



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CÂMPUS DE ARARAQUARA

*CARACTERIZAÇÃO DE SISTEMAS MUCOADESIVOS PARA POTENCIAL
ADMINISTRAÇÃO DE ZIDOVUDINA*



ILKA NARITA HATAKEYAMA

ARARAQUARA – SP

2012

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CÂMPUS DE ARARAQUARA

*CARACTERIZAÇÃO DE SISTEMAS MUCOADESIVOS PARA POTENCIAL
ADMINISTRAÇÃO NASAL DE ZIDOVUDINA*

ILKA NARITA HATAKEYAMA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista para obtenção do grau de Farmacêutica-Bioquímica.

ORIENTADORA: Profa. Dra. Maria Palmira Daflon Gremião
CO-ORIENTADORA: Flávia Chiva Carvalho

ARARAQUARA – SP

2012

Dedico este trabalho aos meus pais

Mário e Sueli.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer especialmente à minha família, aos meus pais, Sueli e Mário, cujo apoio, carinho e paciência sempre foram essenciais para a minha formação acadêmica, moral e emocional.

Agradeço à minha grande orientadora Prof^a Dra. Maria Palmira Daflon Gremião, que me deu a oportunidade de enxergar a vida acadêmica com outros olhos e ver que a iniciação científica é um enorme passo para o conhecimento.

À minha querida amiga e co-orientadora Flávia Chiva Carvalho, pela paciência, apoio, amizade e pelos muitos ensinamentos. Muito obrigada por me guiar nesta etapa da vida.

Aos meus amigos do Laboratório de Farmacotécnica, estagiários, mestrandos e doutorandos, que me receberam com tanto carinho. Obrigada por todos os conselhos e ajudas.

1. RESUMO

A zidovudina (AZT) é um antirretroviral que apresenta baixa biodisponibilidade devido seu intenso metabolismo pré-sistêmico. A via nasal tem sido estudada como alternativa para evitar este efeito, mas possui limitações, como os mecanismos de depuração mucociliar, que podem ser minimizadas através do desenvolvimento de sistemas de liberação mucoadesivos. O presente estudo tem por objetivo caracterizar sistemas tensoativos visando o desenvolvimento de uma formulação mucoadesiva para potencial administração nasal de AZT. Para isso, foi utilizada uma microemulsão (ME) composta por álcool cetílico etoxilado 20 OE e propoxilado 5 OP (PRO), ácido oleico (AO) e água. Foi testada a incorporação de polímeros mucoadesivos – policarbofil (PF), carbopol 971 (C971), 974 (C974) e quitosana (QS) na ME. Os sistemas foram caracterizados por microscopia de luz polarizada (MLP), quantificação do AZT, reologia de fluxo e oscilatória, análise do perfil de textura (TPA) e obtenção da força de mucoadesão. Os resultados mostraram que foi possível incorporar 0,1 % (p/v) dos polímeros e os sistemas incorporaram mais AZT do que a solução aquosa. Os sistemas apresentam fluxo newtoniano. Quando misturados ao muco artificial (MA), os sistemas tiveram G' aumentado e houve mudança da ME para fase hexagonal. No teste TPA, a dureza da ME contendo PF foi a maior. Pode-se concluir que é possível obter uma formulação precursora de matriz com características de textura e reologia favoráveis à aplicação nasal. O sistema foi capaz de incorporar o AZT e apresentou grande potencial mucoadesivo. Esta estratégia se mostra promissora na melhora da terapia contra a AIDS (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida).

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS.....	do Inglês <i>Acquired Immuno-Deficiency Syndrome</i> , Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ANVISA.....	Agência de Vigilância Sanitária
AO.....	ácido oléico
AZT.....	zidovudina
C971.....	carbômero homopolímero tipo A
C974.....	carbômero homopolímero tipo B
CL.....	cristal líquido
DP.....	desvio padrão
G'.....	módulo de armazenagem
G''.....	módulo de perda
M.....	média
MA.....	muco artificial
ME.....	sistema contendo 55 % de PRO, 30 % de AO e 15 % de água (m/m)
MEPF.....	sistema contendo 55 % de PRO, 30 % de AO e 15 % de dispersão aquosa de PF a 0,1 % (m/v)
MEC971.....	sistema contendo 55 % de PRO, 30 % de AO e 15 % de dispersão aquosa de C971 a 0,1% (m/v)
MEC974.....	sistema contendo 55 % de PRO, 30 % de AO e 15 % de dispersão aquosa de C974 a 0,1 % (m/v)
MEQS.....	sistema contendo 55 % de PRO, 30 % de AO e 15 % de dispersão aquosa de QS a 0,1 % (m/v)
HIV.....	do Inglês <i>Human Immunodeficiency Virus</i> , Vírus da Imunodeficiência Humana

LD.....	limite de detecção
LQ.....	limite de quantificação
ME.....	microemulsão
PF.....	policarbofil
PRO.....	álcool cetílico etoxilado 20 OE e propoxilado 5 OP
QS.....	quitosana
r^2	coeficiente de determinação
TMA.....	trabalho de mucoadesão
Tmax.....	tempo para atingir a concentração plasmática máxima
TPA.....	do Inglês <i>Texture Profile Analysis</i> , Análise do perfil de textura

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação, apresentação e meia – vida plasmática dos antirretrovirais.....	16
Tabela 2: Cálculo da precisão e exatidão do método de quantificação do AZT nos sistemas tensoativos dissolvidos em etanol por espectroscopia UV.....	42
Tabela 3: Cálculo da precisão e exatidão do método de quantificação do AZT nos sistemas tensoativos dissolvidos em água.....	43
Tabela 4: Ensaio de incorporação do AZT nas formulações e seus componentes isolados.....	45

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: À esquerda, estrutura da timidina e à direita, estrutura química do AZT.....	18
Figura 2: Tipos celulares do epitélio nasal.....	21
Figura 3: Etapas da mucoadesão.....	24
Figura 4: Moléculas de tensoativos.....	27
Figura 5: Organização das moléculas de tensoativo e co – tensoativo na interface óleo/água. γ : tensão interfacial.....	28
Figura 6: Tipos de estruturas micelares formadas por fase aquosa, fase oleosa e tensoativo.....	29
Figura 7: Ilustração esquemática do diagrama de fases ternário.....	30
Figura 8: Diagrama ternário de fases obtido no estudo de Carvalho (2010a).....	39
Figura 9: Ensaio de incorporação do PF, C971 e C974 nos sistemas tensoativos. a) Amostras com concentrações 0,1%, 0,5% e 1% com turvação nas duas últimas. b) MLP da amostra de 0,1% revelando campo escuro, característico de ME.....	41
Figura 10: Ensaio de incorporação da QS nos sistemas tensoativos. a) Amostras com concentrações 0,1%, 0,5% e 1% com precipitação nas duas últimas. b) Precipitação nas amostras de maior concentração. c) Microscopia de luz polarizada das amostras de 0,5% e 1% revelando desestruturação do sistema.....	41
Figura 11: Reogramas de fluxo da ME e o efeito da substituição da fase aquosa por dispersões dos polímeros mucoadesivos.....	46
Figura 12: Efeito do MA nos sistemas tensoativos analisados por MLP.....	47
Figura 13: Efeito da adição do MA nas propriedades viscoelásticas dos sistemas microemulsionados. Símbolos fechados: G' ; símbolos abertos: G''	49
Figura 14. Parâmetros obtidos na caracterização mecânica por teste TPA para as amostras de ME pura e contendo polímeros mucoadesivos.....	52
Figura 15: Ensaio de mucoadesão dos sistemas tensoativos misturados com MA, utilizando mucosa artificial (disco de mucina) e animal (mucosa nasal suína) feita através do texturômetro.....	54

ÍNDICE

1. RESUMO	5
2. .INTRODUÇÃO	12
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1 TERAPIA ANTIRETROVIRAL	14
3.2 VIA NASAL	20
3.3 MUCOADESÃO	23
3.4 MECANISMOS DE MUCOADESÃO	24
3.5 MATERIAIS MUCOADESIVOS	26
3.6 SISTEMAS TENSOATIVOS	27
4. OBJETIVO	32
4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
5. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	32
5.1. MATERIAIS	32
5.2 EQUIPAMENTOS	33
6. MÉTODOS	33
6.1 CONSTRUÇÃO DO DIAGRAMA DE FASES	33
6.2 CARACTERIZAÇÃO DOS SISTEMAS POR MICROSCOPIA DE LUZ POLARIZADA (MLP)	34
6.3 AVALIAÇÃO DA INCORPORAÇÃO DOS POLÍMEROS NO SISTEMA	34
6.4 QUANTIFICAÇÃO DO AZT NOS SISTEMAS	35
6.5 ANÁLISE REOLÓGICA DE FLUXO	36
6.6 TESTES DE MUCOADESÃO	36
6.6.1 COMPORTAMENTO DE FASES NO AMBIENTE NASAL SIMULADO	36
6.6.2 CARACTERIZAÇÃO DA MUCOADESÃO POR REOLOGIA OSCILATÓRIA	37

6.6.3 CARACTERIZAÇÃO DA MUCOADESÃO POR ANÁLISE DO PERFIL DE TEXTURA (TPA)	37
6.6.4 ENSAIO DE OBTENÇÃO DA FORÇA DE MUCOADESÃO	38
7. RESULTADOS	39
7.1 CONSTRUÇÃO DO DIAGRAMA DE FASES	39
7.2 AVALIAÇÃO DA INCORPORAÇÃO DOS POLÍMEROS NO SISTEMA	40
7.3 QUANTIFICAÇÃO DO AZT NOS SISTEMAS ESCOLHIDOS	41
7.4 ANÁLISE REOLÓGICA DE FLUXO	45
7.5 TESTES DE MUCOADESÃO	46
7.5.1 COMPORTAMENTO DE FASES NO AMBIENTE NASAL SIMULADO	46
7.5.2 CARACTERIZAÇÃO DA MUCOADESÃO POR REOLOGIA OSCILATÓRIA.....	48
7.5.3 CARACTERIZAÇÃO DA MUCOADESÃO POR TPA.....	50
7.5.4 ENSAIO DE OBTENÇÃO DA FORÇA DE MUCOADESÃO	53
8. DISCUSSÕES	54
9. CONCLUSÃO.....	58
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60

2. .INTRODUÇÃO

A zidovudina (AZT), é um fármaco utilizado no tratamento da AIDS (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida), mas não tem eficácia ótima principalmente devido ao intenso metabolismo hepático ao qual é sujeito quando administrado via oral (SILVA, 2006). Por essa razão, é necessário que se administre doses altas que acabam por provocar efeitos colaterais graves (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). Uma possível melhoria para fármacos que sofrem metabolismo pré-sistêmico como o AZT é estudar outra via de administração, como por exemplo, a via nasal, que tem sido alvo de grande interesse na comunidade científica (ARORA, SHARMA, GARG; 2002). Contudo, a via nasal possui limitações e estas envolvem, por exemplo, a depuração mucociliar - um mecanismo que pode remover rapidamente a formulação da cavidade nasal (ARORA, SHARMA, GARG; 2002). Para que isto seja minimizado, estuda – se alternativas que aumentem o tempo de retenção da formulação na cavidade nasal (TÜRKER, 2004), e estes incluem, por exemplo, o desenvolvimento de sistemas mucoadesivos.

Mucoadesão é um conceito que tem sido amplamente explorado, que pode ocorrer tanto pelo aumento da viscosidade do sistema, quanto por interações moleculares, como pontes de hidrogênio e interações eletrônicas (ANDREWS; LAVERTY; JONES, 2008; CARVALHO *et al.*, 2010b). O princípio se baseia no fato de que a adesão aumentará o tempo de contato do fármaco com a mucosa permitindo, assim, um aumento na sua absorção (ANDREWS, LAVERTY, JONES; 2008).

A literatura indica como potenciais sistemas mucoadesivos, as microemulsões (ME) e cristais líquidos (CL), cujas propriedades liotrópicas vêm sendo bastante estudadas no âmbito de sistemas de liberação controlada. As propriedades liotrópicas destes sistemas

resultam da formação de uma matriz mais estruturada e conseqüente aumento da viscosidade da formulação quando esta entra em contato com a água presente no muco (BOYD et al., 2006).

Nosso grupo de pesquisa tem verificado que sistemas compostos pelo tensoativo álcool cetílico etoxilado 20 OE e propoxilado 5 OP (PRO) formam ME e CL, os quais podem atuar como sistemas mucoadesivos devido às suas características viscoelásticas. ME compostas por PRO, ácido oleico (AO) e água, ao entrarem em contato com muco artificial (MA), se transformam em CL tipo lamelar que podem resistir por mais tempo à depuração, devido à sua alta viscosidade (CARVALHO *et al.*, 2010a).

Além dos sistemas tensoativos, há na literatura muitos estudos relatando o emprego de polímeros como promotores de mucoadesão. Os derivados do ácido poliacrílico, como o policarbofil (PF), carbômero homopolímero tipo A (C971) e carbômero homopolímero tipo B (C974) e são reconhecidos por seus mecanismos de adesão, que incluem, por exemplo, ligações de hidrogênio. Outro exemplo é a quitosana (QS), cuja mucoadesão se dá por interações eletrostáticas (JANES, CALVO, ALONSO, 2001; BRAVO-OSUNA, *et al.*, 2007).

