típico de carbonila presente no anel lactônico. Em 1611  $\text{cm}^{-1}$ , observou-se a banda referente ao estiramento da ligação carbono-carbono ( $\text{C}=\text{C}$ ) do tipo aromático, ambas indicando a presença do segundo anel constituinte da molécula da pilocarpina. As absorções citadas corroboram com os resultados disponíveis na literatura (SOCORRO et al., 2017; ZOPPI et al., 2012).

Figura 11 - Espectroscopia de absorção na região do infravermelho do cloridrato de pilocarpina

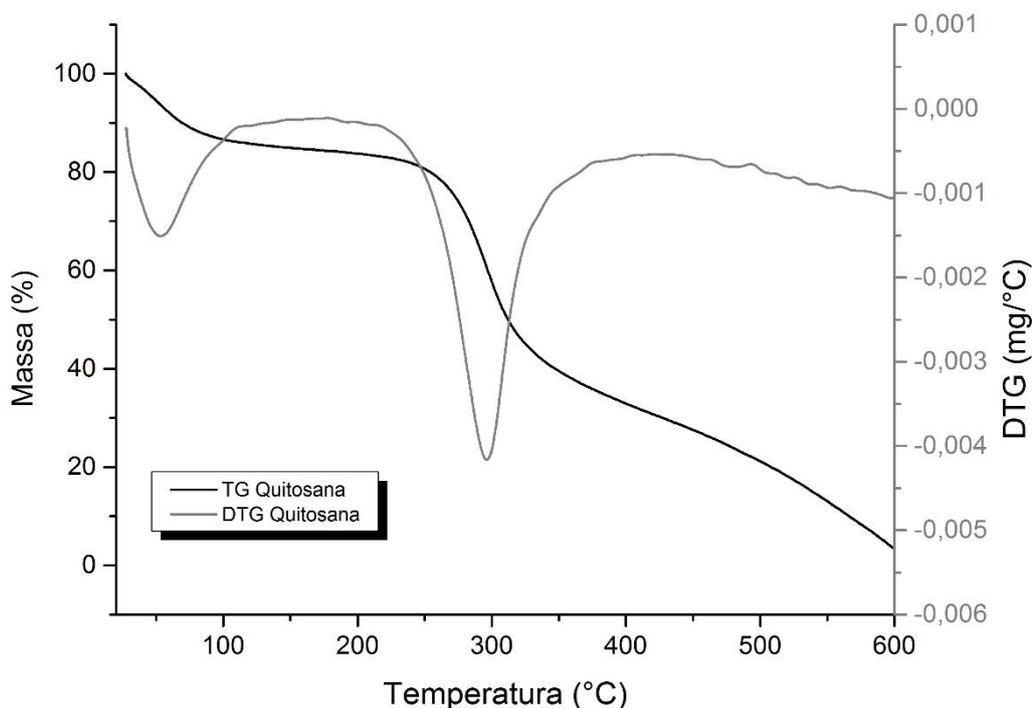


Fonte: autoria própria

### 5.1.2 Análise térmica

A curva TG/DTG da CS (Figura 12) apresenta o primeiro evento de perda de massa em temperatura inferior a 100 °C, referente a perda de água da amostra, com uma perda de massa de  $\cong 13\%$ ; e o segundo evento com pico em aproximadamente 296 °C, com perda de massa de  $\cong 35,76\%$ , referente a decomposição térmica do polissacarídeo. Resultados semelhantes foram relatados por Socorro et al. (2017).

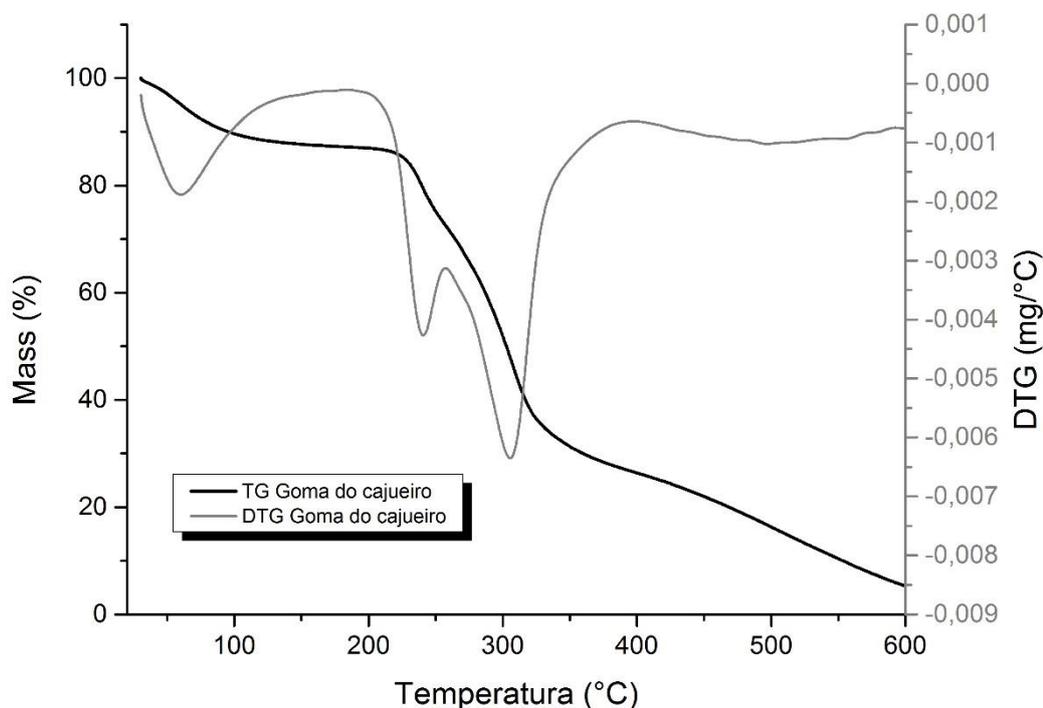
Figura 12 – Curva de TG/DTG da quitosana



Fonte: autoria própria

Nas curvas de TG/DTG da GC (Figura 13) observa-se um primeiro evento de perda de massa abaixo de 100 °C, com uma perda de massa de aproximadamente 10%, podendo ser atribuída a perda de água, já que a GC apresenta caráter hidrofílico. O segundo e o terceiro evento de perda de massa estão relacionados a condensação dos grupos e degradação da GC: o primeiro ocorre em 241 °C (com perda de massa de  $\cong 12\%$ ); e o segundo evento ocorre 305 °C (com perda de massa de  $\cong 29\%$ ). Resultados semelhantes foram apresentados por Mothé e Freitas (2013) e Oliveira E colaboradores em 2014.

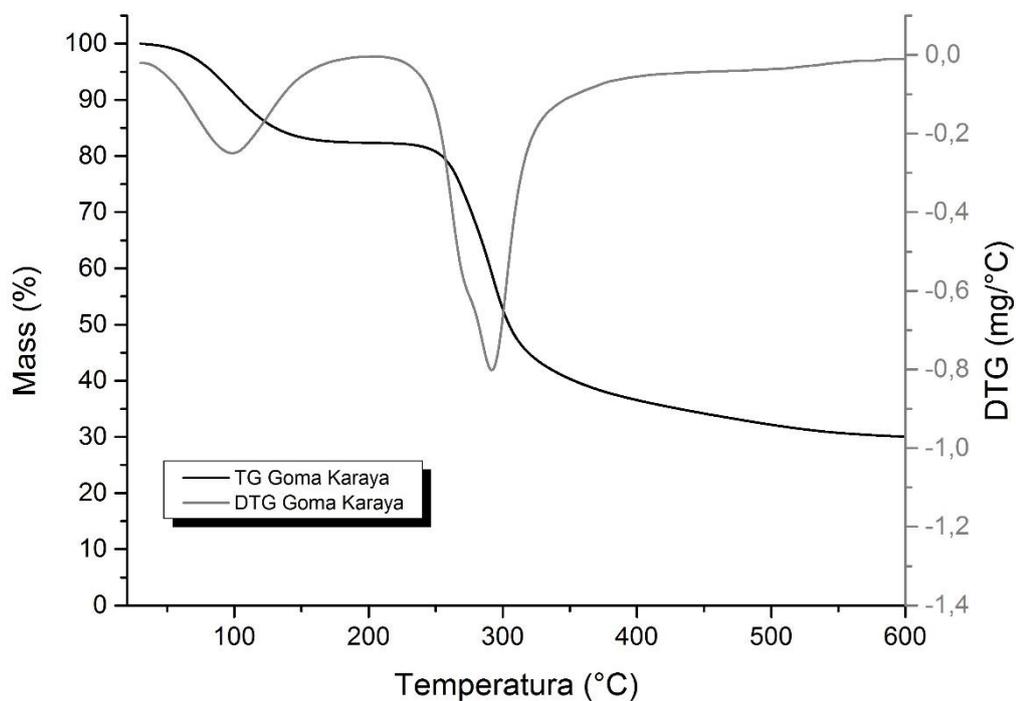
Figura 13 – Curva de TG/DTG da goma do cajueiro



Fonte: autoria própria

A curva de TG/DTG da GK (Figura 14) apresenta seu primeiro evento de perda de massa com pico em 98 °C, com uma perda de massa de aproximadamente 18%, podendo ser atribuída a evaporação da umidade e do seu teor de água. O segundo evento está relacionado com a degradação da cadeia polimérica da GK, com pico de decomposição em 292 °C e libera diferentes tipos de produtos na faixa de temperatura entre 200 e 400 ° C, como o ácido, dióxido de carbono, monóxido de carbono e água. Resultados corroboram com a literatura. (POSTULKOVA et al, 2017; VINOD et al, 2017).

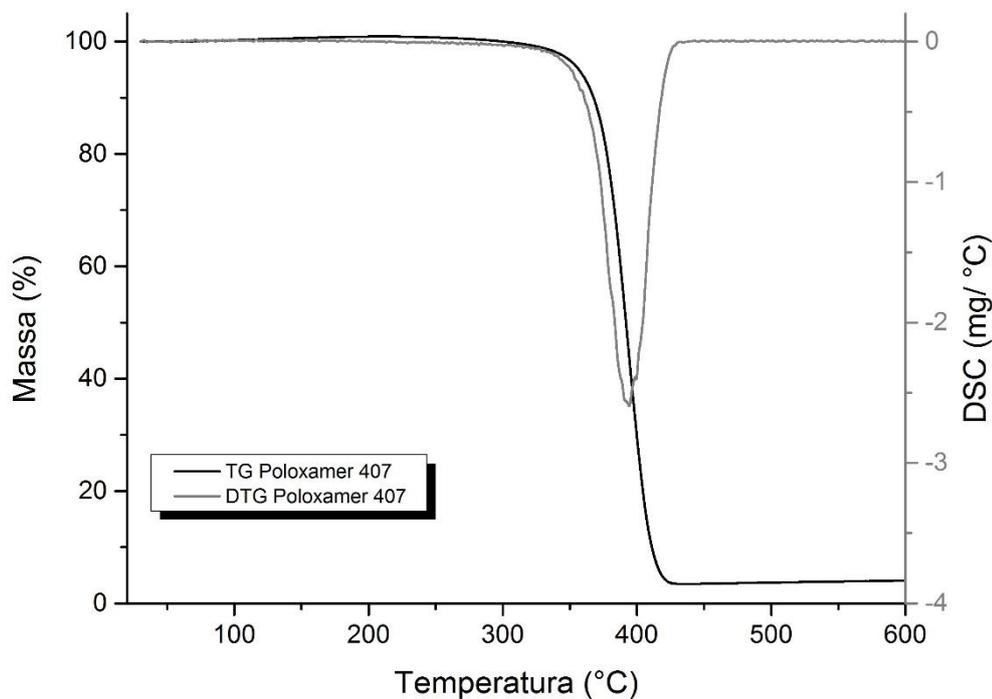
Figura 14 - Curva de TG/DTG da goma karaya



Fonte: autoria própria

A curva de TG/DTG do P407 (Figura 15) apresenta um único evento em aproximadamente 397 °C, com perda de  $\cong 97\%$  de massa, característico da decomposição das cadeias principais das moléculas do polímero. Resultados semelhantes foram demonstrados por Bhowmick et al (2014).

Figura 15 - Curva de TG/DTG do Poloxamer 407

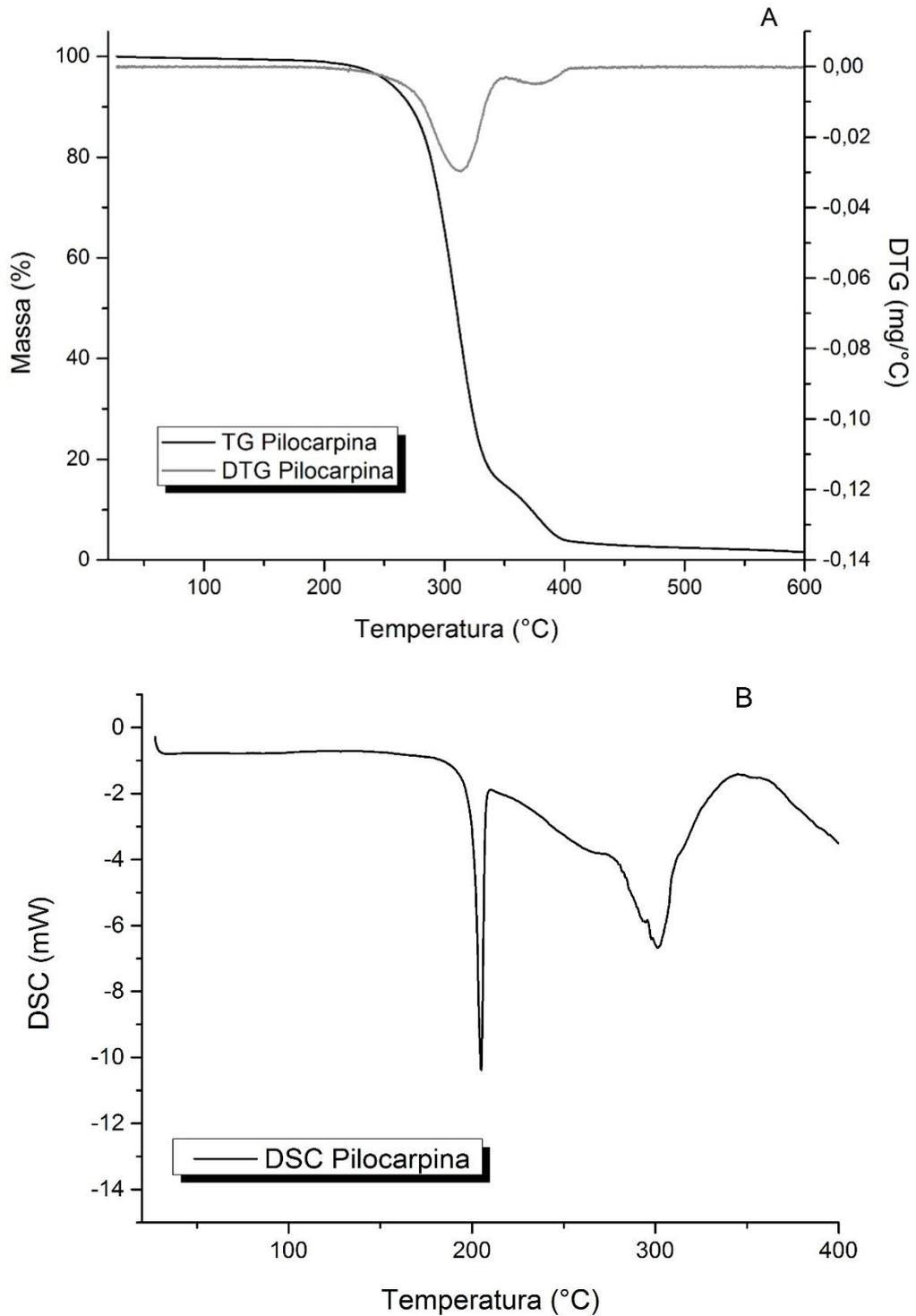


Fonte: autoria própria

A curva TG/DTG da pilocarpina (Figura 16 A), apresenta dois eventos característicos da degradação do fármaco: o primeiro ocorre com pico em 312°C, com perda de massa de  $\cong$  80%; e o segundo ocorre em 378 °C, com perda de massa de  $\cong$  9%.

Para uma melhor caracterização do fármaco foi realizado também a análise de DSC (Calorimetria exploratória diferencial) para identificação do ponto de fusão do fármaco confirmando assim sua pureza.

Figura 16 - Curva de TG/DTG (A) e DSC (B) do cloridrato de pilocarpina



Fonte: autoria própria

Na curva DSC da pilocarpina (Figura 16 B), o primeiro evento endotérmico iniciado em 204,7 °C ( $\Delta E = - 203,78 \text{ Jg}^{-1}$ ), característico do evento de fusão do fármaco, seguido de

sucessivos eventos relacionados a degradação do mesmo (ZOPPI et al., 2012, SOCORRO et al, 2017).

## 5.2 AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES DE TRANSIÇÃO SOL-GEL DAS FORMULAÇÕES

Neste estudo foram preparadas soluções aquosas contendo P407 associado a diferentes gomas naturais com propriedades mucoadesivas. A solução de P407 a 18% foi misturada com várias concentrações da CS, GC e GK. Para a solução de P407 neste estudo foi verificada que a concentração igual ou inferior a 17% (p/v) não apresentou capacidade para formar gel sob condições fisiológicas, especificamente na temperatura de 37 °C. Normalmente, a concentração de P407 entre 18-20% (p/v), é líquido de fluxo livre a 25 °C (temperatura ambiente) e é rapidamente convertida em estado de gel a 37 °C, mas acima desta concentração, ela forma gel rígido a 25 °C (SHELKE et al., 2015). Neste estudo foi utilizado uma solução de 18% em peso de P 407, pois apresentou temperatura, tempo de gelificação e viscosidade ideais para formulações propostas neste estudo.

Foi estabelecido a concentração de 18% para o P 407 e variações de 0,25; 0,5 e 1% para a CS, GC e GK com objetivo de melhorar as propriedades de viscosidade, tempo de gelificação e adicionar a formulação uma melhor capacidade mucoadesiva. Durante o estudo estabelecemos que a concentração máxima do polímero natural seria de 1%, pois foi observado que quando a concentração de solução de GK era superior a 1%, a solução torna-se altamente viscosa a temperatura de armazenamento da formulação, no caso 25 °C.

### 5.2.1 Determinação da temperatura e tempo de transição sol-gel pelo método do tubo invertido

Espera-se que os géis termossensíveis se apresentem transição sol- gel próximo a temperatura corporal e permaneçam em forma de solução quando armazenados à temperatura ambiente. Se a temperatura de gelificação de uma formulação termossensível for inferior a 25 °C, pode formar-se um gel à temperatura ambiente, levando a dificuldades na fabricação, manipulação e administração, enquanto que se a temperatura de gelificação for superior a 40 °C, a formulação não apresentará transição de fase sol-gel à temperatura corporal, o hidrogel permanecerá líquido na cavidade bucal inviabilizando um formulação de uso tópico (SHELKE et al., 2015).

A determinação da temperatura de transição de fase é um passo preliminar na avaliação de uma formulação de gel termossensível. A temperatura de T<sub>sol-gel</sub> é a temperatura à qual ocorre a transição de fase líquida para fase gel. Temperatura de gelificação foi determinada através do método de inversão de tubo, sendo determinada como a temperatura de transição o momento em que a solução no tubo de vidro parou de fluir quando submetida a inversão.

A temperatura de gelificação das formulações é mostrada na Tabela 3. A formulação com P407 a 18% apresentou resultado para a transição de fase a 34,7 °C. Em geral, o gel termossensível deve iniciar o processo de formação de gel na faixa de temperatura de 30-35 °C, de modo a garantir que a formulação estará na viscosidade ideal quando sofre transição sol-gel na temperatura de 37 °C.

O P407 é um polímero é conhecido por exibir propriedades de gelificação *in situ* devido ao seu coeficiente de solubilidade negativo para formar micelas de copolímero em bloco em determinada temperatura. O aumento da temperatura leva a formação de micelas, pela desidratação das cadeias dos blocos hidrofóbicos de polioxipropileno (PPO) formando o núcleo e na superfície as cadeias de polioxietileno (PEO), posteriormente essas micelas se agregam e levam a formação do gel (DEVI; SANDHYA; HARI, 2013; ZENG et al., 2014).

Tabela 3 – Resultado de temperatura e tempo de transição sol-gel das formulações

FORMULAÇÃO	TEMPERATURA (°C)	TEMPO (Segundos)
<b>P407 18%</b>	34,8 ± 0,16	65,7 ± 7,36
<b>P407 18% + GK 0,25%</b>	33,4 ± 0,16	44,7 ± 2,05
<b>P407 18% + GK 0,5%</b>	33,3 3± 0,18	47,3 ± 5,55
<b>P407 18% + GK 1%</b>	33,0 ± 0,16	35 ± 4,08
<b>P407 18% + GC 0,25%</b>	ND	ND
<b>P407 18% + GC 0,5%</b>	ND	ND
<b>P407 18% + GC 1%</b>	ND	ND
<b>P407 18% + CS 0,25%</b>	ND	ND
<b>P407 18% + CS 0,5%</b>	ND	ND
<b>P407 18% + CS 1%</b>	ND	ND

ND= Não determinado, formulação não apresentaram transição sol-gel após 10 minutos de teste.

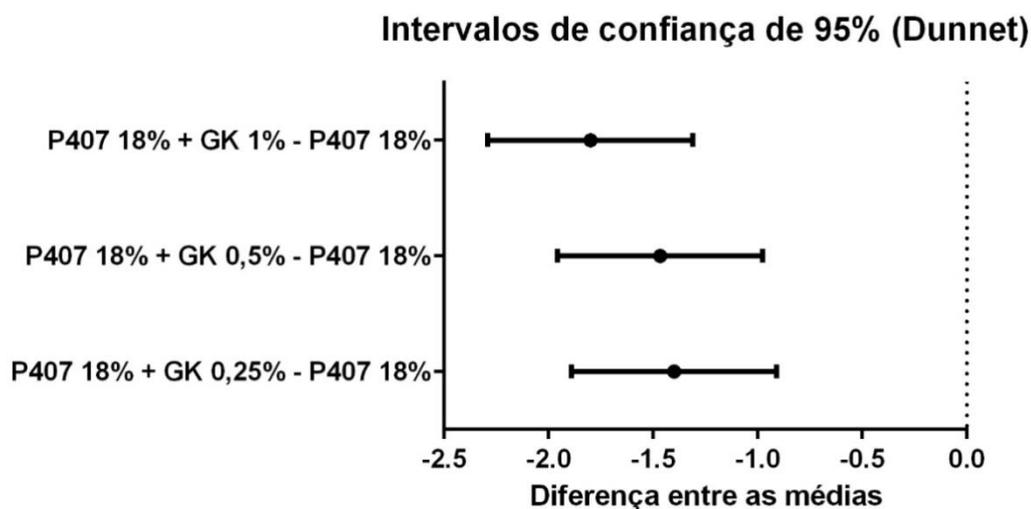
Verificou-se que as formulações com adição de CS e GC, em qualquer uma das proporções estudadas neste trabalho, não apresentaram propriedades de T<sub>sol-gel</sub>, pois na faixa de temperatura de 25 a 45 °C as mesmas não apresentaram gelificação. Já todas as

formulações nas quais foram adicionadas GK, não só exibiram propriedades de T<sub>sol-gel</sub>, como também um redução na temperatura de gelificação. Esse incremento pode ser atribuído ao fato da GK não estar totalmente solubilizada na solução a temperatura de 25°C, porém com o aumento da temperatura a solubilidade da GK é incrementada e a mesma intumescce, proporcionando um aumento da viscosidade do gel e incremento das propriedades termossensíveis (VERBEKEN, 2003).

Na tabela 3 também é possível observar o tempo de gelificação das formulações em estudo, mostram que as formulações contendo GK são convertidas em gel a uma velocidade muito mais rápida do que a formulação de P407 sozinho. Isso significa que a adição de GK reduz o tempo de gelificação de P407, o que indica que a formação e associação micelar ocorre a uma taxa mais rápida, indicado que a GK que implica na velocidade de formação do gel (DEWAN et al., 2017). Como já apresentado anteriormente não foi possível determinar o tempo de gelificação para as formulações contendo CS e GC, pois as mesmas não apresentaram T<sub>sol-gel</sub>. Então levando em consideração a temperatura de 37 °C, apenas as formulações contendo GK foram consideradas para estudos posteriores.

Os resultados obtidos pelo método de tubo invertido foram analisados estatisticamente por ANOVA – pós teste Dunnet ( $p < 0,05$ ) (Figura 17), onde foi realizada a comparação entre a temperatura de gelificação da formulação de P407 18% com as 3 formulações contendo GK, os resultados mostraram que as formulações contendo GK apresentaram temperatura de gelificação significativamente diferente do P407 18% com  $p < 0,0001$ .

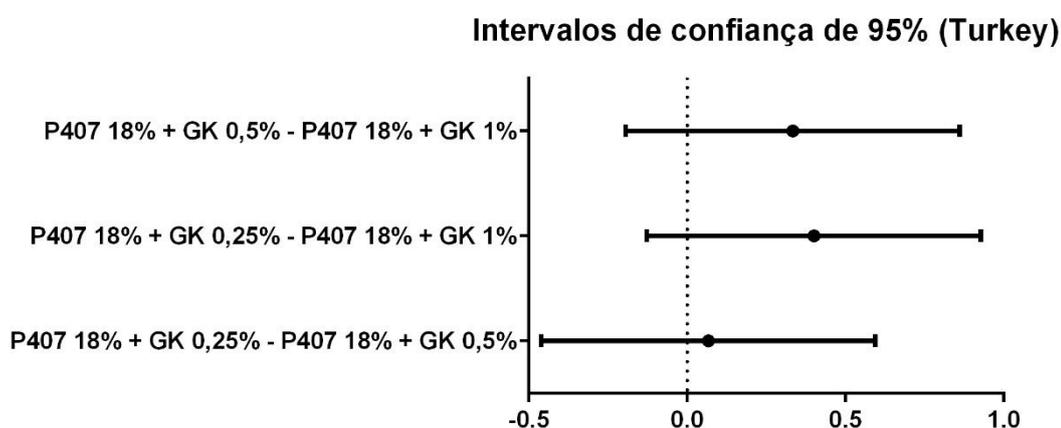
Figura 17 - Resultado da análise estatística para temperatura de gelificação entre Poloxamer 407 18% e as formulação contendo Goma Karaya - Teste do tubo invertido



Fonte: autoria própria

Também foi realizada a análise estatística por ANOVA – pós teste Turkey ( $p < 0,05$ ) entre as formulações contendo GK para verificar se as temperaturas de gelificação eram significativamente diferentes, visto que o teste de inversão de tubo não é um teste com resultados tão precisos. E os resultados estatísticos mostraram (Figura 18) que não existe diferença significativa para as temperatura de gelificação neste teste entre as formulação com  $p < 0,1190$ .

Figura 18 - Resultado da análise estatística para temperatura de gelificação entre as formulação contendo goma karaya - Teste do tubo invertido.