Tendo em vista o potencial que sistemas compostos pelo tensoativo PRO e polímeros como PF, C971, C974 e QS apresentam na promoção da mucoadesão, este trabalho tem como objetivo caracterizar as propriedades físico-químicas de sistemas baseados nestes componentes, como estratégia para o desenvolvimento de sistemas mucoadesivos para administração nasal do AZT.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 TERAPIA ANTIRETROVIRAL

A epidemia da síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS) é um dos maiores desafios enfrentados pela saúde pública, pois apresenta – se como uma infecção dinâmica caracterizada por uma intensa replicação viral, depleção de linfócitos CD4 e imunodeficiência profunda. Felizmente, os progressos na elucidação da patogenia viral bem como da base genética da resistência, propiciaram o desenvolvimento rápido e racional de numerosos fármacos eficazes dirigidos contra a transcriptase reversa ou a protease do vírus da imunodeficiência humana, conhecido pela sigla HIV proveniente do inglês *Human immunodeficiency virus* (HIV) (GOODMAN, 2006).

De acordo com o Ministério da Saúde, a terapia antirretroviral deve ser iniciada quando o paciente apresentar aspectos como: manifestações clínicas associadas ao HIV, contagem de linfócitos T CD4+ abaixo de 200/ mm³, não apresentarem sintomas, mas apresentarem contagem de linfócitos entre 200 e 350/mm³ (dependendo de fatores imunológicos, virológicos, motivação, adesão, etc), quando não é possível o acompanhamento freqüente da contagem de linfócitos e quando há risco de progressão (TRABULSI, 2005; Ministério da Saúde, 2006). Porém, existem objetivos e necessidades de adesão ao tratamento que devem ser entendidas e aceitas pelo paciente antes que o tratamento se inicie, pois alguns fatores como a ocorrência de efeitos colaterais, esquemas posológicos incompatíveis com as atividades diárias do paciente, número elevado de comprimidos, necessidade de restrição alimentar, falta de compreensão da prescrição e falta de informação sobre as conseqüências da má adesão podem acarretar em um tratamento ineficaz, falha terapêutica e morte (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006;

GOODMAN, 2006). O tratamento envolve não somente o uso de antiretrovirais, mas também assistência de excelência ao paciente, envolvendo medicina de família, abordagem de doenças crônicas e obviamente acompanhamento médico especializado (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

A terapia antirretroviral tem como princípio a inibição da replicação viral da maneira mais completa e durável possível, evitando ao máximo a toxicidade, e isso requer a administração simultânea de múltiplos fármacos (GOODMAN, 2006). Esses fármacos atuam diretamente no HIV e são classificados em categorias de acordo com a ação que realizam junto ao vírus: inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRN), inibidores da transcriptase reversa não-análogos de nucleosídeos (ITRNN), inibidores de protease (IP), e mais recentemente inibidores de fusão (IF) e de integrase (II). A Tabela 1 mostra a relação de alguns fármacos utilizados na terapêutica, suas abreviações e suas classificações.

Tabela 1: Classificação, apresentação e meia – vida plasmática dos antirretrovirais.

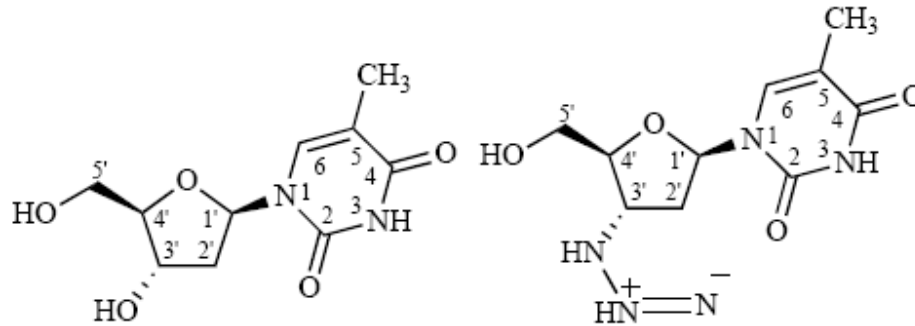
CLASSE	NOME		MEIA-VIDA PLASMÁTICA
	GENÉRICO	ABREVIACÃO	
Inibidores da transcriptase reversa análogo de nucleotide (ITRN)	Abacavir	ABC	1,5h
	Didanosina	Ddl	1,6h
	Estavudina	d4T	1,4
	Lamivudina	3TC	5-7h
	Tenofovir	TDF	17h
	Zidovudina	AZT ou ZDV	1,1h
Inibidores da transcriptase reversa não-análogo de nucleotídeo (ITRNN)	Efavirenz	EFZ	40-55h
	Nevirapina	NVP	25-30h
Inibidores de protease (IP)	Amprenavir	APV	7-10,5h
	Indinavir	IDV	1,5-2h
	Lopinavir	LVP	5-6h
	Nelfinavir	NFV	3,5-5h
	Ritonavir	RTV	3-5h
	Saquinavir	SQV	1-2h
Inibidores de integrase (II)	Efuvirtide	ENF	3,8h

Fonte: MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006; OJEWOLE *et al.*, 2008.

Inicialmente, utiliza – se uma combinação de três fármacos, sendo dois ITRN associados a um ITRNN ou a um IP. A associação zidovudina/lamivudina (AZT/3TC) foi considerada a dupla de análogos de nucleosídeos de primeira escolha para compor o esquema triplo inicial, pois o perfil favorável de toxicidade de ambos ITRN, a facilidade de adesão à combinação e a larga experiência com ela justificam esta opção (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

O AZT, também conhecido como Retrovir, ZDV ou 3'-azido-3'-desoxitimidina é um análogo da timidina (estruturas representadas na Figura 1) que possui um grupamento 3'-azido em lugar de 3'-hidroxila (SILVA, 2006). Assim como os demais inibidores de transcriptase reversa, o AZT age interrompendo a replicação viral da seguinte maneira: após entrar na célula do hospedeiro, o AZT é fosforilada pela timidinocinase em monofosfato; em seguida pela timidilatoquinase em difosfato; e, por fim, pelo nucleosídeo difosfatocinase em 5 – trifosfato de zidovudina ativo, cuja meia – vida é de cerca de 3 horas. O 5 – trifosfato de zidovudina ativo interrompe o alongamento da cadeia de DNA viral, ao competir com o trifosfato de timidina pela sua incorporação ao DNA, e também inibe fracamente a DNA polimerase – α celular e a polimerase – γ mitocondrial, enquanto o monofosfato inibe competitivamente a timidilatoquinase celular. Esses últimos efeitos podem causar citotoxicidade e são os principais responsáveis pelos efeitos adversos (GOODMAN, 2006).

Figura 1: À esquerda, estrutura da timidina e à direita, estrutura química do AZT– Fonte: BOZZI, D'ANDREA, BRISDELLI, 2008.



Resumidamente, a transcriptase reversa é uma enzima viral responsável pela síntese de DNA a partir de RNA, e é essencial para a replicação do vírus HIV. Neste contexto, a inserção de um análogo de nucleosídeo impediria a continuidade da fita de DNA e, conseqüentemente, impediria a replicação (BOZZI, D'ANDREA, BRISDELLI, 2008).

O AZT é rapidamente absorvido pelo trato gastrointestinal e são obtidos níveis séricos máximos dentro de 1 hora, e possui uma meia vida de eliminação de 3 a 4 horas. Possui uma seletividade proporcionada pela maior afinidade pela transcriptase reversa do HIV do que pelas DNA polimerases humanas (SILVA, 2006). Além disso, é capaz de ultrapassar a barreira hematoencefálica relativamente bem e também pode estar presente no leite materno, no sêmen e nos tecidos fetais (GOODMAN, 2006).

A terapia, contudo, leva em conta fatores que impedem que o AZT tenha uma eficácia ótima: possui toxicidade hematológica dose – dependente, (MAINARDES, 2007; OH *et al.*, 1998; THOMAS; PANCHAGNULA, 2003) biodisponibilidade de somente 60% quando administrada via oral devido a efeitos de primeira passagem. Por isso, para que

se mantenham níveis terapêuticos efetivos, são administradas altas doses que frequentemente atingem os patamares de toxicidade, causando efeitos adversos graves (MANDAL; TENJARLA, 1996). Sendo assim, várias estratégias têm sido desenvolvidas para superar esses problemas e, dentre elas, os sistemas de liberação têm sido muito relevantes no sentido de se estabelecer alternativas terapêuticas mais eficientes, que possibilitem administrar os fármacos com mais segurança e com efeitos colaterais minimizados (OJEWOLE, 2008).

Pode – se dizer, então, que a abordagem clínica da infecção pelo HIV e de suas complicações é bastante complexa, mas com o advento da terapia antirretroviral potente, as manifestações clínicas decorrentes da infecção pelo HIV tornaram-se menos freqüentes e houve melhora substancial do prognóstico e da qualidade de vida dos indivíduos portadores. Todavia, a resistência viral, a toxicidade dos fármacos e a necessidade de elevada adesão ao tratamento permanecem como importantes barreiras ao sucesso prolongado da terapia (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). Por isso, é importante que se invista em novas estratégias que permitam uma melhor administração, com redução das doses, diminuição dos efeitos colaterais e melhor esclarecimento do paciente acerca dos riscos de uma má adesão ao tratamento (CARVALHO, 2010a). Sendo assim, o presente trabalho visa desenvolver um novo sistema de liberação controlada administrado via nasal, a fim de melhorar a eficácia da terapêutica no tratamento da AIDS que inclua o uso do AZT.

3.2 VIA NASAL

Muitos fármacos (como o AZT, por exemplo), apresentam baixa biodisponibilidade ou então, são suscetíveis à degradação enzimática e/ou metabolismo de pré-sistêmico quando administrados por via oral (ARORA, SHARMA, GARG; 2002). Isso gera um grande obstáculo no que se refere à adesão aos tratamentos envolvendo esses medicamentos, pois resulta em posologias incompatíveis (muitos comprimidos) com as atividades diárias do paciente, além de que as altas doses podem facilmente chegar à toxicidade (Ministério da Saúde, 2006). Por essa razão, é importante que se estude e explore novas formas de administração desses fármacos como alternativas a esses tratamentos (ARORA, SHARMA, GARG; 2002).

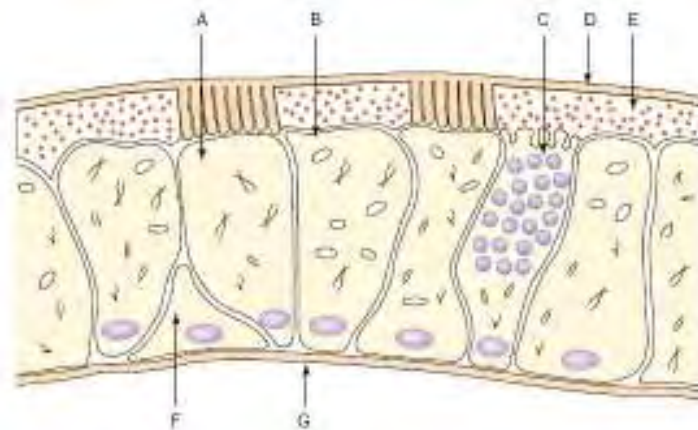
A via nasal, convencionalmente, é usada para a administração de medicamentos para doenças locais (GAVINI et al., 2006), mas na última década, tem sido alvo de grande interesse na comunidade científica por se apresentar também como uma rota de fármacos de efeito sistêmico, já que constitui uma das vias mais permeáveis e vascularizadas (ARORA, SHARMA, GARG; 2002). Além disso, mostrou – se eficiente em tratamentos de distúrbios neurológicos, em que o fármaco é transferido diretamente da cavidade nasal para o cérebro (CHARLTON, *et al*; 2007).

Assim, o potencial da cavidade nasal (Figura 2) como rota alternativa para o transporte de fármacos deve – se a alguns aspectos importantes como alta vascularização e permeabilidade da mucosa nasal, razões pelas quais o fármaco é capaz de ser absorvido sem que passe pelos processos de degradação aos quais seria sujeito se a administração fosse oral. Dessa maneira, a permeabilidade da mucosa nasal é um fator muito importante no que se refere à absorção dos fármacos, e pode funcionar tanto

por mecanismos de transporte passivo paracelular, quanto por transporte ativo ou passivo intercelular, ou através de junções aderentes e outros (ARORA, SHARMA, GARG; 2002).

Dentre algumas das características favoráveis à permeabilidade de fármacos, pode - se citar a anatômica e a fisiológica, nas quais a cavidade nasal se apresenta altamente vascularizada, com extensa área superficial e alto volume de secreções (Figura 2).

Figura 2: Tipos celulares do epitélio nasal; A- célula ciliada; B- célula não – ciliada; C- células caliciformes; D- camada de muco; E- camada de sol; F- célula basal; G- membrana basal. – Fonte: ARORA, SHARMA, GARG; 2002



A região rica em vasos permite a umidificação, aquecimento e filtração do ar inspirado, e funções como o olfato, depuração mucociliar e ação do sistema imunológico. Já a grande área superficial é devido à presença de muitas microvilosidades que aumentam o contato com o fármaco e, por fim, a grande quantidade de secreções que chegam a até 15 mL por dia, em condições fisiológicas. Além disso, a permeabilidade do fármaco pode ser afetada também, pela solubilidade do fármaco nas secreções, pH da cavidade e viscosidade das secreções nasais. Esta última ocorre porque a camada de muco sendo muito fina ou muito grossa, em termos de viscosidade, pode interromper o

movimento ciliar alterando o tempo de contato do fármaco com a mucosa (ARORA, SHARMA, GARG; 2002).