Fonte: autoria própria

### 5.3 AVALIAÇÃO DA PROPRIEDADES DE TRANSIÇÃO SOL-GEL DAS FORMULAÇÕES

#### 5.3.1 Determinação da viscosidade em função da temperatura

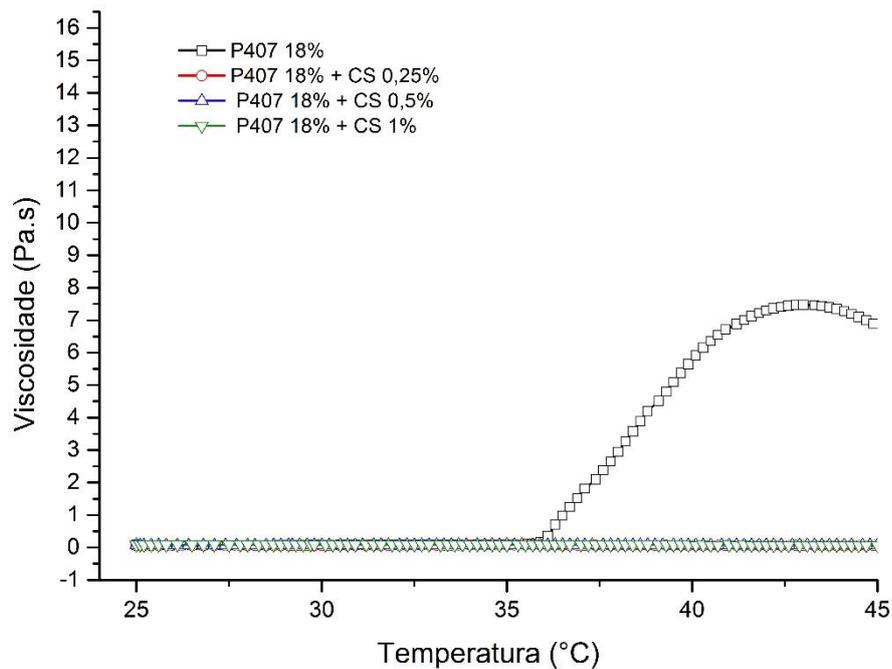
Como os resultados obtidos pelo método de tubo invertido não trazem valores exatos com relação a viscosidade da transição sol-gel e também os resultados da temperatura de gelificação não foram significativamente diferentes entre as formulações contendo GK, foi realizado uma avaliação mais precisa da influência da temperatura transição sol-gel utilizando um reômetro Anton Paar MCR 500.

As curva de viscosidade *versus* temperatura de diferentes formulações (Figuras 19, 20 e 21) mostram a influência do aumento da temperatura na viscosidade das formulações. Observa-se que com o aumento da temperatura, a viscosidade da solução aumenta e a temperatura à qual a viscosidade exibe um incremento significativo é notada como temperatura de gelificação. Nas Figuras 19 e 20 observa-se que a temperatura não exerce influência sobre a viscosidade das formulação de P407 18% associadas a CS e GC,

confirmando os resultados anteriores obtidos através do método de inversão tubo, onde foi verificado a ausência de T<sub>sol-gel</sub> para estas formulações. Também é possível observar na Tabela 4 que não houve um incremento nos valores de viscosidade dessas formulação com o aumento da temperatura de 25 °C para 37 °C.

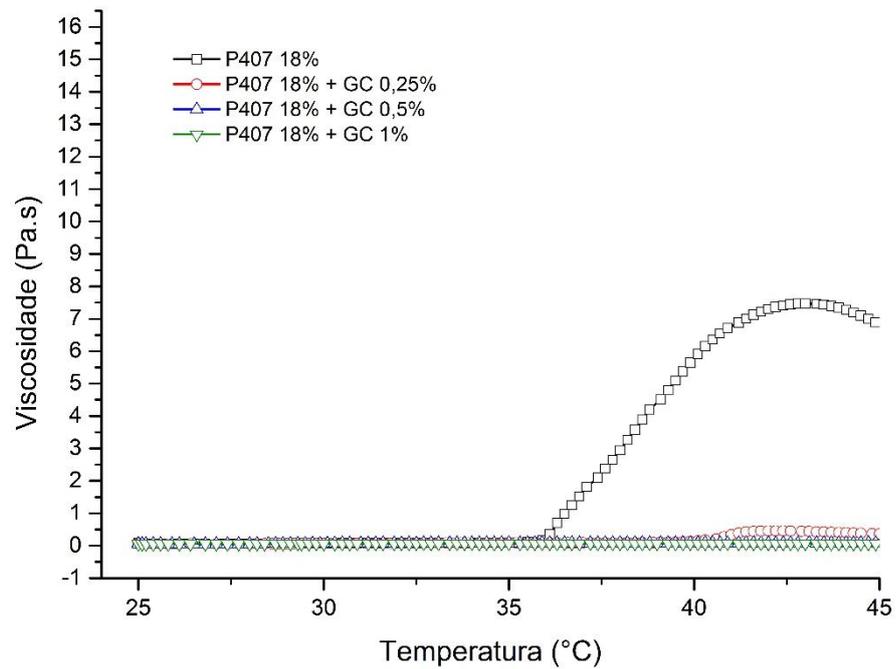
Nas Figuras 19, 20 e 21 a curva de viscosidade *versus* temperatura mostra que o P407 18% apresenta aumento na viscosidade com o aumento da temperatura, característica já atribuída a este polímero pela literatura e como já discutido anteriormente, esse aumento na viscosidade é atribuído a desidratação dos grupo PPO do polímero que leva a formação de micelas e aumento da viscosidade devido a formação de um gel (DEWAN et al., 2015; MATANOVIC; KRISTL; GRABNAR, 2014).

Figura 19 – Viscosidade *versus* temperatura das formulações Poloxamer 407 18% + quitosana (0,25%; 0,5% e 1%)



Fonte: autoria própria

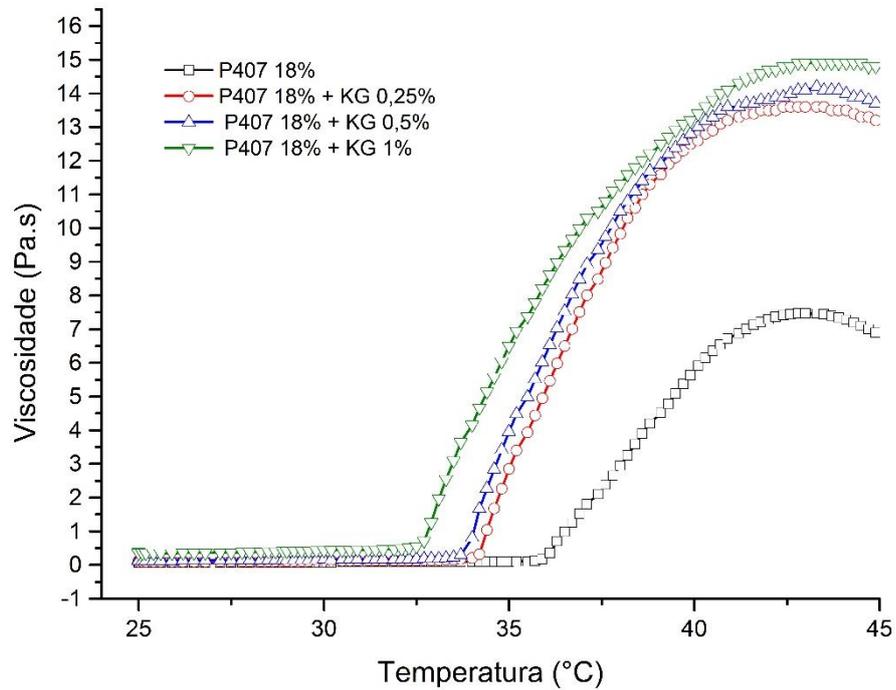
Figura 20 - Viscosidade *versus* temperatura das formulações Poloxamer 407 18% + Goma do Cajueiro (0,25%; 0,5% e 1%)



Fonte: autoria própria

Na Figura 21 é claro um aumento na viscosidade para as formulações de P407 18% + GK 0,25%, P407 18% + GK 0,5% e P407 18% + GK 1%. Essa alteração na viscosidade é proporcional à concentração de GK. Também é observado na Figura 21 que a temperatura de gelificação das formulações que contém GK diminui gradualmente com o aumento da concentração de goma em comparação com a formulação do P407.

Figura 21 - Viscosidade *versus* temperatura das formulações P407 18% + GK (0,25%; 0,5% e 1%)



Fonte: autoria própria

Tais incrementos nas propriedades termossensíveis nas formulações contendo GK pode ser atribuídos ao fato da GK ser um polímero de alto peso molecular, indicando que o mesmo poderia auxiliar na agregação das micelas, através da formação de um emaranhamento polímero-polímero aumenta, favorecendo o empacotamento das micelas o que explica a maior viscosidade do gel. Outro fato importante no aumento da viscosidade é a solubilidade da GK com o aumento da temperatura, proporcionado também um aumento da viscosidade do gel (DEWAN et al., 2015; JUNG et al., 2017). Os valores de viscosidade a 25 °C e 37 °C e temperatura de transição sol-gel estão na tabela 4.

Tabela 4 – Resultados da avaliação da viscosidade em função da temperatura das formulações

Formulação	Viscosidade (Pa)		T sol-gel
	25 °C	37 °C	°C
<b>P407 18%</b>	0,0697	1,81	36,56 ± 0,11
<b>P407 18% + GK 0,25%</b>	0,101	8,01	34,43 ± 0,15
<b>P407 18% + GK 0,5%</b>	0,132	9,36	34,1 ± 0,1
<b>P407 18% + GK 1%</b>	0,375	10,5	32,8 ± 0,1
<b>P407 18% + GC 0,25%</b>	0,0798	0,0914	ND
<b>P407 18% + GC 0,5%</b>	0,0664	0,0877	ND
<b>P407 18% + GC 1%</b>	0,0606	0,0721	ND
<b>P407 18% + CS 0,25%</b>	0,0553	0,0636	ND
<b>P407 18% + CS 0,5%</b>	0,0645	0,0741	ND
<b>P407 18% + CS 1%</b>	0,0856	0,0861	ND

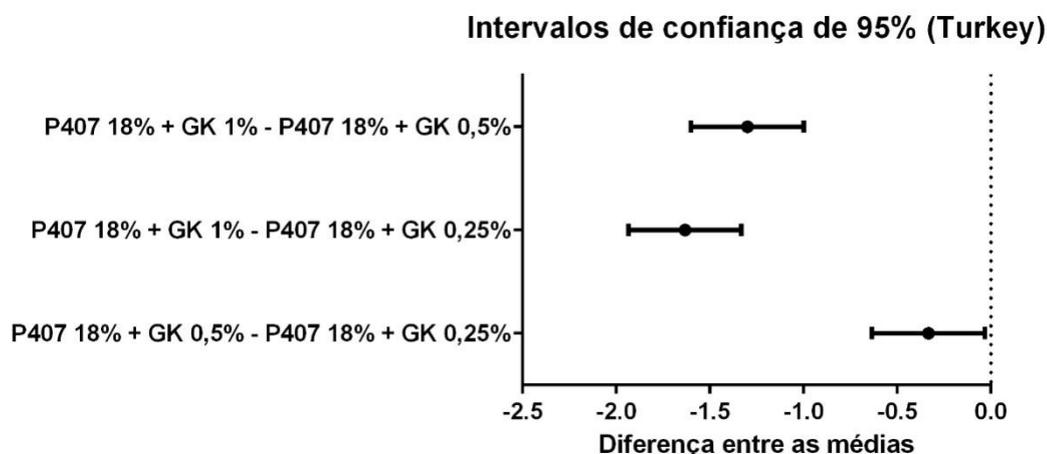
Teste realizado num reômetro em condições rotacionais e taxa de cisalhamento de 6 s<sup>-1</sup>.

ND: Não determinado

Como observados no resultado anterior a temperatura de gelificação pelo método do tubo invertido não apresentou diferenças significativas entre as formulações contendo GK. Através do resultado das curvas viscosidade *versus* temperatura (Figura 21) a temperatura de gelificação foi determinada de forma mais precisa. O valor da temperatura de T<sub>sol-gel</sub> foi considerada como a temperatura onde se inicia um aumento drástico nos valores de viscosidade e o resultados obtidos estão apresentados na Tabela 4. Apesar do resultados adquiridos pelo teste do tubo invertido e pelo reômetro exibirem valores diferente de temperatura de gelificação, vale ressaltar que as condições empregadas nos teste também são distintas. Porém ambos os resultados corroboram que formulações contendo GK apresentaram uma menor temperatura de gelificação quando comparadas com o P407 18% sozinho, confirmando que a GK exercer um efeito positivo sobre as propriedades termossensíveis do P407.

Foi realizada ainda uma análise estatística por ANOVA- pós teste turkey (p<0,05) para verificar se os valores da temperatura de transição verificada neste teste apresentava diferença significativa entre as formulações contendo GK (Figura 22).

Figura 22 - Resultado da análise estatística para temperatura de gelificação entre as formulações contendo goma karaya – Reômetro.



Fonte: autoria própria

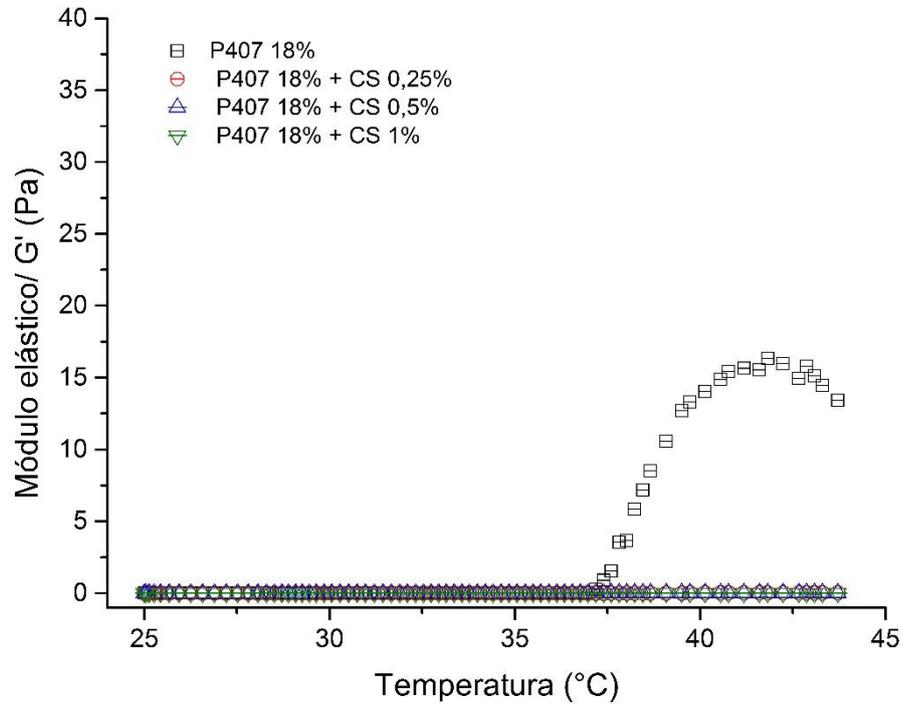
Os resultados estatísticos (Figura 22) demonstram que os valores da temperatura de  $T_{sol-gel}$  são significativamente diferentes para formulações contendo GK. Tal fato indica que tanto o incremento na viscosidade como na temperatura de gelificação são proporcionais a concentração da GK, ou seja, quanto maior a concentração da goma na formulação maior a viscosidade e menor a temperatura de gelificação.

### 5.3.2 Determinação do módulo elástico

Estudos de reologia são utilizados para explorar as alterações estruturais microscópicas ou internos de géis termossensíveis sob aquecimento gradual e taxa de cisalhamento contínua e também podem ser utilizados para determina a temperatura de gelificação desses tipos de géis (XU et al., 2014; SANTOS, 2015).

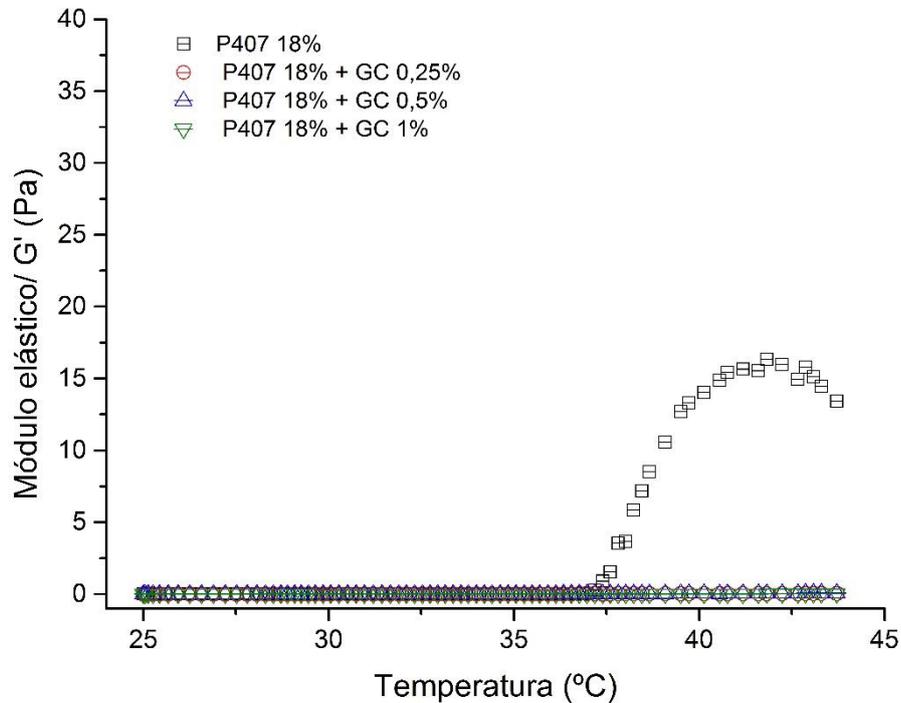
Do ponto de vista da reologia, valores altos de modulo elástico ( $G'$ ) é uma das características do processo de mudança de fase de líquido para semissólido (LIU; LI, 2016). Observa-se nas Figuras 23 e 24 que, para todas as formulações de P407 18% associadas à CS ou GC, os valores de  $G'$  foi muito baixo a temperatura inicial, o que indica que as formulações se encontram no estado líquido e com o aumento da temperatura não houve aumento do  $G'$ , corroborando com os resultados anteriores que estas formulações não apresentam propriedades de transição sol-gel.

Figura 23 – Módulo elástico em função da temperatura a uma frequência de 0,1 Hz, formulações Poloxamer 407 18% + Quitosana (0,25%; 0,5% e 1%).



Fonte: autoria própria

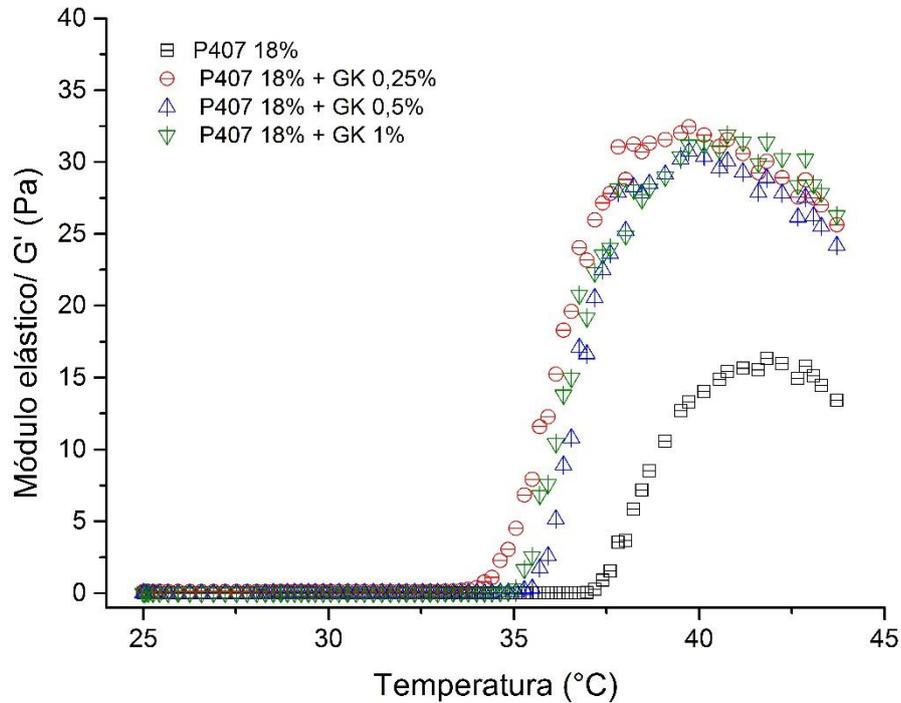
Figura 24 – Módulo elástico em função da temperatura a uma frequência de 0,1 Hz, formulações Poloxamer 407 18% + Goma do Cajueiro (0,25%; 0,5% e 1%).



Fonte: autoria própria

Na Figura 25 é possível observar um aumento do módulo elástico ( $G'$ ) em função da temperatura, o valor de  $G'$  é baixo no estado de solução na temperatura inicial de 25 °C, mas sofre um aumento drástico com o aumento da temperatura, indicativo de formação de gel. Tanto para as formulações com P407 18% isolado como as contendo GK em diferente proporções, o gráfico mostra um aumento do módulo de armazenamento ( $G'$ ), característico de Tsol-gel das formulações termossensíveis, confirmando que as mesmas tornam-se gel com o aumento da temperatura. Como propriedade de liberação sustentada do fármaco depende da força do gel, a medida da propriedade reológica é um método essencial. Todos os géis contendo GK mostraram valores de módulo elástico maiores que o P407 18% sozinho, o que pode indicar que estas formulações, quando a 37 °C, apresentam propriedades de sólido mais evidentes o que pode favorecer uma liberação mais lenta do fármaco e permanência mais tempo na mucosa (QUINN, 2016; XU et al., 2014).

Figura 25 – Módulo elástico em função da temperatura a uma frequência de 0,1 Hz, formulações Poloxamer 407 18% + Goma Karaya (0,25%; 0,5% e 1%).



Fonte: autoria própria

Também é possível observar na Figura 25, uma tendência decrescente na temperatura de gelificação com a presença da GK na formulação, apesar de não ser proporcional ao aumento da concentração da goma, como observado no resultado anterior, essa diminuição é visivelmente maior do o P407 18% isolado. Os valores de módulo elástico ( $G'$ ) são muito semelhantes para todas as formulações associadas a GK independente da concentração. Tais resultados demonstram que a GK influencia positivamente no módulo elástico quando comparada com P407 18% isolado, o que corrobora com os resultados anteriores e fortalece o potencial dessas formulações para utilização como um sistema mucoadesivo de fármacos.

#### 5.4 AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO REOLÓGICO DAS FORMULAÇÕES POR MÉTODO VISCOSIMETRICO

Uma compreensão adequada das propriedades reológicas de uma formulação farmacêutica é essencial para preparação, avaliação e desempenho. Ao classificar um material quanto ao seu tipo de fluxo, este pode ser classificado como um sistema newtoniano ou não-newtoniano. Um fluido newtoniano é caracterizado pela relação linear entre a tensão cisalhamento e a taxa de cisalhamento, assim como a viscosidade constante para diferentes taxas de cisalhamento. Já para os fluidos não-newtonianos não existe relação linear entre a tensão de cisalhamento e taxa de cisalhamento e estes podem ser classificados em três classes: plásticos, pseudoplásticos e dilatantes (TONELI; MURR; PARK, 2005).

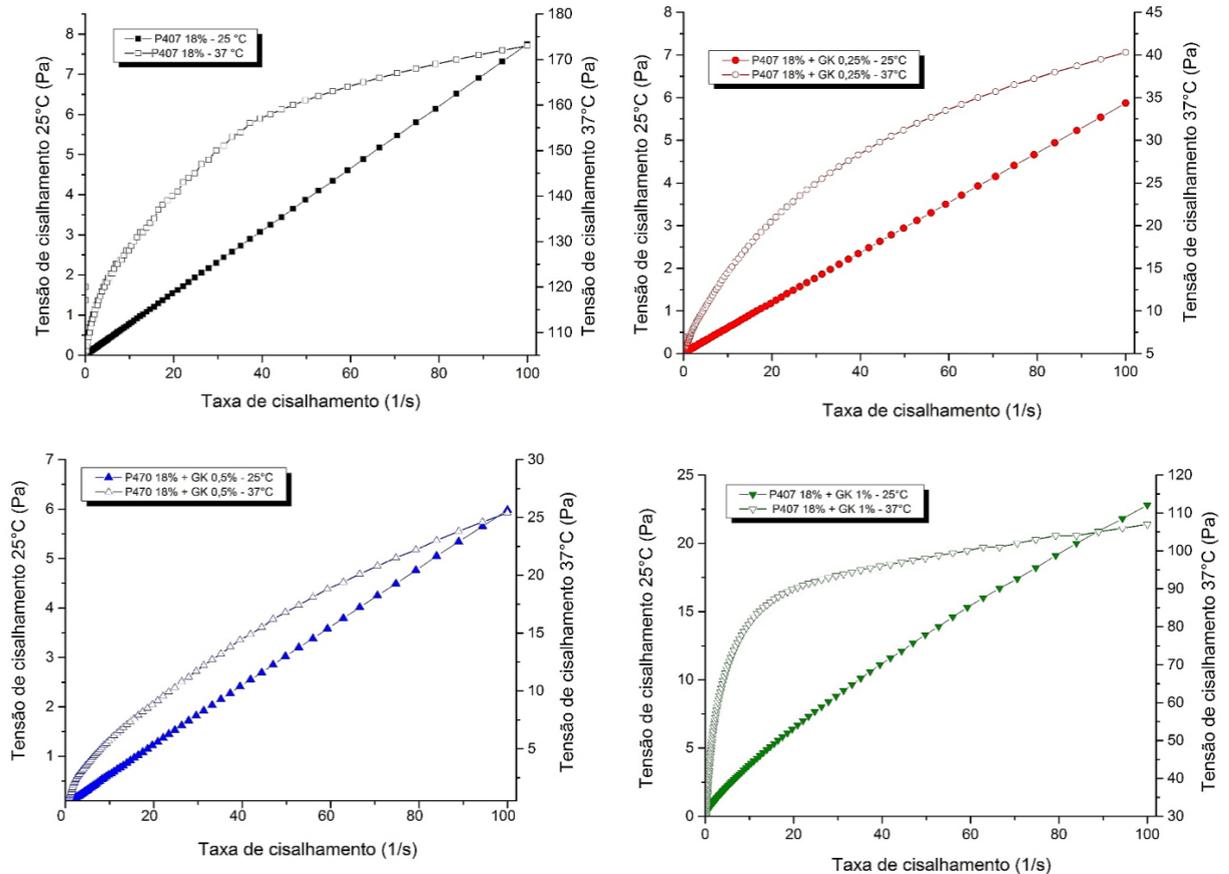
A maioria dos medicamentos, incluindo dispersões líquidas de gomas naturais e polímeros sintéticos, suspensões, emulsões e géis apresentam comportamento de fluido pseudoplástico (TONELI; MURR; PARK, 2005).

Inicialmente as formulações foram avaliadas quanto ao seu comportamento reológico em diferentes temperatura. Para as formulações de P407 18%, P407 18% + GK 0,25%, P407 18% + GK 0,5% e P407 18% + GK 1% foi obtido curvas a 25°C e 37°C, utilizando um reômetro.

Na Figura 26 é possível observar que as formulações P407 18%, P407 18%+ GK 0,25% e P407 18%+ GK 0,5% na curva a 25 °C apresentam uma relação linear entre a tensão e taxa de cisalhamento típico de um fluido newtoniano. É comum as formulações contendo P407 apresentarem esta característica, visto que se encontram na forma líquida nesta temperatura, pois são solúveis a baixo da sua temperatura crítica micelar (LCST) (PEPPAS et al., 2000b; XU et al., 2014). Já a curva da formulação P407 18%+ GK 1% mesmo a 25 °C já apresenta uma leve inclinação da curva, característico de um comportamento pseudoplástico, tal comportamento é atribuído a viscosidade devido a concentração da GK, pois no início do estudo foi observado que 1% era a concentração máxima que permitiria uma formulação uma característica fluída na temperatura estudada.