A via nasal possui suas limitações relacionadas ao seu uso na administração de medicamentos. Estas envolvem, por exemplo, uma barreira enzimática presente no muco nasal, composta por enzimas de degradação (peptidases e proteases), que promovem um efeito semelhante ao metabolismo pré-sistêmico da via oral. Alguns estudos apontam o uso de inibidores de proteases e peptidases e também o desenvolvimento de pró – fármacos para evitar esse efeito e aumentar a estabilidade e permeabilidade dos fármacos. Outro obstáculo é a depuração mucociliar, que consiste em um mecanismo normal de defesa do organismo contra substâncias estranhas aderidas à mucosa. A depuração limpa o muco juntamente com alérgenos, bactérias, etc; e faz a drenagem desses resíduos para o trato gastrointestinal. Por isso, quando um medicamento é administrado via nasal, pode ocorrer sua retirada pela depuração em até aproximadamente 20 minutos. Dessa maneira, a redução da depuração (através de medicamentos, mudanças hormonais, condições ambientais e patológicas, etc) pode aumentar o tempo de contato do fármaco com a mucosa e conseqüentemente, aumentar a sua permeabilidade (ARORA, SHARMA, GARG; 2002). Para que esses problemas sejam evitados, se estuda a possibilidade de fatores que potencializem a absorção nasal, e estes incluem, por exemplo, alterações nas propriedades físicoquímicas dos fármacos (solubilidade, pKa, coeficiente de partição), estruturas que afetam a membrana da mucosa nasal (microesferas, lipossomas e géis) (TÜRKER, 2004) e também os chamados sistemas mucoadesivos (MAINARDES et al., 2006).

A via nasal, portanto, pode ser considerada como uma alternativa promissora no que se refere à administração de fármacos, e, atualmente, já se conhece seu potencial como rota para terapias locais, sistêmicas e para sistemas de liberação controlada de fármacos e vacinas (GAVINI *et al.*, 2006). Devido às suas características, pode ser capaz de promover rápido alcance das concentrações plasmáticas ideais e melhor atividade farmacológica com menor dose, evitando o metabolismo hepático (TÜRKER, 2004).

3.3 MUCOADESÃO

A bioadesão pode ser definida como o estado em que dois materiais, dentre os quais pelo menos um é de natureza biológica, são mantidos juntos por um período prolongado de tempo através de forças interfaciais. No caso em que um dos elementos em contato é uma mucosa, chama-se o fenômeno de mucoadesão (SMART, 2005).

Ao se tratar de rápida absorção de fármacos, as mucosas são alvo de grande interesse, pois possuem relativa permeabilidade e vascularização (JASTI; LI; CLEARY, 2003). O muco presente na camada epitelial das mucosas é um gel fluido composto por glicoproteínas, dentre as quais, a mucina é a mais importante, sais inorgânicos e aproximadamente 95% de água (SMART, 2005). As funções do muco variam de acordo com o tipo de epitélio que recobre, mas em geral, protege e lubrifica o local onde se encontra. Sua espessura pode variar de 50 a 450 μm no estômago, para menos que 1 μm na cavidade oral (SMART, 2005). A mucosa mais utilizada para administração e absorção de fármacos é a gastrointestinal (JUNGINGER; THANOU; VERHOEF, 2006), mas outras vias também são estudadas, como a ocular, bucal, vaginal, retal, oral, periodontal

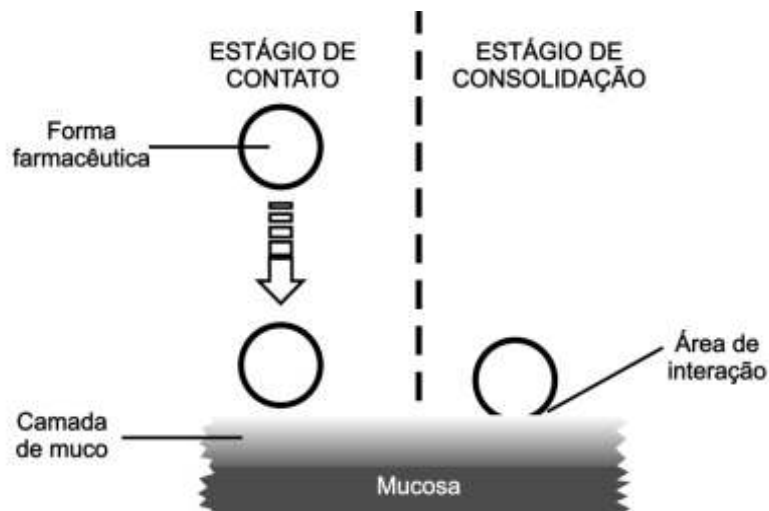
(BRUSCHI *et al.*, 2007; HÄGERSTRÖM, 2003; WOODLEY, 2001) e a via nasal, a qual é o foco deste trabalho.

O alto índice de hidratação da mucosa, no caso, a mucosa nasal, é essencial para o desenvolvimento dos sistemas, pois existem mecanismos mucoadesivos dependentes da água presente no muco, como o intumescimento de polímeros, interações por ligações de hidrogênio ou aumento da viscosidade, como no caso de tensoativos liotrópicos (EVANGELISTA, 2006). Alguns destes mecanismos de mucoadesão estão dispostos a seguir.

3.4 MECANISMOS DE MUCOADESÃO

O mecanismo de mucoadesão ainda não está totalmente elucidado, porém, sabe-se que normalmente ocorrem duas etapas: o estágio de contato e o estágio de consolidação, como pode ser visto na Figura 3.

Figura 3: Etapas da mucoadesão. Fonte: CARVALHO *et al.*, 2010b.



No primeiro estágio, a formulação mucoadesiva e a mucosa se tocam, havendo o espalhamento e intumescimento do material mucoadesivo (HÄGERSTROM, 2003). Já o estágio de consolidação consiste na interpenetração das cadeias do material mucoadesivo e das macromoléculas presentes no muco. Em ambas as etapas de mucoadesão ocorrem interações e entre a mucosa e a formulação mucoadesiva; logo, a adesão dependerá da prevalência de interações atrativas, em detrimento àquelas repulsivas. Além disso, pode ocorrer a formação de ligações tanto químicas como mecânicas, o que promove uma maior área de contato entre a formulação e a mucosa, contribuindo para a adesividade (SMART, 2005).

De acordo com a literatura, existem alguns mecanismos básicos que permeiam o fenômeno da mucoadesão e envolvem, por exemplo, ligações específicas com receptores celulares (invasinas). Há também o aumento da viscosidade quando o sistema encontra algum estímulo fisiológico, chamados também de sistemas de gelificação *in situ*, como os poloxâmeros, goma gelana e sistemas precursores de CL; e há também a mucoadesão através de interações eletrônicas, como a QS, e de pontes de hidrogênio, como os derivados do ácido poliacrílico (SMART, 2005; CARVALHO, 2010a).

Conhecidos por sua capacidade de mucoadesão, os polímeros formadores de hidrogéis têm sua propriedade possivelmente explicada pela Teoria da Adsorção, na qual o material mucoadesivo se adere ao muco por interações químicas secundárias, como ligações de Van der Waals, ligações de hidrogênio, atração eletrostática ou interações hidrofóbicas (HÄGERSTROM, 2003; HUANG *et al.*, 2000; LEE PARK; ROBINSON, 2000; SMART, 2005; CARVALHO *et al.*; 2010b). Isso ocorre devido a estes polímeros possuírem

em sua estrutura um grande número de hidroxilas responsáveis por intensificar as ligações de hidrogênio entre a molécula e a mucosa.

3.5 MATERIAIS MUCOADESIVOS

O interesse em sistemas mucoadesivos tem levado cientistas a delinear numerosos polímeros e sistemas para essa função (ANDREWS; LAVERTY; JONES, 2008). Há um amplo emprego de polímeros derivados do ácido poliacrílico, como, por exemplo, o PF, C971 e C974 os quais são formadores de hidrogéis. Os hidrogéis possuem alta afinidade pela água e são capazes de absorver grandes quantidades de solvente: a diferença de pressão osmótica entre o sistema e o muco provoca o movimento da água de um para outro e o contato com a água provoca intumescimento dos hidrogéis, limitado pelo grau de reticulação e entrelaçamento das cadeias poliméricas (HOFFMAN, 2002).

Outro exemplo de material mucoadesivo empregado em sistemas de liberação é a QS, um polímero semi-sintético obtido da desacetilação da quitina. Este polímero tem características hidrossolúveis e é carregado positivamente, fato este que explica o mecanismo de mucoadesão da QS envolvendo interações eletrônicas com os grupos siálicos da mucina na camada de muco, além de promover a absorção de moléculas hidrofílicas pela promoção da reorganização estrutural das proteínas associadas às junções intercelulares (JANES, CALVO, ALONSO, 2001; BRAVO-OSUNA *et al.*, 2007). A QS também é conhecida por promover a abertura transitória das junções celulares, propriedade muito explorada na promoção da permeação de fármacos (ILLUM, 2007).

Dentre as novas formas de liberação com potencial para mucoadesão, destacam – se os sistemas tensoativos, que possuem também a capacidade de aumentar a eficácia terapêutica de fármacos, permitindo a redução da dose administrada e minimizando

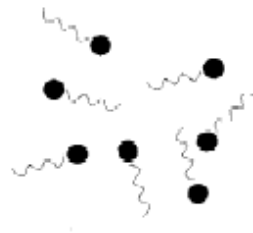
efeitos colaterais potenciais dos fármacos (BHARGAVA et al., 1987). Alguns destes sistemas possuem a propriedade de formar CLs altamente organizados quando em contato com fluídos aquosos, pois sofrem mudanças em sua estrutura formando uma fase mais viscosa (BOYD et al., 2006).

3.6 SISTEMAS TENSOATIVOS

Os sistemas tensoativos com propriedades liotrópicas são bastante estudados em vista do seu potencial de formação de uma matriz mucoadesiva para liberação de fármacos (BOYD et al., 2006).

Os tensoativos convencionais são moléculas anfipáticas, ou seja, possuem uma região polar (cabeça) e uma região apolar (cauda) (LAWRENCE, REES, 2000), e podem ser representados como na Figura 4.

Figura 4: Moléculas de tensoativos – Fonte: LAWRENCE, REES; 2000.



Dependendo da composição, este tipo de sistema pode ser estruturado em ME e CL. As ME são sistemas transparentes, homogêneos, termodinamicamente estáveis de dois líquidos imiscíveis (geralmente água e óleo), estabilizados por um filme de compostos tensoativos localizado na interface água/óleo. A ME é conhecida por sua isotropia (não desvia a luz polarizada) e fluidez, já os CL são anisotrópicos (desviam a luz polarizada) e possuem características viscoelásticas. Sua estabilidade termodinâmica

oferece vantagens sobre as dispersões instáveis, tais como emulsões e suspensões, podendo ser utilizada por um tempo muito mais amplo. Por isso, do ponto de vista farmacêutico, os sistemas compostos por tensoativos podem fazer com que um fármaco lipofílico seja disperso em um meio aquoso, ou vice – versa (OLIVEIRA *et al*, 2004).

Uma das condições para formação de ME e CL é o abaixamento da tensão interfacial que muitas vezes não é conseguido apenas com a adição de um tensoativo. Adiciona-se então, outra molécula anfipática chamada de co – tensoativo, que muitas vezes é um álcool de cadeia média (AULTON, 2005; PRISTA, 1996). Deste modo, o sistema é estabilizado pela orientação termodinamicamente favorável de cada região da molécula anfipática para a fase com que há maior afinidade, isto é, as cabeças polares voltadas para a fase aquosa e as cadeias carbônicas voltadas para a fase oleosa (Figura 5), e isso resulta na otimização da solvatação e diminuição da energia livre. Além disso, algumas estruturas, representadas na Figura 6, são formadas como resultado do arranjo dos tensoativos e co – tensoativos. (LAWRENCE, REES; 2000).

Figura 5: Organização das moléculas de tensoativo e co – tensoativo na interface óleo/água. γ : tensão interfacial – Fonte: OLIVEIRA *et al*, 2004.

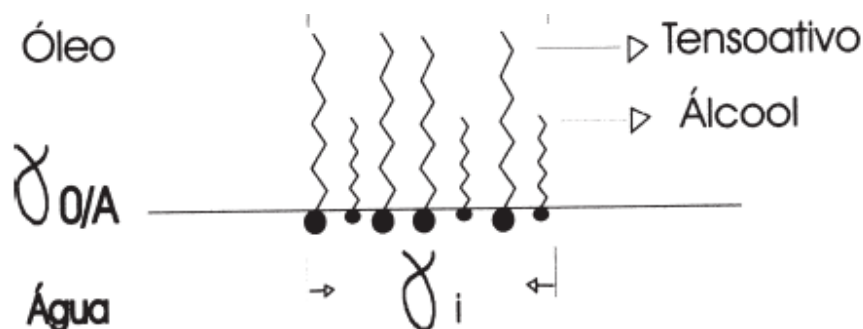
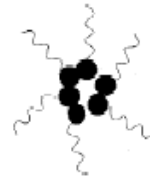


Figura 6: Tipos de estruturas micelares formadas por fase aquosa, fase oleosa e tensoativo – Fonte: LAWRENCE, REES; 2000.



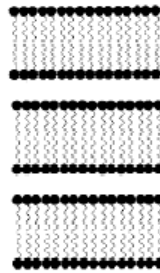
Micela esférica



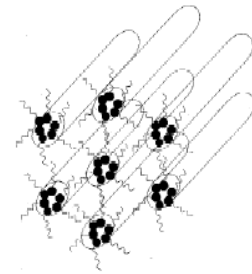
Micela reversa



Fase hexagonal



Fase lamelar



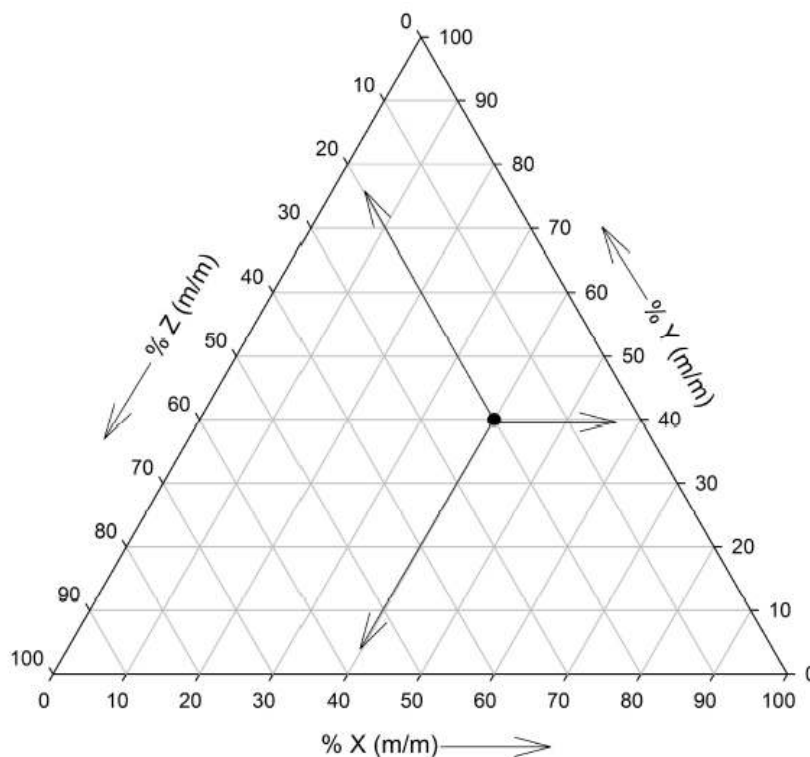
Fase hexagonal reversa

A possibilidade de formar ME e CL depende do balanço entre as propriedades hidrofílicas e lipofílicas do tensoativo, determinadas não somente pela estrutura química, mas também por fatores como temperatura, força iônica e co – tensoativos. Resumidamente, pode – se dizer que a energia livre presente na formação das CL depende do quão capaz é o tensoativo de diminuir a tensão interfacial do sistema, assim como a variação de entropia (LAWRENCE, REES; 2000). Uma das teorias disponíveis para se explicar a formação destes sistemas é originada do conceito da “Tensão Negativa Transiente na Interface”, na qual a energia livre varia diretamente com a

tensão interfacial. Então, se a variação de energia livre for negativa, a emulsificação espontânea será possível (OLIVEIRA et al., 2004). Assim, com o equilíbrio hidrófilo – lipófilo adequado, proporciona – se a condição de máxima solubilização do óleo e da água e a formação das ME (MITTAL, 1999).

A escolha criteriosa dos componentes na preparação dos sistemas compostos por tensoativos leva a resultados diversos, os quais podem ser analisados através de um diagrama de fases. Isso significa que o comportamento das fases resultantes da mistura de água, óleo e tensoativo pode ser visto pela preparação de um diagrama de fases ternário, no qual cada eixo representa a porcentagem de um componente da fórmula (Figura) (LAWRENCE, REES; 2000).

Figura 7 :Ilustração esquemática do diagrama de fases ternário (MALMSTEN,2002)



É importante ressaltar que nem toda combinação de componentes é capaz de formar ME e CL, algumas vezes, essa capacidade é extremamente limitada. Assim, o procedimento mais utilizado para construir o diagrama consiste no preparo de amostras binárias contendo diferentes proporções óleo e tensoativo, e posteriormente, realiza – se a titulação com pequenas quantidades de água, seguida de agitação, e avaliando o comportamento do sistema depois de cada adição (LAWRENCE, REES; 2000). Em resumo, evidenciam – se as proporções adequadas para cada formulação em forma de regiões delimitadas no diagrama (AULTON, 2005).

Pode – se afirmar, portanto, que nos últimos anos, tem aumentado o interesse na aplicação de ME e CL como sistemas de liberação de fármacos, já que esses sistemas são capazes de compartimentalizar uma substancia ativa e direcioná – la aos sítios onde deverá exercer o efeito farmacológico, além de controlar a velocidade de liberação sem alterar a estrutura química da molécula transportada (OLIVEIRA et al., 2004). São capazes de melhorar a solubilização de fármacos lipofílicos em água, fornecer proteção contra hidrólise enzimática e aumentar o potencial de absorção devido à presença do tensoativo (FORMARIZ *et al*, 2005).

Tendo isto em vista, nosso grupo de pesquisa vem estudando sistemas tensoativos compostos por PRO o qual possui a característica de promover mudanças de fase com o aumento de água (CARVALHO, 2010a). Este mecanismo vem sendo explorado como estratégia para prolongar o tempo de residência do fármaco na cavidade nasal, ou seja, promover a mucoadesão, o que pode representar uma alternativa terapêutica mais eficiente, que possibilite a administração do fármaco com mais segurança e com efeitos colaterais minimizados.

4. OBJETIVO

Caracterizar sistemas baseados no tensoativo PRO visando o desenvolvimento de um sistema mucoadesivo de liberação para potencial administração nasal de AZT .

4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Estudar a capacidade de incorporação de polímeros mucoadesivos como o PP, C971, C974 e QS em MEs compostas por AO, PRO e água (precuradoras de CL em ambiente nasal).
- ✓ Quantificar o AZT nos sistemas.
- ✓ Avaliar a possível contribuição dos polímeros para o melhoramento das propriedades mucoadesivas da formulação.
- ✓ Avaliar o potencial sinergismo que estes polímeros podem conferir ao sistema em relação às propriedades mucoadesivas, visando o desenvolvimento de um sistema de liberação controlada para potencial administração nasal de AZT.

5. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

5.1. MATERIAIS

- Álcool cetílico etoxilado 20 OE e propoxilado 5 OP, Procetyl®, Croda;
- Ácido oléico, Synth, Brasil;
- Água deionizada Milli Q;
- Carbopol® 971P, Lubrizol, Cleverland, EUA
- Carbopol® 974P, Lubrizol, Cleverland, EUA
- Cloreto de sódio, cloreto de potássio, cloreto de cálcio dihidratado
- Mucina tipo II crua de estômago suíno, Sigma-Aldrich;
- Mucosa nasal de porcos domésticos
- Noveon® AA-1, Lubrizol, Cleverland, EUA (Policarbofil)
- Quitosana
- Zidovudina, Fundação para o Remédio Popular, FURP.

5.2 EQUIPAMENTOS

- Ultraturrax - Turratec TE-102, Tecnal, Piracicaba, Brazil
- Texturômetro TAXTplus - Stable Micro Systems, Surrey, Inglaterra
- Centrifuga, Sorval TC 6 Du Pont
- Cubetas de quartzo para espectrofotometria, capacidade 5 mL, caminho óptico de 1 cm – Spectrocell;
- Espectrofotômetro de UV-VIS, Hewlett Packard 8453, com HP UV-Visível ChemStation Software;
- Microscópio de Luz Polarizada, Jenamed 2, Carl Zeiss – Jena
- Reometro Rheostress RS1 modelo Haake, Karlsruhe, Germany

6. MÉTODOS

6.1 CONSTRUÇÃO DO DIAGRAMA DE FASES

Os sistemas compostos pelo tensoativo PRO foram previamente desenvolvidos no trabalho de Carvalho, 2010a e, resumidamente, sua obtenção está descrita a seguir.

O diagrama de fases ternário foi obtido pela titulação aquosa das misturas contendo o tensoativo PRO combinado com ácido oleico nas proporções 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 e 9:1. A água foi adicionada pausadamente com uma micropipeta, gotejando-se pouco a pouco um volume de 0,5 mL. Após cada adição, os sistemas foram homogeneizados com auxílio de um bastão de vidro e mantidos em repouso por 24 h. No caso de formação de bolhas, os sistemas foram mantidos em repouso até sua eliminação.

As mudanças de fases foram identificadas visualmente e o percentual (p/p) de cada componente foi calculado e os respectivos sistemas foram preparados novamente para serem analisados por MLP. Os cálculos também foram utilizados para a construção do diagrama de fases ternário, utilizado o software Sigma Plot 10.

6.2 CARACTERIZAÇÃO DOS SISTEMAS POR MICROSCOPIA DE LUZ POLARIZADA (MLP)

A caracterização por MLP foi realizada utilizando um microscópio de luz polarizada Axioskop 40. As amostras foram preparadas colocando uma pequena quantidade do sistema em estudo sobre uma lâmina e coberta com lamínula. As imagens foram obtidas num aumento de 20.000 ×.

De acordo com o campo visualizado, é possível classificar os sistemas quanto à isotropia e anisotropia. Sobre um plano de luz polarizada, a amostra é anisotrópica se for capaz de desviar o plano da luz incidente e isotrópica se não desviar a luz. Cristais líquidos liotrópicos lamelares e hexagonais são anisotrópicos e sua organização estrutural resulta em campos de visualização característicos, como as cruces de Malta no caso da fase lamelar ou estrias no caso da fase hexagonal. Já a fase cúbica, ou mesmo sistemas micelares, 46 MEs e emulsões são isotrópicos e apenas um campo escuro é observado (GOODBY *et al.*, 1998).

6.3 AVALIAÇÃO DA INCORPORAÇÃO DOS POLÍMEROS NO SISTEMA

Em ME compostas por 35% de AO, 55% de PRO e 15% de fase aquosa (p/v) (Figura 7), foram incorporados os polímeros C971, C974, PF e QS. Para isso, géis destes polímeros foram preparados em diferentes concentrações (0,1%, 0,5% e 1% p/v) por meio da dispersão dos pós destes polímeros em água. As dispersões foram submetidas à agitação magnética e o pH ajustado para 6 com trietanolamina. A QS foi dispersa em solução de ácido acético glacial 0,75 % v/v. Todas as dispersões foram mantidas em agitação magnética até a completa homogeneização.

As dispersões foram adicionadas nas ME como fase aquosa e foram denominadas MEC971, MEC974, MEPF e MEQS, respectivamente para as MEs contendo C971, C974, PF e QS. As amostras foram mantidas em agitador de tubos durante 24 horas em temperatura controlada de 25 °C. Após este ensaio, as amostras foram centrifugadas por 10 min a 3500 rpm para separação do polímero não incorporado. As amostras foram visualizadas em microscópio de luz polarizada para verificar se a adição dos polímeros alterou as características estruturais da ME.

6.4 QUANTIFICAÇÃO DO AZT NOS SISTEMAS

Foi desenvolvida e validada uma metodologia analítica por espectroscopia UV, segundo o Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) da Resolução – RE no 899 de 2003 (BRASIL, 2003). Os seguintes parâmetros foram analisados: curva de calibração, linearidade, especificidade e seletividade, precisão e exatidão, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).

No ensaio de incorporação, 3 g de AZT foi adicionado em 3 g de amostra e estas foram mantidas sob agitação constante por 48h a 25 °C. As formulações foram centrifugadas (centrífuga Du Pont, Sorvall TC 6) a 3800 rpm por 20 minutos e, com os sobrenadantes, foram feitas diluições para quantificação por espectroscopia UV, em comprimento de onda 266 nm. Os valores de concentração de AZT foram obtidos através da substituição dos valores de absorvância na equação da reta obtida a partir da curva de calibração.

6.5 ANÁLISE REOLÓGICA DE FLUXO

Para os ensaios de fluxo foi utilizado o reômetro (HAAKE RHEO STRESS 1 – THERMO ELECTRON CORPORATION), disponível no laboratório de Cosmetologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP. As formulações foram testadas à temperatura controlada de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ utilizando geometria de placa-placa separadas por uma distância fixa de 0,2 mm. Nestas condições, apenas uma placa se move, criando um fluxo laminar em camadas (SCHRAMM, 2006). As amostras foram colocadas na placa inferior, de modo a promover o menor cisalhamento possível, juntamente com um tempo de repouso de 2 minutos entre cada teste, o que permite o relaxamento da tensão induzida antes da análise. Neste ensaio, também conhecido como ensaio de escoamento, a velocidade de cisalhamento foi variada de 0 a 500 1/s.

6.6 TESTES DE MUCOADESÃO

Os testes de mucoadesão foram realizados com o objetivo de avaliar determinados parâmetros e comportamentos das formulações em um ambiente nasal simulado. Para isso, os testes tiveram suas temperaturas controladas a 32°C (temperatura do ambiente nasal) e, para alguns testes, foi adicionado às amostras, muco artificial (MA), composto por 8 % (p/v) de mucina, 7,45 mg/ml de NaCl, 1,29 mg/ml KCl e 0,32 mg/ml de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ e pH ajustado para 6 (CALLENS *et al.*, 2003), na proporção (1:1v/v).

6.6.1 COMPORTAMENTO DE FASES NO AMBIENTE NASAL SIMULADO

As MEs adicionadas com os polímeros PF, C971, C974 e QS foram misturadas com MA na proporção 1:1 e as mudanças de fase dos sistemas foram observadas através de MLP.

6.6.2 CARACTERIZAÇÃO DA MUCOADESÃO POR REOLOGIA OSCILATÓRIA

Os sistemas foram misturados com MA na proporção 1:1 (v/v) e submetidos à análise oscilatória a 32°C. Assim, foi possível estudar as mudanças reológicas dos sistemas quando entram em contato com o muco. O teste de oscilação realizado foi o de varredura de frequência. As formulações foram estudadas com solicitações oscilatórias para determinar a evolução dos módulos de armazenagem (G') e de perda (G'') em função da frequência (0,01 Hz a 30 Hz) a uma tensão de amplitude oscilatória fixa de 1 Pa, obtida a partir da região viscoelástica linear.