Ainda na figura 26 todas as formulações apresentaram um comportamento não linear da curva na temperatura de 37 °C, sendo característico de um fluido pseudoplástico, esse comportamento é observado pois nesta temperatura as formulações se encontram na forma de gel.

Figura 26 – Comportamento reológico das formulações a 25 °C e 37 °C – Reômetro



Fonte: autoria própria

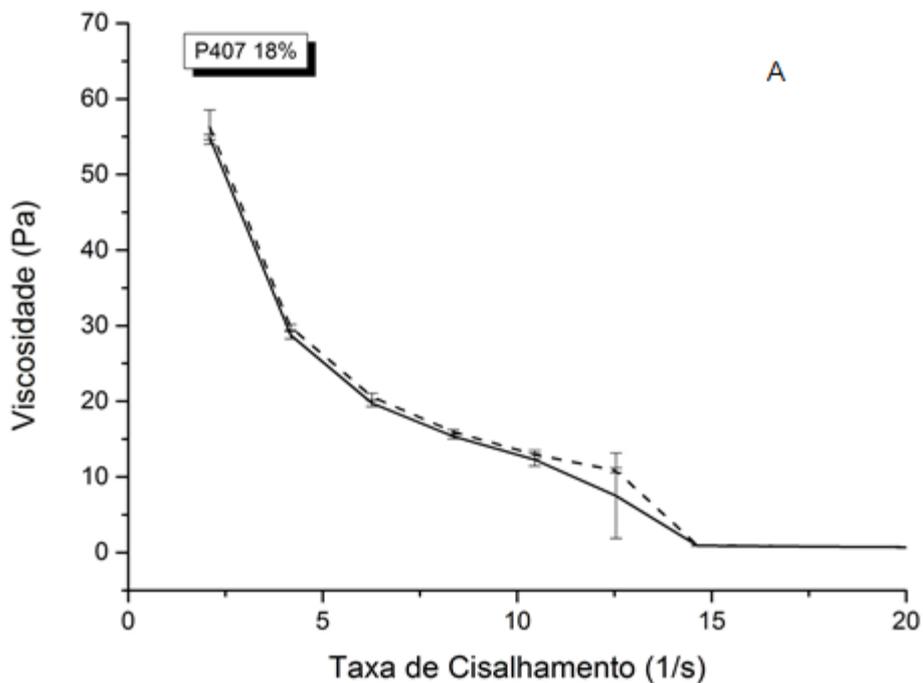
Além da dependência da taxa, fluidos pseudoplásticos podem ser tixotrópicos, dependentes também do tempo de cisalhamento. Para análise deste tipo de comportamento usa-se a técnica de variação da taxa de cisalhamento, a qual é submetida a amostra, de forma crescente (ida) até um valor pré-determinado e sua posterior e imediata diminuição (volta) até o valor inicial enquanto mede-se a tensão de cisalhamento e viscosidade da amostra. A este tipo de curva de fluxo de "ida e volta" dá-se o nome curva de fluxo ou reograma. As curvas de fluxo de fluidos tixotrópicos apresentam distinção entre as curvas de taxa crescente e de taxa decrescente, sendo este fenômeno conhecido como histerese (MATHIAS et al., 2013).

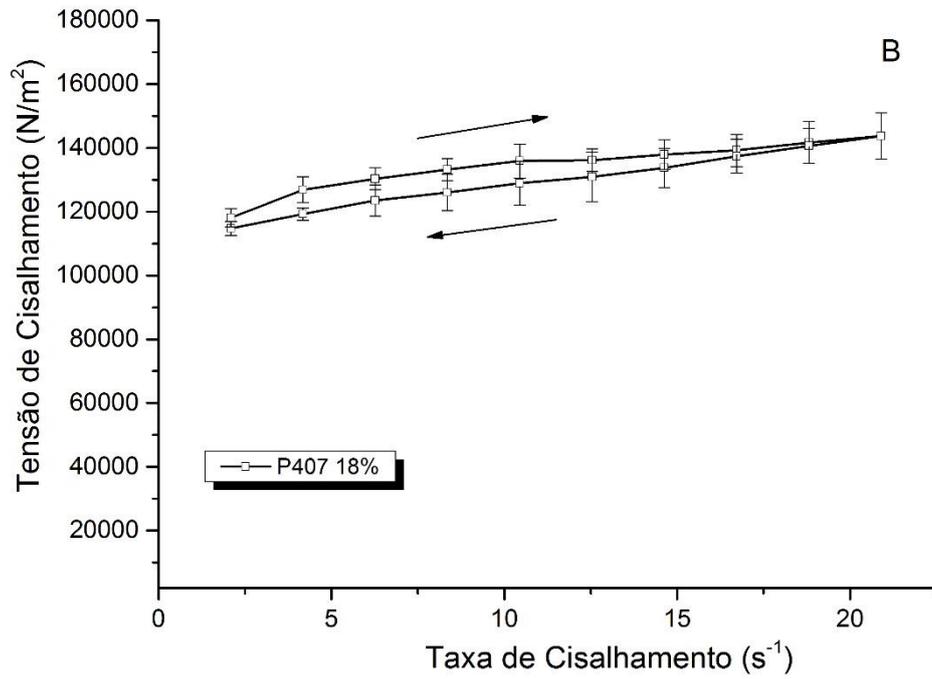
Para obtenção das curvas de fluxo, ensaios crescentes e decrescentes de varrimento da taxa de cisalhamento contínua a 37 °C foram realizados para todas as formulações que apresentaram propriedades de T<sub>sol</sub>-gel, e as viscosidades e os valores de tensão de cisalhamento foram representados graficamente como uma função da velocidade de cisalhamento nas Figuras 27, 28, 29 e 30 (A e B). Os dados apresentados para as quatro formulações demonstram que a viscosidade diminui com o aumento da velocidade de

cisalhamento, e que as curvas ascendente e descendentes não se encontram totalmente, característico de sistemas não-newtoniano pseudoplásticos com tixotropia (RICCI et al., 2002; CHORILLI; ZAGUE; LEONARDI, 2007). Dentre as formulação na Figura 28 A é observado através de curva de fluxo de viscosidade que a formulação P407 18% + GK 0,25% apresentar menor grau de tixotropia.

Os pseudoplásticos representam a maior parte dos fluidos que apresentam comportamento não-newtoniano. Esse comportamento de diminuição da viscosidade pode ser explicado pela modificação da estrutura de cadeias longas de moléculas com o aumento do gradiente de velocidade. Essas cadeias tendem a se alinhar, paralelamente, às linhas de corrente, diminuindo a resistência ao escoamento (XU et al., 2014).

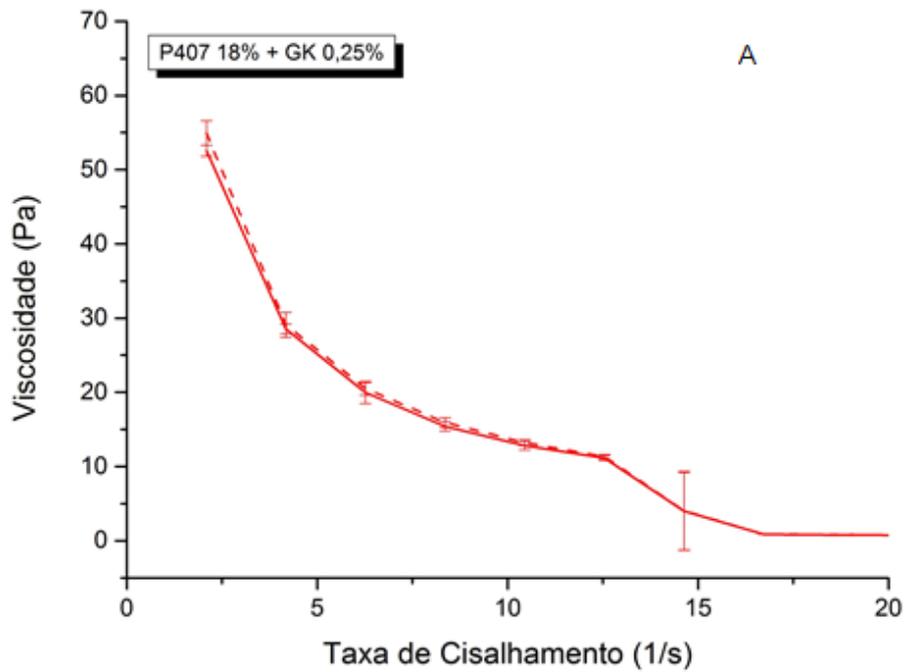
Figura 27 - Curva de fluxo do Poloxamer 407 18% (A) viscosidade *versus* taxa de cisalhamento (B) tensão de cisalhamento *versus* taxa de cisalhamento a 37 °C.

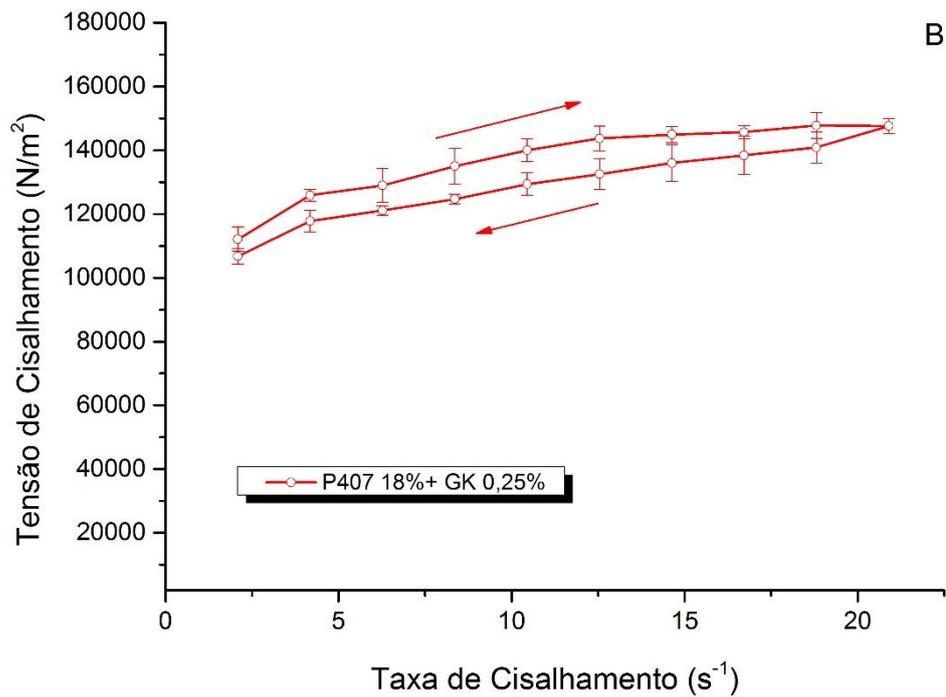




Fonte: autoria própria

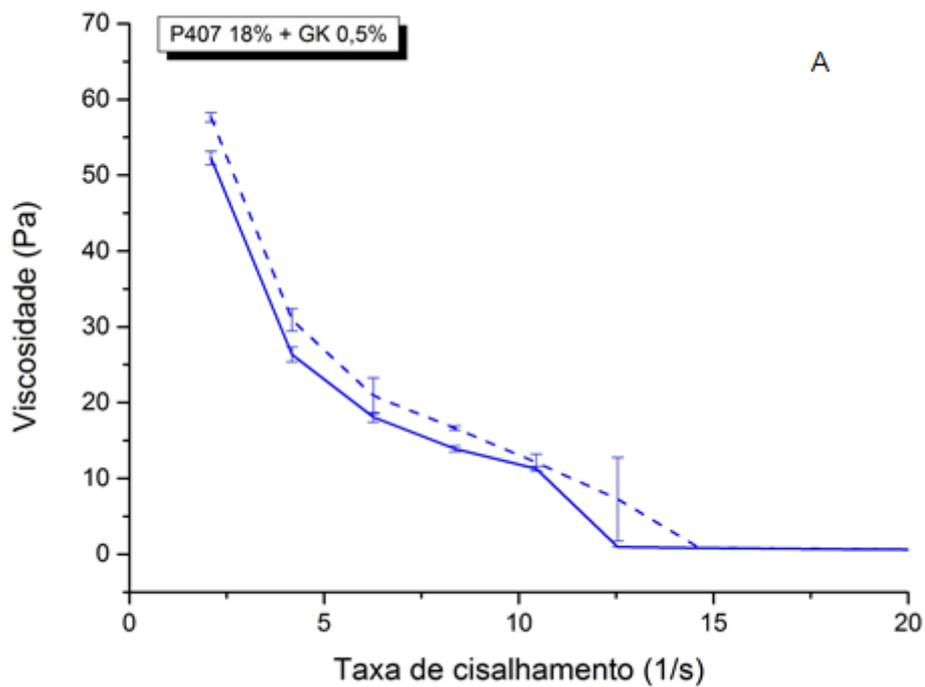
Figura 28 - Curva de fluxo do Poloxamer 407 18% + Goma Karaya 0,25% (A) viscosidade *versus* taxa de cisalhamento (B) tensão de cisalhamento *versus* taxa de cisalhamento a 37 °C.