6.6.3 CARACTERIZAÇÃO DA MUCOADESÃO POR ANÁLISE DO PERFIL DE TEXTURA (TPA)

Para a caracterização mecânica dos sistemas misturados ao MA, foi utilizado um analisador de textura TA-XT plus (Stable Micro Systems, Surrey, Inglaterra), disponível no departamento de Fármacos e Medicamentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, no modo TPA. (*Texture profile analysis*). Neste, a prova analítica (10 mm de diâmetro) desce a uma velocidade constante de 1 mm/s, entra na amostra a uma profundidade definida (10 mm), e volta até a superfície a uma velocidade de 0,5 mm/s. Após este primeiro ciclo, a prova permanece em repouso por 5 s, quando então inicia a segunda

compressão. Durante estes dois ciclos foi possível obter valores de dureza da amostra, trabalho de adesão, trabalho de compressão e coesão.

6.6.4 ENSAIO DE OBTENÇÃO DA FORÇA DE MUCOADESÃO

A mucoadesão dos sistemas foi avaliada através da medida da força necessária para remover as formulações a partir de uma mucosa artificial ou animal, utilizando um texturômetro TAXTplus (Stable Micro Systems, Surrey, Inglaterra), equipamento este que possui um braço móvel, no qual é possível adaptar a mucosa. Em tempos pré-determinados, formulação e mucosa podem ser separados a uma velocidade constante até a ocorrer a separação entre as superfícies. Durante toda a medida, é obtida a curva força-tempo, com a qual é possível obter o trabalho de adesão – área sob a curva durante a fase de separação.

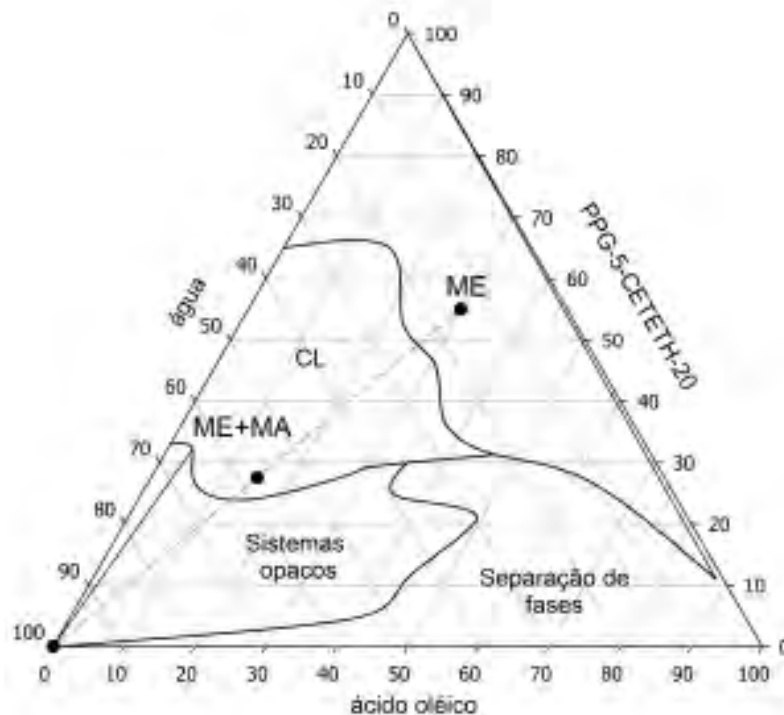
Foram utilizados dois modelos de mucosa, um artificial e outro animal. O modelo de mucosa artificial utilizado foi um disco de mucina (crua, tipo II de estômago suíno, Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemanha) preparado através da compressão direta de 250 g do pó em máquina de compressão. A mucosa animal utilizada foi obtida de porcos domésticos provenientes de abatedouro local e preparada segundo a metodologia adaptada de Hägerström, Paulsson e Edsman (2000). As cavidades nasais foram separadas através de uma incisão ao longo do septo nasal, a mucosa foi removida com auxílio de uma pinça e tesoura cirúrgica e mantida em banho de gelo imersa em muco artificial até o momento da análise. No momento da análise, foram avaliados o pico de mucoadesão (Pa) e o trabalho de mucoadesão (Ta), ou seja, a área sob a curva determinada durante a fase de destaque entre a formulação e a mucosa.

7. RESULTADOS

7.1 CONSTRUÇÃO DO DIAGRAMA DE FASES

A Figura mostra o diagrama de fases obtido no estudo de Carvalho 2010a, em que ME foi o sistema escolhido para caracterização. Este sistema possui características liotrópicas adequadas ao estudo, pois sua diluição aquosa promove a mudança de fase para CL. Assim, esta transformação foi explorada como ponto de partida para o estudo e desenvolvimento de sistemas mucoadesivos.

FIGURA 8: Diagrama ternário de fases obtido no estudo de Carvalho (2010a). (SM) muco artificial, (LC) Cristal líquido, (1,2 e 3) formulações estudadas.



7.2 AVALIAÇÃO DA INCORPORAÇÃO DOS POLÍMEROS NO SISTEMA

Já são presentes na literatura muitos estudos que utilizam polímeros como meio de aumentar as propriedades mucoadesivas de formulações (VYAS *et al.*, 2006a; 2006b; VYAS, SHAHIWALA, AMIJI; 2008) e, da mesma maneira, nosso estudo procurou avaliar o comportamento de alguns polímeros em relação à sua contribuição para formulações previamente desenvolvidas por Carvalho *et al.*, 2010a. Sendo assim, foram escolhidos os polímeros C971P, C974P, PF e QS que, neste teste, foram analisados quanto à suas capacidades de incorporação nos sistemas tensoativos.

Como resultado, somente a menor concentração (0,1%) manteve os sistemas límpidos, transparentes e estáveis (Figura 9a). Sendo que a análise em MLP identificou um campo escuro, característico de ME (Figura 9b), e isso é bastante importante para a estabilidade da formulação. Obteve-se turbidez na incorporação de concentrações maiores (0,5% e 1%) de PF, C971 e C974, como mostra a Figura 10a, e precipitação no caso da QS (Figura 10a e 10b), o que pode significar que houve desestabilização dos sistemas tensoativos (Figura 10c) ao incorporar concentrações maiores.

Figura 9: Ensaio de incorporação do PF, C971 e C974 nos sistemas tensoativos.

a) Amostras com concentrações 0,1%, 0,5% e 1% com turvação nas duas últimas.

b) MLP da amostra de 0,1% revelando campo escuro, característico de ME.

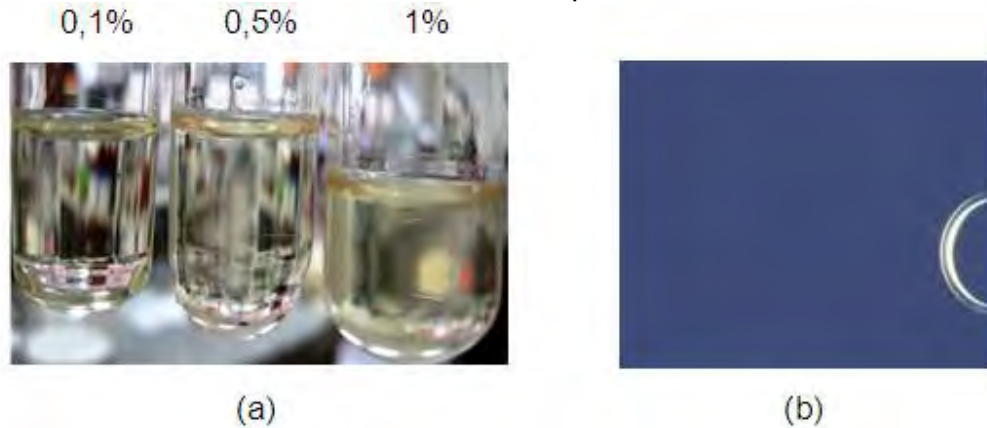
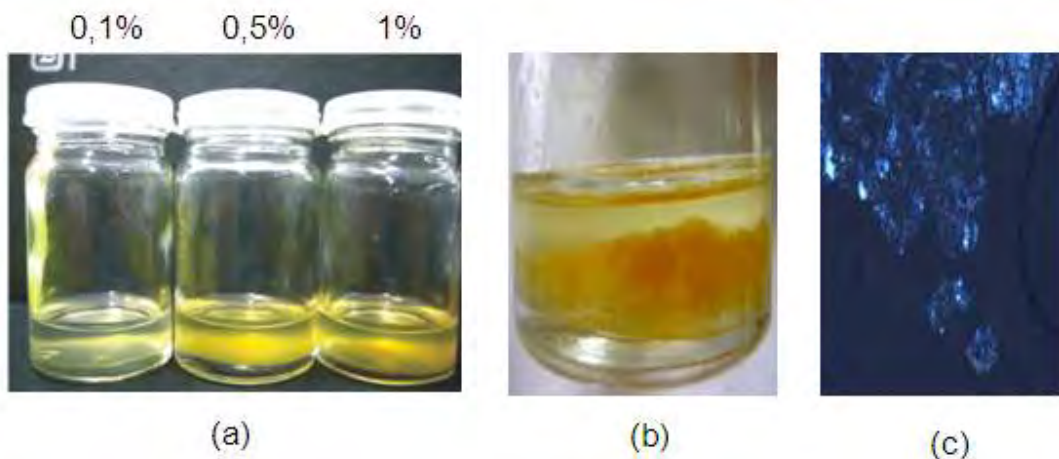


Figura 10: Ensaio de incorporação da QS nos sistemas tensoativos. a) Amostras com concentrações 0,1%, 0,5% e 1% com precipitação nas duas últimas. b) Precipitação nas amostras de maior concentração. c) Microscopia de luz polarizada das amostras de 0,5% e 1% revelando desestruturação do sistema.



7.3 QUANTIFICAÇÃO DO AZT NOS SISTEMAS ESCOLHIDOS

Foi necessária a construção de duas curvas de calibração: uma para amostras contendo componentes oleosos (ME, MEPF, MEC971, MEC974, MEQS, AO), que foi feita solubilizando as amostras em etanol, e outra em água para as demais amostras com

componentes hidrossolúveis (PRO, PF, C971, C974, QS). Os parâmetros que validaram ambas as curvas estão resumidos abaixo

- ✓ *Curva de calibração em etanol:* $y = 0,0335x + 0,0795$, cujos coeficientes de variação da inclinação e do y-intercepto foram, respectivamente, 7,33% e 7,57%. A linearidade foi constatada pelo coeficiente de determinação $r^2 = 0,9978$.
- ✓ *Precisão e exatidão:* os coeficientes de variação foram menores que 5% e os valores de recuperação obtidos estão dentro dos limites estipulados pela ANVISA (2003), como pode ser visualizado na Tabela 2.

Tabela 2: Cálculo da precisão e exatidão do método de quantificação do AZT nos sistemas tensoativos dissolvidos em etanol por espectroscopia UV.

Concentração teórica de AZT (ug/ml)	Média (ug/ml)	DP	CV (%)	Recuperação (%)
20	19.91	0.94	4.71	99.56
35	31.62	1.31	4.16	90.34
50	47.67	2.53	5.30	95.34

- ✓ *Limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ):* as três curvas de calibração obtidas para o cálculo do LD e LQ foram:

$$y = 0,0335x + 0,0795; r^2 = 0,9953;$$

$$y = 0,0336x + 0,0746; r^2 = 0,9898;$$

$$y = 0,0380x + 0,0683; r^2 = 0,9939.$$

Com as três curvas calculou-se o desvio padrão dos y-interceptos ($DP_{y\text{-intercepto}} = 0,005615$) e a média das inclinações ($M_{\text{inclinação}} = 0,0350$). Substituindo-se estes valores nas equações (1) e (2), o LD e LQ obtidos foram de 0,481 µg/mL e 1,603 µg/mL, respectivamente.

$$LD = \frac{DP_{y\text{-intercepto}} \times 3}{M_{\text{inclinação}}} \quad (\text{Equação 1})$$

$$LQ = \frac{DP_{y\text{-intercepto}} \times 10}{M_{\text{inclinação}}} \quad (\text{Equação 2})$$

- ✓ *Curva de calibração em água:* $y = 0,0331x + 0,0512$, cujos coeficientes de variação da inclinação e do y-intercepto foram, respectivamente, 1,36% e 9,70%. A linearidade foi constatada pelo coeficiente de determinação $r^2 = 0,9981$.
- ✓ *Precisão e exatidão:* os valores obtidos estão dentro dos limites estipulados pela ANVISA (2003), como pode ser visualizado na Tabela 3.

Tabela 3: Cálculo da precisão e exatidão do método de quantificação do AZT nos sistemas tensoativos dissolvidos em água.

Concentração teórica de AZT (ug/ml)	Média (ug/ml)	DP	CV (%)	Recuperação (%)
20	3.01	0.22	7.41	120.25
35	9.82	0.37	3.75	98.21
50	40.75	2.18	5.34	101.88

- ✓ *Limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ):* as três curvas de calibração obtidas para o cálculo do LD e LQ foram:

$$y = 0,0331x + 0,0492; r^2 = 0,9959;$$

$$y = 0,0326x + 0,0569; r^2 = 0,9958;$$

$$y = 0,0335x + 0,0476; r^2 = 0,9991.$$

Com as três curvas calculou-se o desvio padrão dos y-interceptos ($DP_{yintercepto} = 0,0049$) e a média das inclinações ($Minclinação = 0,0331$). Substituindo-se estes valores nas equações (1) e (2), o LD e LQ obtidos foram de 0,45 µg/mL e 1,50 µg/mL, respectivamente.