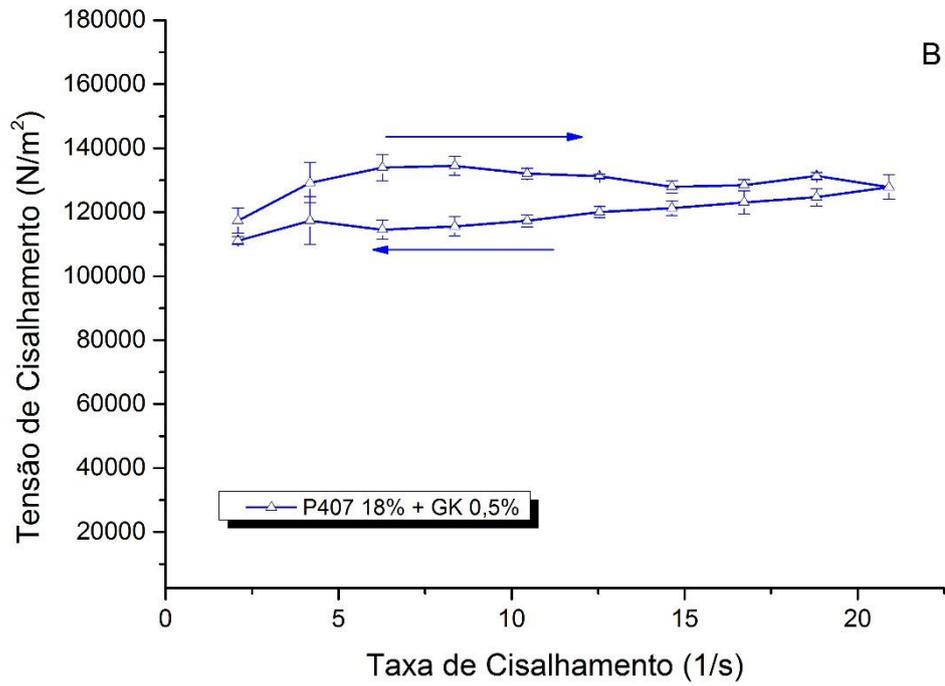




Fonte: autoria própria

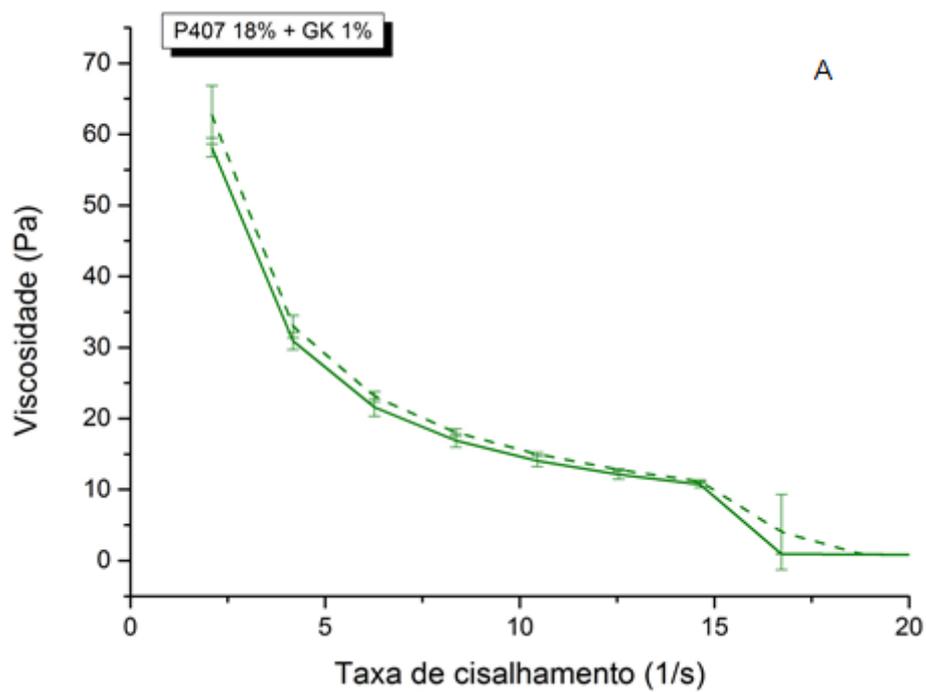
Figura 29 - Curva de fluxo do Poloxamer 407 18% + Goma Karaya 0,5% (A) viscosidade *versus* taxa de cisalhamento (B) tensão de cisalhamento *versus* taxa de cisalhamento a 37 °C.

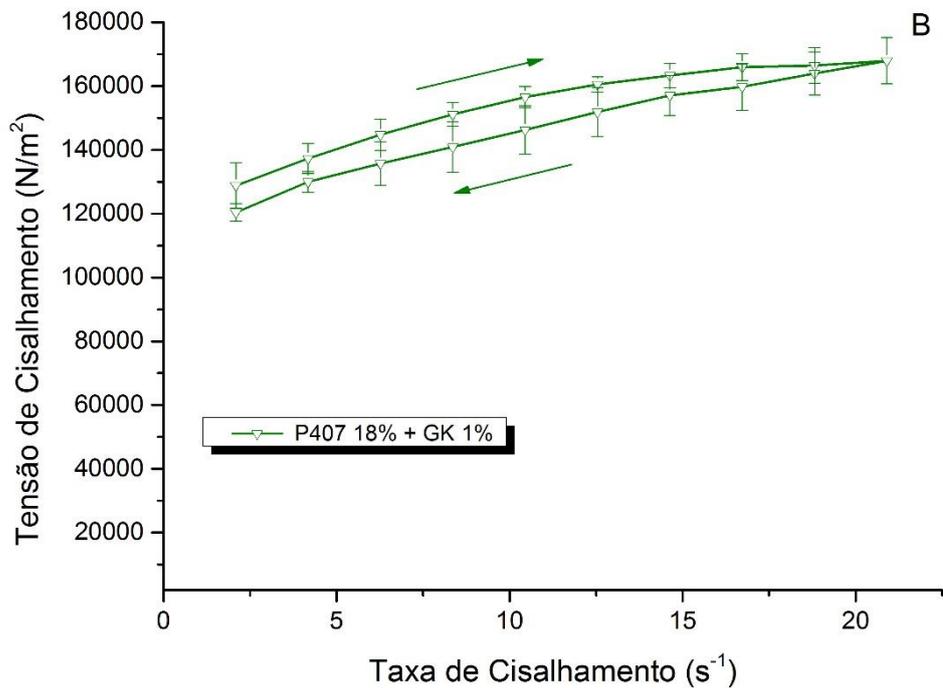




Fonte: autoria própria

Figura 30 - Curva de fluxo do Poloxamer 407 18% + Goma Karaya 1% (A) viscosidade *versus* taxa de cisalhamento (B) tensão de cisalhamento *versus* taxa de cisalhamento a 37 °C.





Fonte: autoria própria

As características tixotropia das formulações podem ser melhor observadas nas Figuras 27, 28, 29 e 30 (B). Todas as amostras apresentaram características tixotrópicas, em função das diferenças de tensão e taxa de cisalhamento nas curvas ascendente e descendente, formando uma área entre as duas curvas. Este fenômeno, conhecido por histerese, é resultado da quebra do gel. Quanto maior a área compreendida entre as curvas, maior o efeito tixotrópico (CARBALLO, 2008; MATHIAS, 2013).

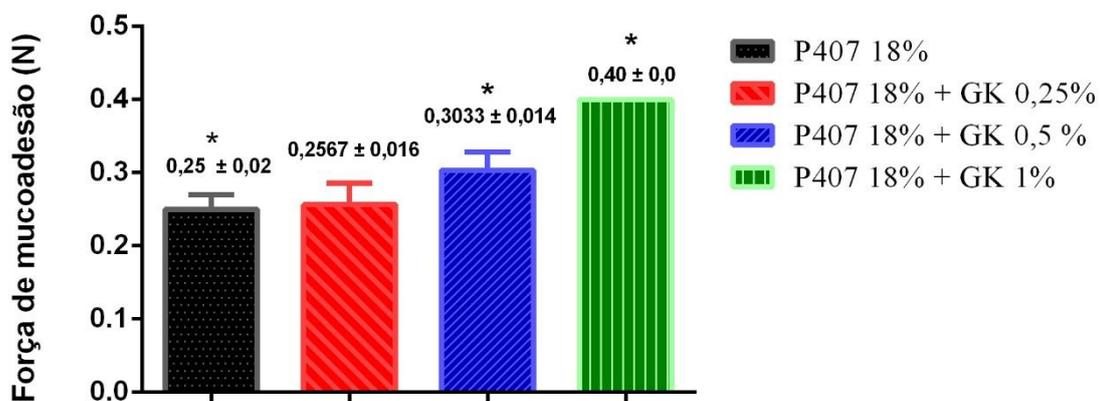
Formulações farmacêuticas com características pseudoplásticas com tixotropia são adequadas para produtos de uso tópico, pois após a aplicação da tensão para administração, tem-se uma diminuição da viscosidade levando a um bom espalhamento durante a aplicação e formação de camada uniforme na superfície, tendo suas características iniciais reestabelecidas com o tempo (MADRIGAL-CARBALLO et al., 2008; SOVILJ; MILANOVIC; PETROVIC, 2013).

## 5.5 DETERMINAÇÃO FORÇA MUCOADESIVA DOS GÉIS

A avaliação do potencial mucoadesivo foi conduzido por um teste utilizando disco mucina. A hidratação parcial do disco e a força aplicada para o contato íntimo do com a superfície do gel foram utilizados para proporcionar a etapa de contato, primeiro passo para que ocorra o processo de mucoadesão. Já o período de contato foi fundamental para a etapa de consolidação junto com as várias interações adesivas entre o disco de mucina e o gel mucoadesivo. O resultado do teste foi determinado pela força necessária para separa o disco de mucina da superfície do gel (CARVALHO; CHORILLI; GREMIÃO, 2014 ).

No teste de força de mucoadesão (Figura 31) os resultados para as formulações foram de:  $0,25N \pm 0,02$  para P407 18%,  $0,2567N \pm 0,016$  para P407 18% + GK 0,25%,  $0,3033N \pm 0,014$  para P407 18% + GK 0,5% e  $0,40N \pm 0,0$  para P407 18% + GK 1%. Diante dos resultados obtidos fica evidente que a formulação que apresentou maior força de mucoadesão foi a P407 18% + GK 1%, devido a maior concentração de GK na formulação.

Figura 31 - Força de mucoadesão das formulações - Análise estatística por ANOVA - teste dunnet ( $p < 0,05$ )



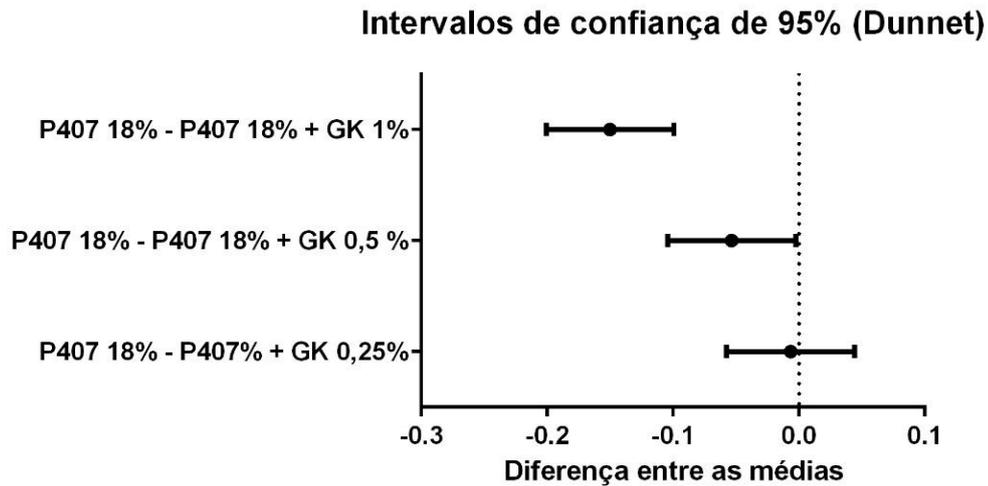
Legenda: \* estatisticamente diferentes.

Fonte: autoria própria

Para melhor avaliação das formulações, as mesmas foram analisadas estatisticamente de duas maneiras. Inicialmente, os valores de força de mucoadesão das formulações contendo GK foram comparadas com a do P407 18% por análise de variância ANOVA (pós teste Dunnet,  $p < 0,05$ ), no qual foi observado (Figura 32) que apenas as formulações P407 18% + GK 0,5% e P407 18% + GK 1% apresentaram valores de mucoadesão significativamente maiores, quando comparado com o P407 18%, visto que nível de significância foi  $p < 0,0001$ .

Já a formulação P407 18% + GK 0,25% não apresentou diferença estatisticamente significativa com o P407 18%, utilizando nível de significância igual a  $p < 0,05$  (valor  $P = 0,7588$ ).

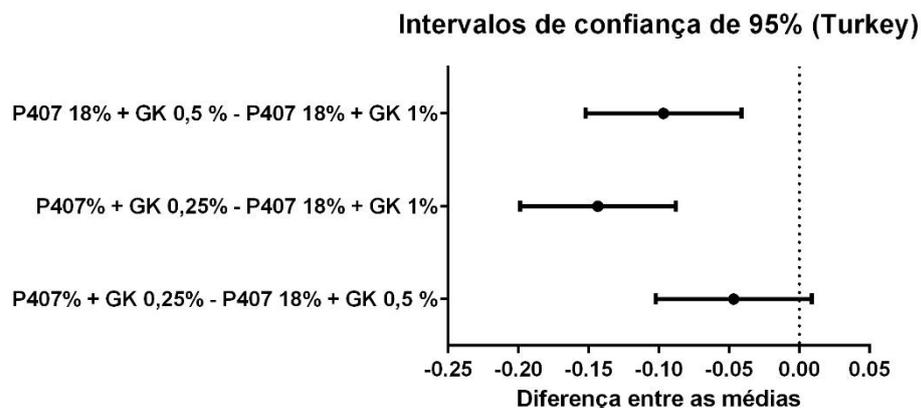
Figura 32 - Análise estatística da força de mucoadesão comparação entre P407 18% e as formulações contendo goma karaya



Fonte: autoria própria

Também foi realizada a análise estatística entre as formulações contendo GK por ANOVA (pós test Turkey;  $p < 0,05$ ), pode ser observado na Figura 33 que as formulações apresentaram resultados para força de mucoadesão estatisticamente diferentes entre si, confirmando que a concentração da GK interfere proporcionalmente nas propriedades mucoadesivas.