Com as metodologias desenvolvidas e validadas, foi possível quantificar a concentração de AZT incorporada nos sistemas tensoativos e construir a Tabela _.

A partir desta análise, foi possível verificar que as ME cujas fases aquosas foram substituídas pelas dispersões dos polímeros PF, C971, C974 e QS mostraram valores de incorporação do AZT (demonstrados na Figura 10) menores, mas semelhantes aos da ME pura, o que pode ser explicado pelo mecanismo de intumescimento dos polímeros. Os polímeros hidrofílicos possuem a propriedade de aumentar a viscosidade quando em contato com a água, o que ocorre devido ao grande número de hidroxilas presentes em suas estruturas. Isto faz com que, na formulação contendo polímeros, as moléculas de água sejam ocupadas por ligações de hidrogênio com as hidroxilas dos polímeros e haja menos água disponível para solubilização do AZT.

Tabela 4: Ensaio de incorporação do AZT nas formulações e seus componentes isolados

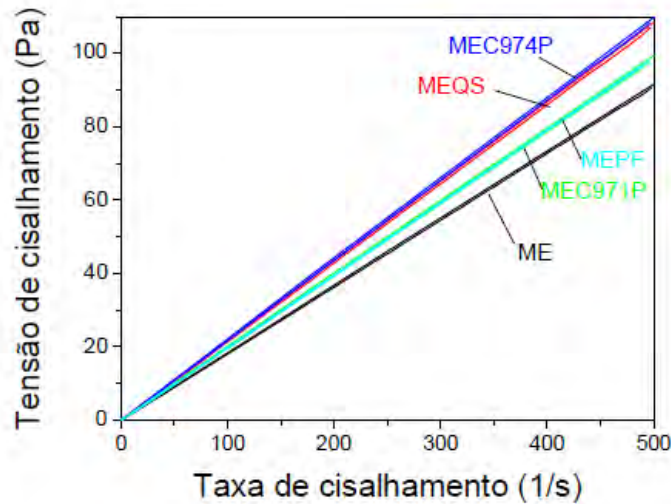
Amostras	AZT incorporado em mg/ml	DP
ME	35.17	1.06
MEPF	28.74	1.37
MEC971	36.59	1.43
MEC974	25.84	1.37
MEQS	14.20	0.78
PRO	33.69	0.27
AO	4.16	0.30
PF	20.11	0.63
C971	20.89	0.35
C974	12.87	0.82
QS	17.72	0.76

7.4 ANÁLISE REOLÓGICA DE FLUXO

O ensaio de fluxo permite caracterizar o comportamento do líquido como newtoniano ou não-newtoniano. No caso do fluxo ser newtoniano a viscosidade não é afetada pela taxa de cisalhamento e, quando o líquido não apresenta este comportamento, é considerado não-newtoniano.

A correlação entre a tensão de cisalhamento e a taxa de cisalhamento está representada na Figura 10 e mostraram que as MEs possuem comportamento newtoniano, ou seja, não tem a sua viscosidade alterada em função da taxa de cisalhamento, pois descreve uma reta na curva de fluxo. Além disso, a incorporação de polímeros mucoadesivos não afetou o comportamento de fluxo e continuaram a descrever uma reta na curva. Isto descreve um resultado satisfatório, pois para permitir a administração nasal, o sistema deve ser líquido suficiente para permitir seu gotejamento.

Figura 11: Reogramas de fluxo da ME e o efeito da substituição da fase aquosa por dispersões dos polímeros mucoadesivos.



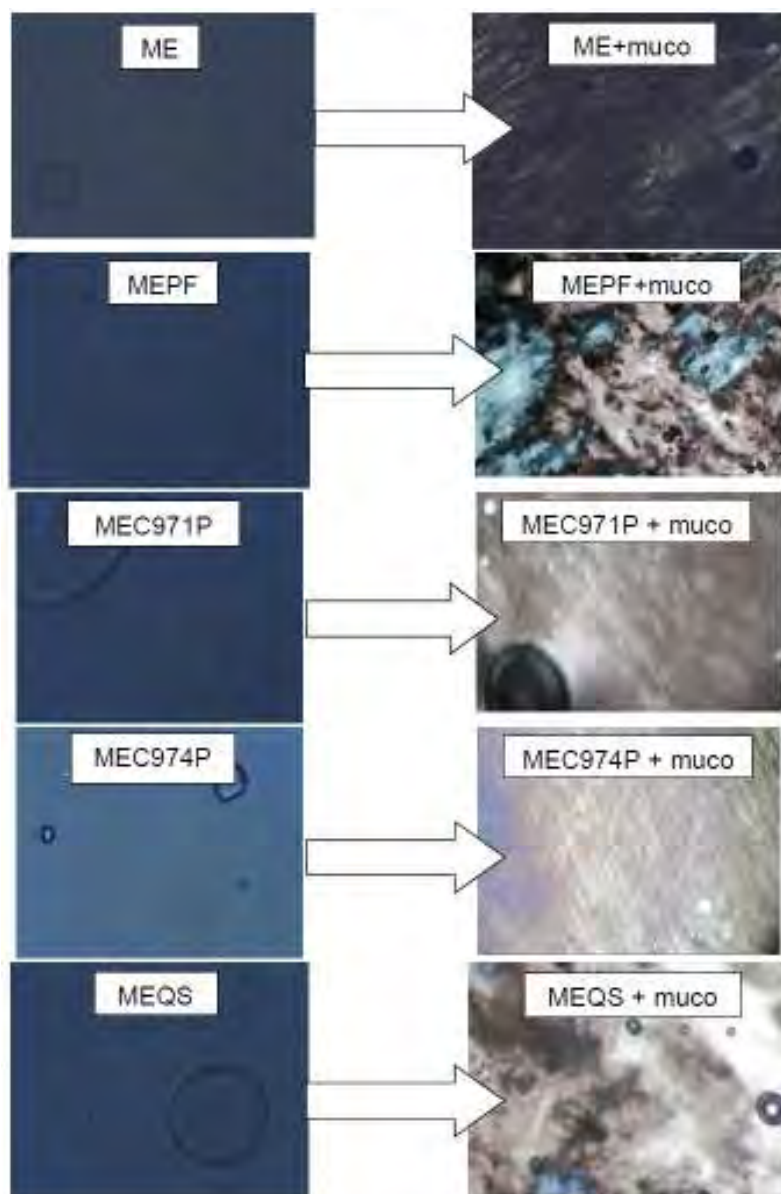
7.5 TESTES DE MUCOADESÃO

7.5.1 COMPORTAMENTO DE FASES NO AMBIENTE NASAL SIMULADO

Nesta avaliação, as MEs contendo PF, C974, C971 e QS foram misturadas ao MA na proporção 1:1 (v/v) para simular o momento em que a formulação entra em contato com o muco na cavidade nasal. Sabe-se que o mecanismo de bioadesão das MEs estudadas consiste basicamente no aumento da viscosidade promovido pela mudança de fases destes sistemas. Logo, é importante que o contato com a água do MA promova esta transformação.

Os resultados obtidos (Figura 11) são promissores, pois em todas as MEs contendo os polímeros houve a mudança de fase microemulsionada para fases hexagonais, tipicamente mais viscosas. Isto significa que as formulações são sistemas potencialmente formadores de CL quando em contato com o muco e a presença dos polímeros não interferiu nesta propriedade.

Figura 12: Efeito do MA nos sistemas tensoativos analisados por MLP.

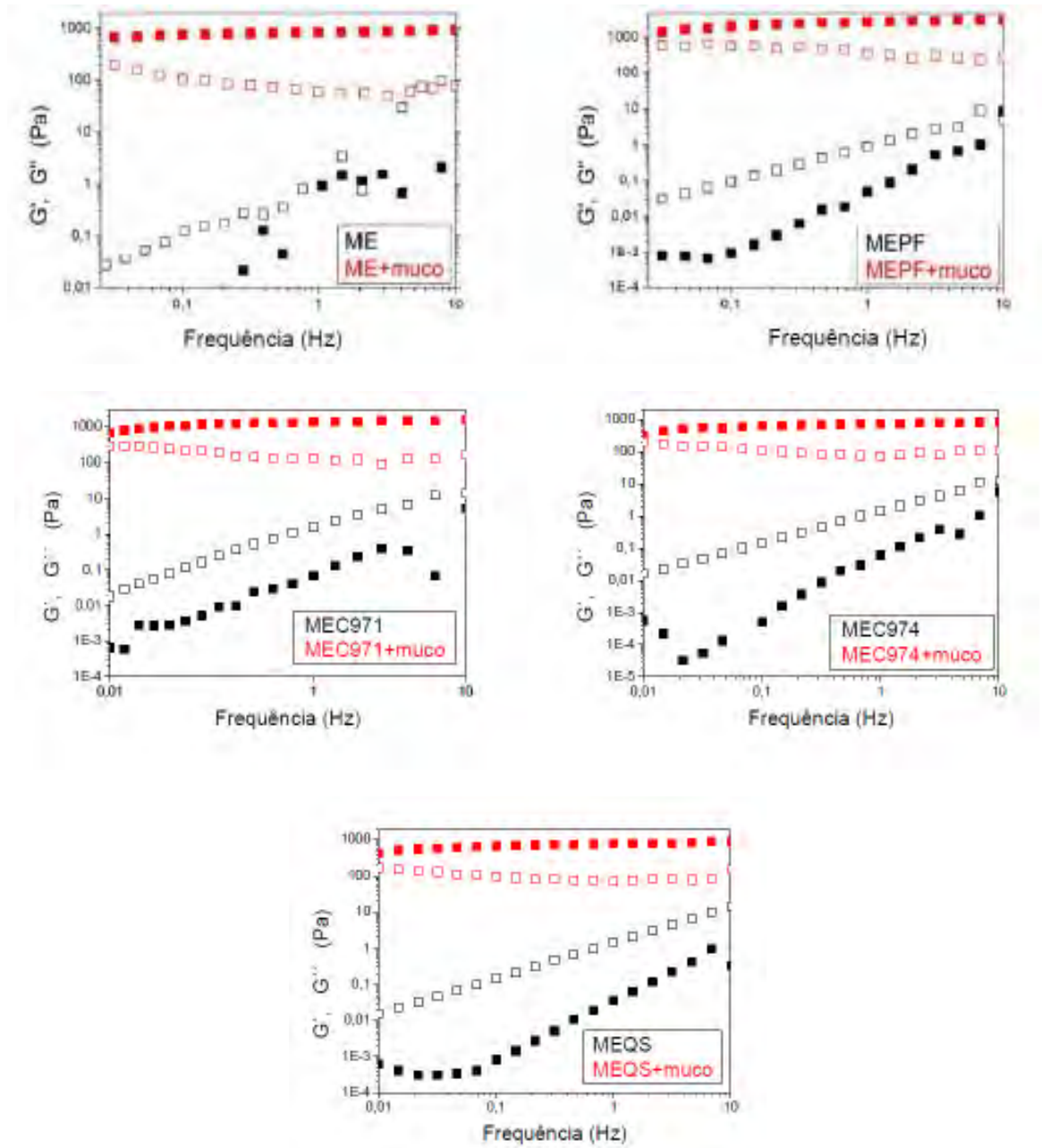


7.5.2 CARACTERIZAÇÃO DA MUCOADESÃO POR REOLOGIA OSCILATÓRIA

Por definição, G' ou módulo de armazenamento, indica que a energia de tensão é temporariamente armazenada durante o teste, porém pode ser recuperada mais tarde, representando o comportamento semelhante ao de um sólido. Já G'' define um comportamento no qual a energia utilizada para iniciar o fluxo é irreversivelmente perdida, sendo transformada em calor de cisalhamento, característica marcante de amostras líquidas (SCHRAMM, 2006).

Com a adição do MA às formulações, houve mudança de fase das MEs para estruturas típicas de CL e conseqüentemente houve um aumento na viscosidade dos sistemas. Portanto, os resultados $G' > G''$ indicaram maior resistência da formulação à deformação. Isso significa que a transformação das formulações fez com os sistemas passassem a ter um comportamento mais semelhante ao de sólidos do que ao de líquidos que era característico da ME, em que $G' < G''$. Assim, pode-se dizer que os sistemas possuem sinergismo reológico que, em outras palavras, descreve um aumento do módulo elástico de uma amostra com muco em detrimento a outra isolada. Os gráficos da Figura 12 mostram os resultados deste teste.

Figura 13: Efeito da adição do MA nas propriedades viscoelásticas dos sistemas microemulsionados. Símbolos fechados: G' ; símbolos abertos: G'' .



7.5.3 CARACTERIZAÇÃO DA MUCOADESÃO POR TPA

Não foi possível realizar uma comparação entre as formulações sem muco, pois o teste exige que uma força de resistência seja estipulada, afim de que a prova analítica comece a fazer as medições a partir do contato com a amostra e, no caso das ME sem muco, o sistema permanece líquido, sem impor a resistência necessária para o teste. Ao adicionarmos o MA, a formação do CL permitiu a análise no texturômetro, uma vez que o aumento da viscosidade impõe a resistência necessária para o teste. Como mostra a Figura 13, os parâmetros de compressibilidade e adesividade, as formulações ME e MEQS foram as que obtiveram os maiores valores, seguidas MEPF, MEC974 e MEC971.