Figura 33 - Análise estatística da força de mucoadesão comparação entre as formulações contendo goma karaya



Fonte: autoria própria

Como já descrito na literatura géis de P407, geralmente não apresentam boas propriedades mucoadesivas. Vários trabalhos na literatura trazem a associação do P407 com polímeros mucoadesivos a fim de incrementar a propriedades de mucoadesão e como estratégia para melhorar o tempo de residência do fármaco no local de administração. Os resultados mostraram que a presença da GK na concentração de 0,5 e 1,0 % aumentou significativamente a força de mucoadesão, indicando a existência de interação molecular e ligações químicas secundárias entre os polímeros e a mucina (CARAMELLA et al., 2015; MAZIA et al., 2016).

## 5.6 AVALIAÇÃO DO PERFIL DE LIBERAÇÃO

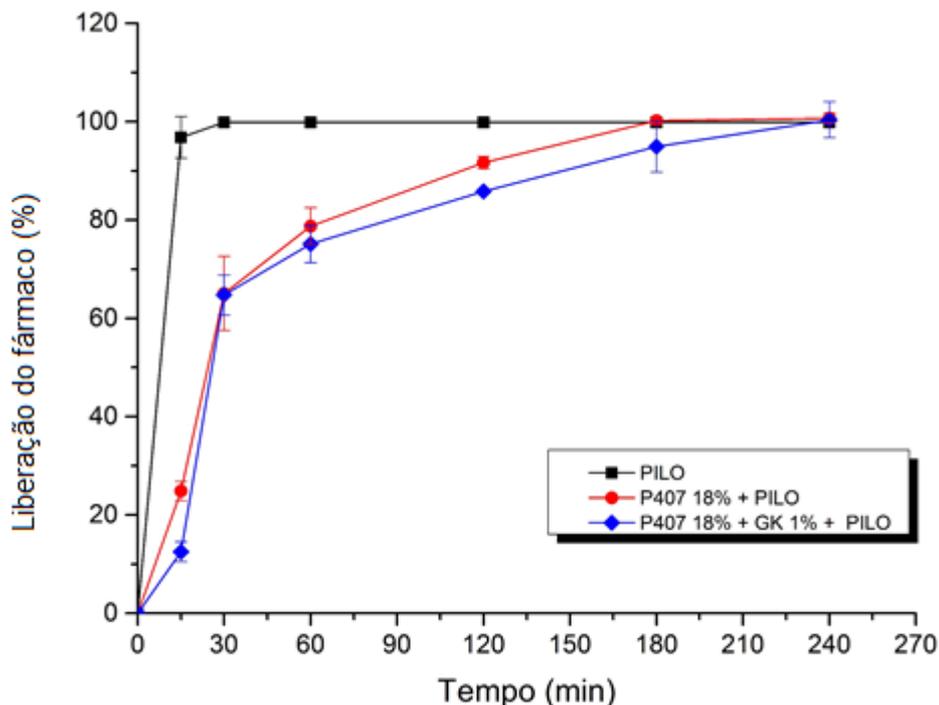
Para avaliação do perfil de liberação do cloridrato de pilocarpina foi escolhida apenas duas formulações: P407 18% como padrão e P407 18% + GK 1%. Esta foi a formulação que apresentou melhores características de viscosidade, temperatura de gelificação e mucoadesão. Foi também avaliado o comportamento de liberação do fármaco isolado.

Em geral, os mecanismos de liberação de fármacos dos hidrogéis são classificados como: controlado por difusão, controlado pela erosão, controlado pelo inchaço e controlado quimicamente (MATANOVIC; KRISTL; GRABNAR, 2014). Vários fatores podem ser responsáveis pelo controle da taxa de difusão do fármaco através das formulações, tais como viscosidade do gel e estrutura porosa da matriz de (DEWAN et al., 2017).

A Figura 34 mostra o perfil de liberação do cloridrato de pilocarpina em função do tempo nas duas formulações escolhidas e também do fármaco sem está incorporado em nenhum sistema de liberação. A liberação do fármaco das formulações foi avaliado a 37 °C para garantir que as mesmas estivessem gelificadas.

Como o cloridrato de pilocarpina é um fármaco com alta solubilidade em solução aquosa, ele foi rapidamente liberado para o meio receptor com um porcentagem de liberação 90% nos primeiros 15 minutos (Figura 34), pois o único fator limitante foi sua alta solubilidade e, conseqüente passagem pela membrana de diálise.

Figura 34 - Perfil de liberação da pilocarpina nas formulações



Fonte: autoria própria

Na Figura 34, observa-se uma tendência decrescente na taxa de liberação do fármaco referente às formulações P407 18% e P407 18 + GK 1%. Para a formulação com P407 18%, com 15 minutos houve a liberação de 24% do fármaco e após 30 minutos 51%. No entanto, para P407 18 + GK 1%, apenas 12 % do fármaco foi liberado nos primeiros 15 minutos, uma redução de 50% quando comparado com o P407 18% sem a GK, o que pode estar associado ao fato da viscosidade da formulação contendo GK ser maior que a do P407 18%, interferindo na passagem do fármaco pelo gel. Durante todo perfil de liberação foi possível observar que a formulação de P407 18 + GK 1% apresentou uma taxa de liberação um pouco mais lenta do fármaco. E após 240 minutos ambas as formulações apresentaram uma taxa de liberação de 100% para o cloridrato de pilocarpina.

Para um melhor entendimento da influência das formulações no processo de liberação da pilocarpina foi feito um estudo de cinética de liberação utilizando os modelos matemáticos de: ordem zero, primeira ordem, Higuchi e Korsmeyer-Peppers. Os resultados podem ser observados na Tabela 5, onde foi calculado o coeficiente de correlação ( $R^2$ ), a constante de liberação (K) e  $n$  expoente de liberação para equação de Korsmeyer-Peppers.

Tabela 5 – Resultado da cinética de liberação da pilocarpina nas formulações

Modelo cinético \ Formulação	P 407 18% + Pilocarpina			P 407 18% + GK 1% + Pilocarpina		
	R <sup>2</sup>	k	n	R <sup>2</sup>	k	n
Ordem zero	0,569	0,531	-	0,72	0,508	-
Primeira ordem	0,821	0,038	-	<b>0,984</b>	0,014	-
Higushi	<b>0,956</b>	7,28	-	0,9583	6,86	-
Korsmeyer-Peppers	0,943	9,946	0,453	0,9201	3,13	0,65

O modelos cinéticos foram avaliados por meio da linearização dos dados de liberação de acordo com o tempo e porcentagem de fármaco liberado. Para a escolha do modelo cinético mais adequado foi utilizado o coeficiente de correlação (R<sup>2</sup>), que se aproxima da perfeita linearidade quando estar mais próximo a 1.

Através dos valores do coeficiente de correlação é possível observar que as formulações apresentaram maior adequabilidade em modelo cinéticos diferentes, indicando que a presença da GK na formulação modifica a forma como o fármaco é liberado a partir do gel termossensível.

Verificou-se que o padrão de liberação de fármaco na formulação P407 18% apresentou maior R<sup>2</sup> para o modelo de Higuchi. Este modelo é frequentemente utilizado para interpretar a liberação de fármacos solúveis e pouco solúveis encapsulados em sistemas matriciais semissólidos e sólidos, em que a liberação é controlada somente pelo processo de difusão através dos canais da matriz, seguindo a lei de Fick (COSTA, LOBO, 2001, SANTANA, et al. 2017)

A formulação de P407 18% + GK 1% apresentou o maior R<sup>2</sup> para o modelo de primeira ordem. Segundo Santana e colaboradores (2017) formulações farmacêuticas que seguem a cinética de primeira ordem, são caracterizadas pela presença de fármaco solúvel em matrizes porosas e a liberação do fármaco é proporcional a quantidade de fármaco restante na matriz, desta forma a quantidade liberada por unidade de tempo diminui. Diferente do P407 18%, a presença da GK de levar a formação de poros na matriz devido ao aumento da sua solubilidade na temperatura do teste.

*CONCLUSÃO E  
PERSPECTIVAS*

## 6 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

Os resultados da caracterização permitiram confirmar a identidade dos materiais utilizados no estudo. As formulações de P407 18% com CS e GC não apresentaram propriedades de transição sol-gel em nenhuma das concentrações. As formulações de P407 contendo GK exibiram incrementos de viscosidade, diminuição da temperatura gelificação e propriedades de mucoadesão. A formulação P407 18% + GK 1% apresentou os melhores resultados em todos os testes realizados, mostrando-se como uma alternativa promissora para formulação de um sistema termossensível mucoadesivo para liberação local de fármacos.

Como perspectiva do trabalho abordado:

- ✓ Realizar perfil de liberação das formulações por célula de difusão de Franz;
- ✓ Desenvolvimento de estudo de estabilidade;
- ✓ Realizar estudos de citotoxicidade;
- ✓ Ensaios pré-clínicos *in vivo*.

## *REFERÊNCIAS*

## REFERÊNCIAS

AGUIAR, M. M. G. B. Desenvolvimento de novos comprimidos bucais de nistatina para o tratamento da candidíase oral. 2007. Trabalho de conclusão de curso (Mestrado) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

ALMEIDA, J. P.; KOWALSKI, L. P. radioactive iodine therapy : a pilot study. v. 76, n. 5, p. 659–662, 2010.

ANDREWS, G. P.; LAVERTY, T. P.; JONES, D. S. Mucoadhesive polymeric platforms for controlled drug delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 71, n. 3, p. 505–518, 2009.

BAJPAI, A. K. et al. Responsive polymers in controlled drug delivery. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 33, n. 11, p. 1088–1118, 2008.

BALOGLU, E. et al. Rheological and mechanical properties of P mixtures as a mucoadhesive gel base. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 16, p.627-636, 2011.

BARROS, P.; MORSELI, P.; CROPANESE, S. Clinical and biochemical evaluation of the saliva of patients with xerostomia induced by radiotherapy Avaliação clínica e bioquímica da saliva de pacientes com xerostomia induzida por radioterapia. **Brazilian Oral Research**, v. 18, n. 1, p. 69, 2004.

BAWA, PRIYA; PILLAY, VINESS; CHOONARA, YAHYA ; TOIT, L. C. DU. Stimuli-responsive polymers and their applications in drug delivery. **Biomedical Materials**, v. 4, p. 022001, 2009.

BERNARDI, R. et al. Effect of pilocarpine mouthwash on salivary flow. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, n. 1, p. 105–110, 2002.

BHOWMICK, B. et al. P and gelatin gel guided polyaniline nanofibers: synthesis and characterization. **Polymer International**, v.63, p. 1505-1512, 2014.

BRAGA, M. A. et al. Comparison of the effects of pilocarpine and cevimeline on salivary flow. **International journal of dental hygiene**, v. 7, n. 2, p. 126–130, 2009.

BRITO, A. C. F. et al. Sterculia striata exudate polysaccharide: Characterization, rheological properties and comparison with Sterculia urens (karaya) polysaccharide. **Polymer International**, v. 53, n. 8, p. 1025–1032, 2004.

BROMBERG, L. E.; RON, E. S. Temperature-responsive gels and thermogelling polymer matrices for protein and peptide delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 31, n. 3, p. 197–221, 1998.

ALARCON, C.; PENNADAM, S.; ALEXANDER, C. Stimuli responsive polymers for biomedical applications. **Chemical Society reviews**, v. 34, n. 3, p. 276–285, 2005.

CARAMELLA, C. M. et al. Mucoadhesive and thermogelling systems for vaginal drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 92, p. 39–52, 2015.

CARVALHO, F. C.; CHORILLI, M.; GREMIÃO, M. P. D. Plataformas Bio ( Muco ) Adesivas Poliméricas Baseadas em Nanotecnologia para Liberação Controlada de Fármacos - Propriedades , Metodologias e Aplicações. **Polímeros**, v. 24, n. 2, p. 203–213, 2014.

CERF, D. L.; IRINEI, F.; MULLER, G. Solution Properties of Gum Exudates from *Sterculia urens* ( Karaya Gum ). v. 13, p. 375–386, 1990.

CHORILLI, M.; ZAGUE, V.; LEONARDI, G. R. Influência Da Viscosidade Do Veículo Na Liberação in. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. IV, n. 1, p. 52–60, 2007.

COX, P. J. et al. Development and evaluation of a multiple-unit oral sustained release dosage form for S ( + ) -ibuprofen : preparation and release kinetics. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 193, p. 73 – 84, 1999.

DE LYRA, M. A. M. et al. Sistemas matriciais hidrofílicos e mucoadesivos para liberação controlada de fármacos. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 5, p. 784–793, 2007.

DE OLIVEIRA, E. F.; PAULA, H. C. B.; PAULA, R. C. M. DE. Alginate/cashew gum nanoparticles for essential oil encapsulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 113, p. 146–151, 2014.

DEVI, D. R.; SANDHYA, P.; HARI, B. N. V. P: A novel functional molecule for drug delivery and gene therapy. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 5, n. 8, p. 159–165, 2013.

DEWAN, M. et al. Effect of methyl cellulose on gelation behavior and drug release from P based ophthalmic formulations. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 72, p. 706–710, 2015.

DEWAN, M. et al. International Journal of Biological Macromolecules Effect of gellan gum on the thermogelation property and drug release profile of P 407 based ophthalmic formulation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 102, p. 258–265, 2017.

DIAS, S. et al. A administração na mucosa bucal como uma estratégia alternativa à via oral. 2007.

FÁVARO, R. A. A.; FERREIRA, T. N. R.; MARTINS, W. D. Xerostomia : etiologia , diagnóstico e tratamento . Revisão Current concepts on aetiology , diagnosis and treatment of. **Clínica e Pesquisa em Odontologia**, v. 2, n. 4, p. 303–317, 2006.

FOLEY, P. L. et al. A chitosan thermogel for delivery of ropivacaine in regional musculoskeletal anesthesia. **Biomaterials**, v. 34, n. 10, p. 2539–2546, 2013.

GIOVAGNOLI, S.; TSAI, T.; DELUCA, P. P. Formulation and release behavior of doxycycline-alginate hydrogel microparticles embedded into pluronic F127 thermogels as a potential new vehicle for doxycycline intradermal sustained delivery. **AAPS PharmSciTech**, v. 11, n. 1, p. 212–220, 2010.

GONJARI, I. D. et al. Mucoadhesive Gel of Fluconazole. **Drug Discoveries & Therapeutics**, v. 3, n. 1, p. 6–9, 2009.

GOWTHAMARAJAN, K. et al. Development of buccal tablets for curcumin using Anacardium occidentale gum. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, n. 4, p. 1177–1183, 2012.

GRAVES, R. A; FREEMAN, T.; MANDAL, T. K. In vitro dissolution method for evaluation of buprenorphine in situ gel formulation: a technical note. **AAPS PharmSciTech**, v. 8, n. 3, p. E62, 2007.

HAMLAR, D. D. et al. Determination of the efficacy of topical oral pilocarpine for postirradiation xerostomia in patients with head and neck carcinoma. **The Laryngoscope**, v. 106, n. 8, p. 972–6, 1996.

HANI, U.; BHAT, R. S.; SHIVAKUMAR, H. G. Formulation design and evaluation of metronidazole microspheres in a bioadhesive gel for local therapy of vaginal candidiasis. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 30, n. 1, p. 161, 2011.

HANI, U.; SHIVAKUMAR, H. Development of Miconazole nitrate Thermosensitive

Bioadhesive Vaginal Gel for Vaginal Candidiasis. **American Journal of Advanced Drug Delivery**, v. 3, p. 358–368, 2013.

HORIOT, J. C. et al. Post-radiation severe xerostomia relieved by pilocarpine: A prospective French cooperative study. **Radiotherapy and Oncology**, v. 55, n. 3, p. 233–239, 2000.

JEONG S.V. et al. Transdermal delivery system of anti-AIDS virus agent using a biopolymer. **Polymer (Korea)**, v.20, p. 47–354, 1996.

JINDAL, N.; MEHTA, S. K. Colloids and Surfaces B : Biointerfaces Nevirapine loaded P 407 / Pluronic P123 mixed micelles : Optimization of formulation and in vitro evaluation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 129, p. 100–106, 2015.

JUNG, Y. et al. Thermo-sensitive injectable hydrogel based on the physical mixing of hyaluronic acid and Pluronic F-127 for sustained NSAID delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 156, p. 403–408, 2017.

KALUZNY, J. et al. Radiotherapy induced xerostomia: Mechanisms, diagnostics, prevention and treatment - Evidence based up to 2013. **Otolaryngologia Polska**, v. 68, n. 1, p. 1–14, 2014.

KANG, F.; SINGH, J. In vitro release of insulin and biocompatibility of in situ forming gel systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 304, n. 1-2, p. 83–90, 2005.

KARAVASILIS, C.; FATOUROS, D. G. Smart materials: In situ gel-forming systems for nasal delivery. **Drug Discovery Today**, v. 21, n. 1, 2015.

KAROLEWICZ, B. A review of polymers as multifunctional excipients in drug dosage form technology. **Saudi Pharmaceutical Journal**, 2015.

KHUTORYANSKIY, V. V. Advances in Mucoadhesion and Mucoadhesive Polymers. **Macromolecular Bioscience**, v. 11, n. 6, p. 748–764, 2011.

KIRCHHOF, S.; GOEPFERICH, A. M.; BRANDL, F. P. Hydrogels in ophthalmic applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 95, p. 227–238, 2015.

KLOUDA, L. Thermoresponsive hydrogels in biomedical applications A seven-year update. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 97, p. 338–349, 2015.

LAI, P. L. et al. Novel thermosensitive hydrogels based on methoxy polyethylene glycol-co-

poly(lactic acid-co-aromatic anhydride) for cefazolin delivery. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 10, n. 3, p. 553–560, 2014.

LETÍCIA, C. Avaliação do comportamento reológico de diferentes iogurtes comerciais  
Rheological evaluation of different commercial yoghurts. p. 12–20, 2013.

LIU, S.; LI, L. Thermoreversible gelation and scaling behavior of Ca<sup>2+</sup>-induced ??-carrageenan hydrogels. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 793–800, 2016.

LÓPEZ-LÓPEZ, J.; JANÉ SALAS, E.; CHIMENOS KÜSTNER, E. Pronóstico y tratamiento de la boca seca. Revisión sistemática. **Medicina Clínica**, v. 142, n. 3, p. 119–124, 2014.

MADRIGAL-CARBALLO, S. et al. An approach to rheological and electrokinetic behaviour of lipidic vesicles covered with chitosan biopolymer. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 323, n. 1-3, p. 149–154, 2008.

MADSEN, K. D. et al. Development of an ex vivo retention model simulating bioadhesion in the oral cavity using human saliva and physiologically relevant irrigation media. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 448, n. 2, p. 373–381, 2013.

MAHAJAN, P. et al. Mucoadhesive Drug Delivery System : A Review. v. 5, n. 1, p. 11–20, 2013.

MATANOVIC, M. R.; KRISTL, J.; GRABNAR, P. A. Thermoresponsive polymers: Insights into decisive hydrogel characteristics, mechanisms of gelation, and promising biomedical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 472, n. 1-2, p. 262–275, 2014.

MAYOL, L. et al. A novel Ps/hyaluronic acid in situ forming hydrogel for drug delivery: Rheological, mucoadhesive and in vitro release properties. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 70, n. 1, p. 199–206, 2008.

MAZIA, R. S. et al. Formulation and Evaluation of a Mucoadhesive Thermoresponsive System Containing Brazilian Green Propolis for the Treatment of Lesions Caused by Herpes Simplex Type I. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 105, n. 1, p. 113–121, 2016.

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**. 2009. Trabalho de conclusão de curso (Mestrado) – Faculdade de Biologia, Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, 2009.

MIRHOSSEINI, H.; AMID, B. T. A review study on chemical composition and molecular structure of newly plant gum exudates and seed gums. **FRIN**, v. 46, n. 1, p. 387–398, 2012.

MOTHÉ, C. G.; DE FREITAS, J. S. Thermal behavior of cashew gum by simultaneous TG/DTG/DSCFT-IR and EDXRF. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 116, n. 3, p. 1509–1514, 2014.

NAPEÑAS, J. J.; BRENNAN, M. T.; FOX, P. C. Diagnosis and treatment of xerostomia (dry mouth). **Odontology**, v. 97, n. 2, p. 76–83, 2009.

OKOYE, E. I.; ONYEKWELI, A. O.; KUNLE, O. O. Solid state characterization of Anacardium occidentale gum. **Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology**, v. 4, n. 19, p. 3709–3716, 2012.

OLIVEIRA, M. A. **Avaliação da influencia de adjuvantes de secagem sobre as propriedades de suco de caju atomizado**. 2008. 63 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

OLIVEIRA, E. F.; PAULA, H. C. B.; PAULA, R. C. M. Alginate/cashew gum nanoparticles for essential oil encapsulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 113, p. 146–151, 2014.

PAPPANO, A. J. Drogas ativadores dos receptores colinérgicos e inibidores da colinesterase. In: KATZUNG, B. G. Farmacologia básica e clínica. 10ª Ed. São Paulo: McGRAW-HILL, 2007.

PAULA, R. C. M. DE; HEATLEY, F.; BUDD, P. M. Characterization of Anacardium occidentale Exudate Polysaccharide. **Polymer International**, v. 45, n. 1, p. 27–35, 1998.

PENDEKAL, M. S.; TEGGINAMAT, P. K. A novel bucco-vaginal controlled release drug delivery system of miconazole nitrate for candidiasis-design and evaluation. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 31, n. 3, p. 461–468, 2012.

PEPPAS, N. A. et al. Hydrogels in pharmaceutical formulations. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, n. 1, p. 27–46, 2000b.

PERIOLI, L. et al. Development of mucoadhesive patches for buccal administration of ibuprofen. **Journal of Controlled Release**, v. 99, n. 1, p. 73–82, 2004.

POSTULKOVA, H. et al. Food Hydrocolloids Study of effects and conditions on the

solubility of natural polysaccharide gum karaya. **Food hydrocolloids**, v. 67, p. 148–156, 2017.

PRAJAPATI, V. D. et al. Carrageenan: A natural seaweed polysaccharide and its applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 105, n. 1, p. 97–112, 2014.

QIU, Y.; PARK, K. Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, n. SUPPL., p. 49–60, 2012.

QUINN, H. L. Therapeutic Delivery. **Ther. Deliv**, v. 7, n. 2, p. 117–138, 2016.

RAKKAPAO, N. et al. Miscibility of chitosan/poly(ethylene oxide) blends and effect of doping alkali and alkali earth metal ions on chitosan/PEO interaction. **Polymer**, v. 52, n. 12, p. 2618–2627, 2011.

RICCI, E. J. et al. Rheological characterization of P 407 lidocaine hydrochloride gels. v. 17, p. 161–167, 2002.

RUEL-GARIÉPY, E. et al. A thermosensitive chitosan-based hydrogel for the local delivery of paclitaxel. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 57, n. 1, p. 53–63, 2004.

SÁ, L.L.F. **Desenvolvimento tecnológico de comprimidos de pilocarpina para tratamento da xerostomia**. 2012. Dissertação de mestrado. Pós- Graduação em Ciências Farmacêuticas. Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Universidade Federal do Piauí, Terezina- PI, 2012.

SANTANA, A.C.S.G.V et al Obtaining the palygorskite:chitosan composite for modified release of 5-aminosalicylic acid. **Materials Science and Engineering C**. v. 73, p. 245-251, 2017

SANTANA, H. A. L. **Efeito de duas formulações de pilocarpina, solução para bochecho e sublingual, no tratamento da xerostomia induzida por radiação**. 2009. Trabalho de conclusão de curso (Mestrado) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

SANTOS, B.F. **Sistemas precursores de cristais líquidos mucoadesivos para administração bucal de curcumina no tratamento do câncer bucal**. 2015. Trabalho de conclusão de curso (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho”, Araraquara, São Paulo, 2015.

SARUBBO, L. A. et al. A goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) como sistema inovador de extração líquido-líquido. **Exacta**, v. 5, n. 1, p. 145–154, 2007.

SAWAYA, A. C. H. F. et al. Screening species of *Pilocarpus* (Rutaceae) as sources of pilocarpine and other imidazole alkaloids. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 58, n. 3, p. 471–480, 2011.

SHELKE, S. et al. Formulation and evaluation of thermoreversible mucoadhesive in-situ gel for intranasal delivery of naratriptan hydrochloride. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 29, p. 238–244, 2015.

SMART, J. D. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, n. 11, p. 1556–1568, 2005.

SOCORRO, M. et al. Biopolymers and pilocarpine interaction study for use in drug delivery systems ( DDS ). **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 127, p. 1777–1785, 2017.

SOGIAS, I. A.; WILLIAMS, A. C.; KHUTORYANSKIY, V. V. Why is chitosan mucoadhesive? **Biomacromolecules**, v. 9, n. 7, p. 1837–1842, 2008.

SOVILJ, V.; MILANOVIC, J.; PETROVIC, L. Influence of gelatin-sodium stearoyl lactylate interaction on the rheological properties of gelatin gels. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 417, p. 211–216, 2013.

TAIS, G. **Sistemas de liberação ocular contendo fluconazol: obtenção, caracterização e liberação passiva e iontoforética *in vitro* e *in vivo***. 2010. Trabalho de conclusão de curso (Doutorado) - Faculdade De Ciências Farmacêuticas De Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

Toneli, T.C.L. et al. Estudo da reologia de polissacarídeos utilizados na indústria de alimentos. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 7, n.2 , p. 181-204, 2005.

UGWOKE, M. I. et al. Nasal mucoadhesive drug delivery: Background, applications, trends and future perspectives. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, n. 11, p. 1640–1665, 2005.

- VARSHOSAZ, J.; TABBAKHIAN, M.; SALMANI, Z. Designing of a Thermosensitive Chitosan/P In Situ Gel for Ocular Delivery of Ciprofloxacin. **The Open Drug Delivery Journal**, v. 2, n. 1, p. 61–70, 2008.
- VARUM, F. O. et al. Estudos de mucoadesão no trato gastrointestinal para o aumento da biodisponibilidade oral de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmaceuticas/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, n. 4, p. 535–548, 2008.
- VERBEKEN, M. D. Exudate gums : occurrence , production , and applications. p. 10–21, 2003.
- VINOD, V. T. P. et al. Bioremediation of mercury (II) from aqueous solution by gum karaya (*Sterculia urens*): A natural hydrocolloid. **Desalination**, v. 272, n. 1-3, p. 270–277, 2011.
- VISVANATHAN, V.; NIX, P. Managing the patient presenting with xerostomia: A review. **International Journal of Clinical Practice**, v. 64, n. 3, p. 404–407, 2010.
- XU, X. et al. Preparation and in vitro characterization of thermosensitive and mucoadhesive hydrogels for nasal delivery of phenylephrine hydrochloride. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 88, n. 3, p. 998–1004, 2014.
- ZAGO, G. P. Estudo do efeito do metanol na fabricação de um interferômetro de fabry-pérot a partir do método de pintura sobre um substrato ( painting-on ). **Monografia**, 2014.
- ZENG, N. et al. Influence of additives on a thermosensitive hydrogel for buccal delivery of salbutamol: Relation between micellization, gelation, mechanic and release properties. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 467, n. 1-2, p. 70–83, 2014.
- ZOPPI, A. et al. Studies of pilocarpine: Carbomer intermolecular interactions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 427, n. 2, p. 252–259, 2012.