A compressão representa a força necessária para comprimir a amostra a partir do momento em que a prova entra em contato com a mesma. É o valor do trabalho, calculado através da área sob a curva obtida durante todo o ciclo de entrada da prova na amostra. Observou-se uma diminuição da força de compressão quando foram adicionados os polímeros à ME. Apesar da adição dos polímeros não ter interferido na mudança de fase da ME, houve a formação de uma estrutura menos rígida, que permitiu a diminuição da força de compressão das amostras, o que pode ter ocorrido devido à interferência dos polímeros na formação da fase hexagonal, ou seja, a estrutura do CL se formou, porém com deficiências provocadas pelos polímeros que tornaram o sistema não tão rígido, a ponto de tornar esta característica visível nos valores de compressão.

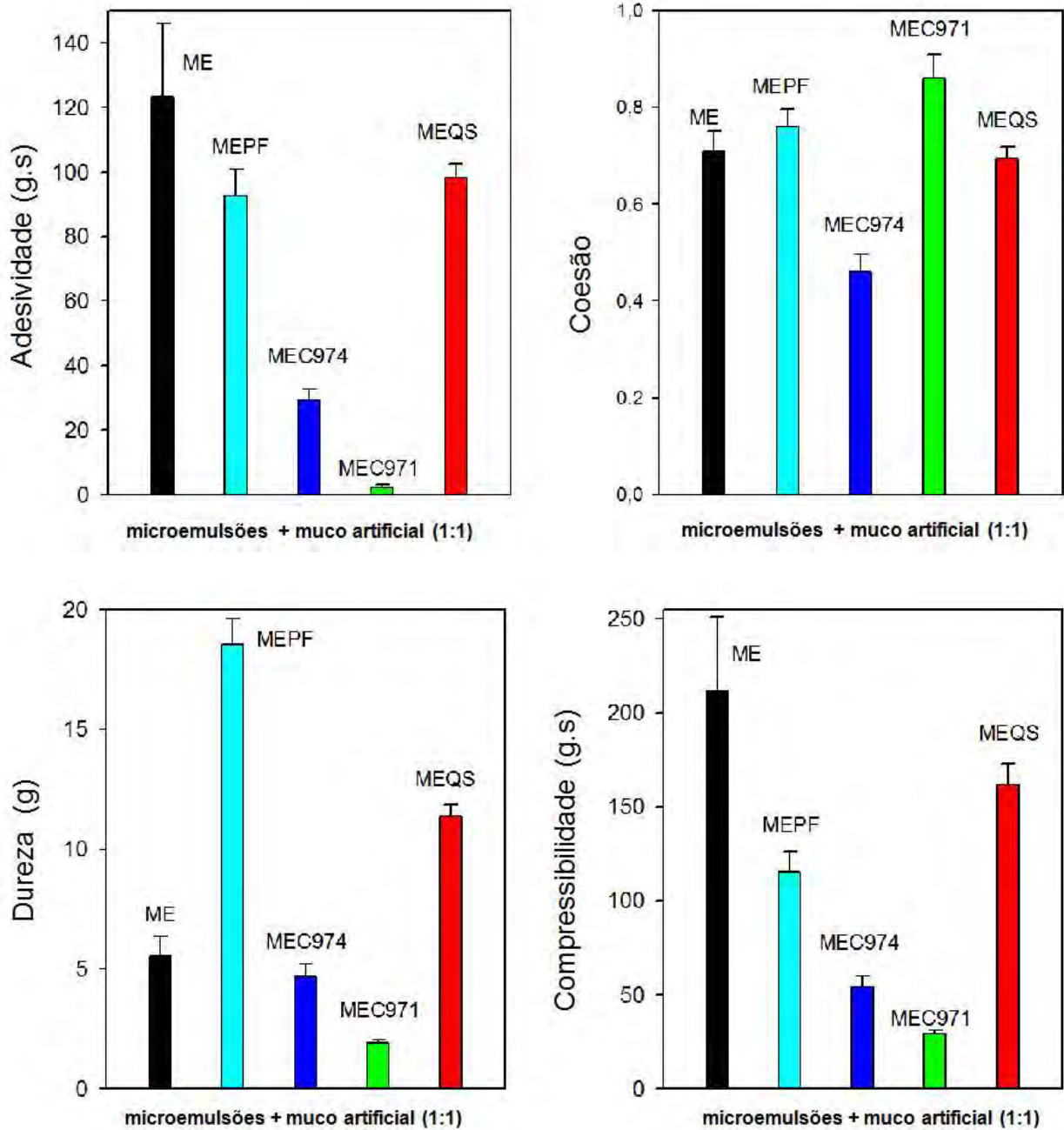
O mesmo comportamento foi verificado no caso da adesão, sendo que estes parâmetros puderam ser relacionados, uma vez que o aumento da

compressibilidade foi sempre acompanhado pelo aumento da adesão. A adesão é descrita como a área negativa presente na curva força \times tempo formada durante a primeira compressão, e representa o trabalho requerido para vencer as forças atrativas entre a superfície da prova e a amostra. Houve a diminuição dos valores de adesão das formulações com o polímero em relação a ME, o que possivelmente pode ser explicado pelos valores de coesão, também representados nos gráficos da Figura 13.

A coesão é a taxa em que a amostra se desintegra sob uma ação mecânica, ou seja, mede a interação que as moléculas da amostra possuem entre si, logo, quanto maiores as forças de interação entre as moléculas da formulação, menor será a interação com a prova, o que diminui os valores de adesão.

Na Figura 13, constam os valores de dureza, que é definida como o pico de força máxima necessária para penetrar na amostra, obtida durante a primeira compressão. A análise mostrou valores de comportamento semelhante aos de compressão e adesão, e isso se deve ao aumento da rigidez dos sistemas devido à formação da matriz cristalina. A exceção foi a formulação contendo PF, que mostrou uma dureza bastante elevada. Porém, a dureza é verificada pelo teste como a medida de apenas um único ponto e, por isso, para se avaliar a rigidez de um sistema, são utilizados outros parâmetros, que possuem maior robustez, como a compressibilidade (medida através da área) ou os parâmetros reológicos.

Figura 14. Parâmetros obtidos na caracterização mecânica por teste TPA para as amostras de ME pura e contendo polímeros mucoadesivos.



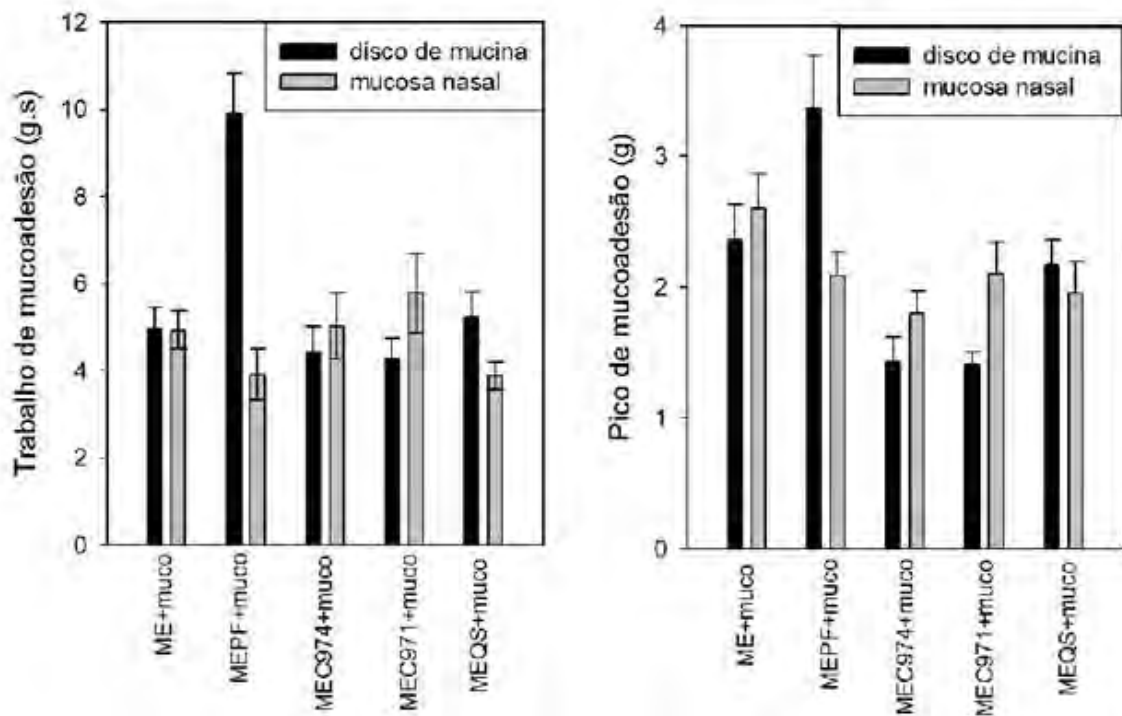
7.5.4 ENSAIO DE OBTENÇÃO DA FORÇA DE MUCOADESÃO

Os resultados obtidos foram organizados em gráficos representados na da Figura 14. O pico de mucoadesão (P_a) e o trabalho de mucoadesão (T_a) não diferiram muito, tanto com o disco de mucina como com a membrana mucosa. Também não houve diferença significativa entre as formulações, com exceção do resultado da ME+PF testada em disco de mucina, que mostrou resultados muito maiores.

A diferença da formulação contendo PF pode ser explicada pelos outros parâmetros obtidos nos testes anteriores, já que esta formulação ME+PF+MA obteve altos valores de G' nos testes de reologia e altos valores de dureza no teste TPA.

É importante que sejam testados diferentes modelos de mucosa para que o mecanismo de mucoadesão seja bem compreendido. Neste caso, pode-se sugerir que a mucoadesão ocorra através do aumento da viscosidade promovido pela mudança de fases e pelo sinergismo reológico e, como todas as ME demonstraram o mesmo perfil de sinergismo reológico, os valores dos parâmetros de força mucoadesivos foram semelhantes. De acordo com a literatura, sabe-se que a ligação mucoadesiva pode ocorrer também através de interações moleculares da formulação com a mucina. No caso do teste com o disco, a mucina encontrava-se em excesso, o que pode ter favorecido este tipo de ligação com o PF, ou seja, pode ser sugerido que este polímero tem uma maior afinidade pelas moléculas presentes na mucina, mostrando maiores valores de mucoadesão.

Figura 15: Ensaio de mucoadesão dos sistemas tensoativos misturados com MA, utilizando mucosa artificial (disco de mucina) e animal (mucosa nasal suína) feita através do texturômetro.



8. DISCUSSÕES

O objetivo do presente trabalho foi caracterizar sistemas baseados no tensoativo PRO, visando o desenvolvimento de um sistema mucoadesivo de liberação para potencial administração nasal de AZT. Como estratégia, foi utilizado um sistema previamente estudado por Carvalho, 2010a composto pelo tensoativo PRO e capaz de formar diferentes mesofases devido ao seu comportamento liotrópico em presença de fase aquosa. A partir deste sistema, estudou-se o mecanismo de mucoadesão em seus diferentes aspectos, além dos testes abordarem também se a incorporação de polímeros hidrofílicos não mudariam as propriedades liotrópicas do sistema.

A primeira análise foi o comportamento de fases realizado por Carvalho, 2010a, que construiu um diagrama de fases ternário relacionando as quantidades de água, AO e PRO. Foi identificado um ponto em que as quantidades promoviam a formação de um sistema límpido, transparente e fluido caracterizado por uma ME adequada para administração nasal. Neste ponto, a diluição aquosa resulta na formação de uma matriz mais viscosa de CL e este comportamento foi abordado, uma vez que o mesmo pode ocorrer *in vivo*, quando a formulação entra em contato com a água presente no muco da cavidade nasal.

O teste seguinte avaliou o comportamento de polímeros hidrofílicos quando incorporados ao sistema ME. O PF, a QS, o C971 e o C974 foram incorporados adequadamente ao sistema somente na concentração de 0,1%. Apesar da baixa quantidade de polímero, as formulações se mantiveram estáveis e pôde-se notar diferenças significativas no que se refere às propriedades adesivas da formulação avaliadas nos experimentos posteriores.

Foi avaliada a capacidade de incorporação do AZT nas formulações. Estas foram comparadas com água. Os resultados mostraram que os sistemas incorporaram mais AZT do que a solução aquosa. O que é uma vantagem no que se refere a sistemas para administração nasal, pois um pequeno volume deve conter a dose administrada.

A caracterização reológica de fluxo testou a formulação ME sem os polímeros e, posteriormente, com a adição dos mesmos e permitiu uma análise do comportamento das formulações em relação ao seu escoamento e taxa de cisalhamento. A formulação ME descreveu um fluxo newtoniano, ou seja, o escoamento é fluido como o de um líquido e sua viscosidade não é alterada com o cisalhamento. Além disso, a adição dos polímeros

não alterou esta propriedade. Isto se mostrou muito importante em termos de administração, pois a fluidez pode promover maior conforto ao paciente no momento da administração.

A caracterização da mucoadesão pode ser realizada pela associação de diversas técnicas, como os testes reológicos em associação ao texturômetro. As condições experimentais de ambos são diferentes e as técnicas podem ser complementares. A reologia e o teste TPA investigaram as mudanças do sistema na presença do muco. No entanto, estas técnicas não deram informações no que ocorre na interface sistema-mucosa, pois as duas fases – muco e formulação – foram misturadas previamente ao experimento. Desta maneira, o texturômetro foi adaptado para medir a força mucoadesiva criando-se artificialmente uma interface entre formulação e mucosa (JONES, LAWLOR, WOOLFSOON. 2002; EXPONENT LITE, 2009).

Na avaliação do comportamento de fases das formulações em ambiente nasal, os resultados foram positivos, pois todas as formulações sofreram mudanças para fases tipicamente mais viscosas e a adição dos polímeros não interferiu nesta propriedade. Isto mostra que as formulações são potencialmente formadoras de CL em ambiente nasal simulado e o aumento da viscosidade pode contribuir para aumentar o tempo de permanência da formulação na cavidade nasal.

Posteriormente realizou-se a avaliação da mucoadesão por reologia oscilatória. Foi observado que os polímeros não interferiram no aumento de G' promovido pelo MA, no teste de sinergismo reológico, o que representa uma característica positiva, pois não muda a capacidade da ME de mudar de fase quando em contato com o muco. Esta característica é essencial para a formulação, uma vez que o potencial mucoadesivo da

ME consiste justamente no aumento da viscosidade, que faria com que a formulação permanecesse por mais tempo na cavidade nasal, resistindo à depuração.

Já no teste TPA, a adição de polímeros na fase aquosa do sistema ME foi interessante, ao passo que a incorporação permitiu o aumento de parâmetros mecânicos, como a dureza no caso do sistema MEPF e MEQS. O que se esperava era que a presença dos polímeros nas formulações representasse um aumento na mucoadesão. E os resultados mostraram que a adição dos carbômeros C971 e C974 e da QS resultou em uma mucoadesão semelhante à da ME, porém, no caso do PF, esta capacidade foi aumentada, mostrando que a incorporação deste polímero pode favorecer a mucoadesão do sistema. Já a ME+PF mostrou altos valores de pico e trabalho de mucoadesão no teste com o disco de mucina, o que pode ser explicado pela possível interação que o PF tem com as moléculas de mucina, além dos valores de G' do MEPF+MA que também se mostraram elevados.

Pode-se sugerir, portanto, que os sistemas de liberação, baseados no tensoativo PRO são sistemas potenciais para o uso em via nasal, pois possuem características de incorporação do fármaco, parâmetros reológicos e parâmetros mecânicos favoráveis. Este estudo demonstrou que a via nasal é uma alternativa promissora e que é possível aumentar a eficiência da terapêutica de um fármaco através do desenvolvimento de um sistema de liberação mucoadesivo.

Através desta pesquisa foi possível pensar em uma rota alternativa para a administração de AZT, aplicando as propriedades liotrópicas de um tensoativo e explorando suas propriedades mucoadesivas. O estudo permitiu identificar um sistema no

qual a solubilização do AZT é maior do que nas formulações existentes no mercado, o que se torna uma grande vantagem, pois seria necessária uma menor quantidade de formulação para administrar a mesma quantidade de fármaco. Com este trabalho foi possível adaptar técnicas físico-químicas convencionais como reologia e teste TPA para mensurar um efeito biológico como a mucoadesão. Logo, este trabalho pode ser um ponto de partida para futuros estudos que desejam desenvolver sistemas mucoadesivos em geral.

9. CONCLUSÃO

De acordo com os experimentos realizados, pode-se concluir que é possível delinear sistemas compostos pelo tensoativo PRO com características físico-químicas e reológicas favoráveis à administração nasal. Segundo os resultados obtidos, os polímeros mucoadesivos PP, C971, C974 e QS puderam ser incorporados nas MEs e, além disso, estes polímeros se mostraram eficazes na formulação por não interferirem em propriedades importantes do sistema, como a mudança de fase microemulsionada para fase hexagonal e o comportamento de fluxo. O PF foi capaz de aumentar significativamente alguns parâmetros mecânicos e reológicos, como a dureza, e módulo de armazenamento. Isso torna estes polímeros, em especial o PF, aptos a serem utilizados em associação com sistemas tensoativos de liberação controlada de fármacos e potenciais aliados na pesquisa de uma formulação que melhore as condições de administração e terapia.

Com os resultados obtidos foi possível atingir o objetivo deste trabalho em caracterizar potenciais sistemas tensoativos para administração nasal de AZT, além de avaliar o comportamento destes sistemas quando combinados com polímeros hidrofílicos.

Este estudo se mostrou importante e abre caminho a novas perspectivas para o desenvolvimento de sistemas e novas formulações que melhorem a terapia e o tratamento da AIDS.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREWS, G.P.; LAVERTY, T. P.; JONES, D. S. Mucoadhesive polymeric platforms for controlled drug delivery, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2008.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Resolução – RE nº 899, de 29 de maio de 2003. *Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos*. Disponível em: <http://www.anvisa.org.br>.

ARORA, P.; SHARMA,S.; GARG, S. Permeability issues in nasal drug delivery. *DDT*, v. 7, p. 967-975, 2002

AULTON, M. E. Delineamento de formas farmacêuticas. 2.ed. Porto Alegre: Artmed. 2005.

BHARGAVA, H.N.; NARURKAR, A.; LIEB, L.M. Using microemulsions for drug delivery. *Pharm. Technol.*,Duluth, v.3, p.46-54, 1987.

BOZZI, A.; D'ANDREA G.; BRISDELLI, F. AZT: An Old Drug With New Perspectives. *Current Clinical Pharmacology*, 2008. Dept. of Biomedical Sciences and Technologies, University of L'Aquila, Via Vetoio, 67100 L'Aquila, Italy

BOYD, B. J.; WHITTAKER, D. V.; KHOO, S. M.; DAVEY, G. Lyotropic liquid crystalline phases formed from glycerate surfactants as sustained release drug delivery systems. *Int. J. Pharm.*, v. 309, p. 218-226, 2006.

Bravo-Osuna, I.; Vauthier, C.; Farabollini, A.; Palmieri, G. F.; Ponchel, G. Mucoadhesion mechanism of chitosan and thiolated chitosan-poly(isobutyl cyanoacrylate) core-shell nanoparticles. *Biomaterials*, v. 28, p. 2233-2243, 2007.

BRUSCHI, M. L.; JONES, D.S.; PANZERI, H.; GREMIÃO, M.P.D.; FREITAS, O.; LARA, E.H.G. Semisolid Systems Containing Propolis for the Treatment of Periodontal Disease: In Vitro Release Kinetics, Syringeability, Rheological, Textural, and Mucoadhesive Properties. *J. Pharm. Sci.*, v. 96, p. 2074–2089, 2007.

CARVALHO, F.C. Desenvolvimento e caracterização de sistemas nanoestruturados para potencial administração nasal de zidovudina. Araraquara: Universidade Estadual Paulista, 2010a. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

CARVALHO, F. C.; BRUSCHI, M. L. B.; EVANGELISTA, R. C; GREMIÃO, M. P. D. Sistemas mucoadesivos para liberação de fármacos. *Rev. Bras. Ciênc. Farm.*, 2010b. *In press*.

CHARLTON, S.; JONES, N. S.; DAVIS, S.S.; ILLUM, L. Distribution and clearance of bioadhesive formulations from the olfactory region in man: Effect of polymer type and nasal delivery device. *Eur. J. Pharm. Sci.*, v. 3, p. 295–302, 2007

EVANGELISTA, R. C. Sistemas de liberação controlada de fármacos. Araraquara: Tese (Livre Docência), 2006, 345 f. (Texto sistemático apresentado à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", como parte dos requisitos do concurso para obtenção do Título de Livre-Docente em Farmacotécnica).

FORMARIZ, T. P. URBAN, M. C. C.; SILVA JUNIOR, A. A.; GREMIÃO, M. P. D; OLIVEIRA, A. G. Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. Rev. Bras. Cienc. Farm., v.41, no.3, p.301-313, 2005

GAVINI, E.; HEGGE, A. B.; RASSU, G., SANNA, V.; TESTA, C.; PIRISINO, G.; KARLSEN, J.; GIUNCHEDI, P. Nasal administration of Carbamazepine using chitosan microspheres: In vitro/in vivo studies. Int. J. Pharm., v. 307, p. 9–15, 2006.

GOODBY, J. W.; GRAY, G.; SPIESS, H. W.; VILL, V. Handbook of Liquid Crystals, v. 1. Berlin: Wiley-VCH, 1998. p. 17-23.

GOODMAN, L. S. Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica. 11. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2006.

HÄGERSTRÖM, H. Polymer Gels as Pharmaceutical Dosage Forms: Rheological performance and physicochemical interactions at the gel-mucus interface for formulations intended for mucosal drug delivery. Upsala: Acta Universitatis Upsaliensis, 2003. n. 293, 76p. (Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Pharmacy).

Hoffman, A. S. "Hydrogels for Biomedical Application". Advanced Drug Delivery Reviews, 43, 3-12, 2002

HUANG, Y.; LEOBANDUNG, W.; FOSS, A.; PEPPAS, N. A. Molecular aspects of muco- and bioadhesion: Tethers structures and site-specific surfaces. J. Control. Rel., v. 65, p. 63-71, 2000.

ILLUM, L. Nanoparticulate Systems for Nasal Delivery of Drugs: A Real Improvement over Simple Systems? J. Pharm. Sci., v. 96, n. 3, 2007.

Janes, K.A.; Calvo, P.; Alonso, M.J. Polysaccharide colloidal particles as delivery systems for macromolecules, Adv. Drug Del. Rev., v. 47, p. 83-97, 2001.

JASTI, B.; LI, X.; CLEARY, C. Recent Advances in mucoadhesive drug delivery systems. Drug Del. Pol. Business Briefing: Pharmatech, p. 194-196, 2003

JUNGINGER, H. E.; THANOU, M.; VERHOEF, J. C. Drug Delivery: Mucoadhesive Hydrogels. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, 2006. Disponível em: <<http://www.informaworld.com/10,1081/E-EPT-100000408>>. Acesso em: 06 nov. 2008.

LAWRENCE, M. J.; REES, G. D. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* v. 45, p. 89-121, 2000.

LEE, J.W.; PARK, J.H.; ROBINSON, J.R. Bioadhesive-based dosage forms: The next generation. *J. Pharm. Sci.*, v. 89, p. 850-866, 2000. Lee; Park; Robinson, 2000;

MAINARDES, M. M. Desenvolvimento de nanopartículas de PLA e PLA-PEG para administração intranasal de zidovudina. Araraquara: Universidade Estadual Paulista, 2007. 137f. Tese (Mestrado em Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara

MAINARDES, R. M.; URBAN, M. C. C.; CINTO, P. O.; CHAUD, M. V.; EVANGELISTA, R. C.; GREMIÃO, M. P. D. Liposomes and Micro/Nanoparticles as Colloidal Carriers for Nasal Drug Delivery. **Curr. Drug Delivery**, v. 3, p. 275-285, 2006.

MALMSTEN, M. Surfactants and polymers in drug delivery. *Drugs and the Pharmaceutical Sciences*. New York: Marcel Dekker, 2002.

MANDAL, T.K.; TENJARLA, S. Preparation of biodegradable microcapsules of zidovudine using solvent evaporation: Effect of the modification of aqueous phase. *Int. J. Pharm.*, v. 137, p.187-197, 1996.

Ministério da Saúde – Recomendações para terapia anti – retroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV; Brasília, 2006.

MITTAL, L.K. Handbook of microemulsion science and technology. New York: Promod Kumar, 1999. p.1-13.

OLIVEIRA, A. G.; SCARPA, M. V.; CORREA, M. A.; CERA, L. F. R.; FORMARIZ, T. P. Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos. *Quim. Nova*, v. 27, n. 1, p. 131-138, 2004.

GOODMAN, L. S. Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica. 11. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2006.

OH, S.Y.; JEONG, S.Y.; PARK, T.G.; LEE, J.H. Enhanced transdermal delivery of AZT (zidovudine) using iontophoresis and penetration enhancer. *J. Control. Release*, v.51, p.161-168, 1998.

OJEWOLE, E.; MACKRAJ, I.; NAIDOOA, P.; GOVENDER, T. Exploring the use of novel drug delivery systems for antiretroviral drugs. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2008.

PRISTA, L.N.; ALVES, A.C.; MORGADO,R. Tecnologia farmacêutica Volume II 4ªed. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa, Portugal. 1996.

SCHRAMM, G. Reologia e reometria: fundamentos teóricos e práticos. São Paulo: Artliber, 2006.

SILVA, P. Farmacologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 7.ed. 2006. p.1081.

SMART, J.D. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. Adv. Drug Del. Rev., n. 57, p. 1556-1568, 2005.

THOMAS, N.S.; PANCHAGNULA, R. Transdermal delivery of zidovudine: effect of vehicles on permeation across rat skin and their mechanism of action. Eur. J. Pharm. Sci., v.18, p.71-79, 2003.

TRABULSI, L.R. ALTERTHUM, F. Microbiologia, 4ª Ed. São Paulo, Rio de Janeiro, Ribeirão Preto, Belo Horizonte, 2005

TÜRKER, S., ONUR, E., ÖZER, Y. Nasal route and drug delivery systems. Pharm. World Sct., v.26, p.137-142, 2004

VYAS, T. K.; BABBAR, A.K.; SHARMA, R. K.; SINGH ,S.; MISHA, A. Intranasal mucoadhesive microemulsions of clonazepam: preliminary studies on brain targeting. J. Pharm. Sci. 95, no.3, p.570-580, 2006a.

VYAS, T. K.; BABBAR, A. K.; SHARMA, R. K.; SINGH, S., MISHA, A.; Preliminary brain-targeting studies on intranasal mucoadhesive microemulsion of sumatriptan. AAPS Pharm. Sci. Tech. 7, artigo 8, 2006b.

Vyas T. K., Shahiwala A., Amiji M. M. Improved oral bioavailability and brain transport of saquinavir upon administration in novel nanoemulsion formulations. Int. J. Pharm., V. 347, pp. 93–101, 2008DOI:10.1016/j.ijpharm.2007.06.016

WOODLEY, J. Bioadhesion, new possibilities for drug administration? Clin. Pharmacokinet.,v. 40, n. 2, p. 77-84, 2001.