

Plataformas Bio(Muco) Adesivas Poliméricas Baseadas em Nanotecnologia para Liberação Controlada de Fármacos - Propriedades, Metodologias e Aplicações

Flávia Chiva Carvalho, Marlus Chorilli, Maria Palmira Daflon Gremião
*Departamento de Fármacos e Medicamentos,
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, UNESP*

Resumo: Nos últimos tempos, grande destaque tem sido dado no estudo de sistemas bio(muco)adesivos de liberação de fármacos, os quais podem promover um direcionamento e uma retenção mais específica do fármaco incorporado no sistema de liberação, empregando as mais variadas membranas de absorção do organismo. Esta plataforma tecnológica combinada com a nanotecnologia oferece possibilidades como a proteção e o controle da liberação; portanto, são excelentes estratégias para aumentar a biodisponibilidade de fármacos. O objetivo deste trabalho foi estudar as plataformas bio(muco)adesivas poliméricas baseadas em nanotecnologia para liberação controlada de fármacos, enfatizando suas propriedades, metodologias para mensuração e possíveis aplicações para diferentes vias de administração.

Palavras-chave: *Bio(muco)adesão, bioadesão, sistemas de liberação de fármacos, nanotecnologia, Mecanismos de bio(muco)adesão, medidas de bio(mucoadesão).*

Nanotechnology-based Polymeric Bio(muco)Adhesive Platforms for Controlling Drug Delivery - properties, Methodologies and Applications

Abstract: Studies using bio(muco)adhesive drug delivery systems have recently gained great interest, which can promote drug targeting and more specific contact of the drug delivery system with the various absorptive membranes of the body. This technological platform associated with nanotechnology offers potential for controlling drug delivery; therefore, they are excellent strategies to increase the bioavailability of drugs. The objective of this work was to study nanotechnology-based polymeric bio(muco)adhesive platforms for controlling drug delivery, highlighting their properties, how the bio(muco)adhesion can be measured and their potential applications for different routes of administration.

Keywords: *Bio(muco)adhesion, bioadhesion, drug delivery systems, nanotechnology, Bio(muco)bioadhesion mechanisms, Bio(muco)bioadhesion measurements.*

Introdução

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 tempo^[1-4]. O potencial desses sistemas consiste em prolongar o tempo de residência da preparação no local de ação ou absorção, intensificando o contato do fármaco com a barreira epitelial da pele ou mucosa^[1-5]. O aumento do tempo de residência da preparação farmacêutica no local, combinado com a liberação controlada, pode favorecer a manutenção da concentração efetiva no local de ação ou absorção e o controle da liberação do fármaco, podendo, com isso, aumentar a eficiência terapêutica e reduzir a dose e a frequência de administração de fármacos^[6].

Sistemas bioadesivos aplicados em mucosas frequentemente são definidos como mucoadesivos, mas os termos podem ser intercambiáveis. Há autores que definem sistemas mucoadesivos como aqueles que se ligam as moléculas da camada de muco, mas, na realidade, é difícil discernir se a interação ocorre na superfície celular ou entre as moléculas do material e da camada de muco. Também, para muitos materiais bioadesivos a interação acontece com as duas estruturas^[6].

Com o desenvolvimento de materiais adesivos mais eficientes, é possível conceber sistemas com propriedades bio(muco)adesivos mais adequados para veiculação de vários fármacos para serem administrados por diferentes vias e mucosas. Eles podem ser projetados para aderir tanto à pele quanto às mucosas e, assim, controlar a liberação, diminuindo os efeitos sistêmicos indesejáveis ou melhorar a absorção e o transporte de fármacos pela membrana biológica. Finalmente, com esses sistemas é possível desenvolver formulações com fármacos já existentes e produzir novos produtos com menores custos e com respostas terapêuticas mais adequadas^[7].

As principais estratégias empregadas no desenvolvimento de sistemas com propriedades mucoadesivas estão relacionadas com a habilidade do polímero ou sistema ficar aderido ao muco ou à pele. Para tanto o material deve interagir com os componentes do muco ou alterar sua estrutura por estímulos fisiológicos como pH, força iônica e temperatura. Entretanto, a eficiência de um sistema com propriedades mucoadesivas não está só na sua capacidade de aderir à

Autor para correspondência: *Maria Palmira Daflon Gremião, Departamento de Fármacos e Medicamentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – UNESP, Rod. Araraquara-Jaú, km 1, CEP 14801-902, Araraquara, SP, Brasil, e-mail: pgremliao@fcar.unesp.br*

mucosa durante um tempo, mas também na capacidade de liberar o fármaco nesta mucosa^[8].

O desenvolvimento de sistemas que prolonguem o tempo de residência no local de aplicação e ainda permitam o íntimo contato com a membrana biológica representa uma estratégia racional para aumentar a concentração local ou a permeabilidade do fármaco pela membrana biológica, e, conseqüentemente, melhorar sua absorção^[9].

As vantagens que sistemas de liberação bio(muco)adesivos oferecem no direcionamento e controle da liberação de fármacos têm levado cientistas a delinear numerosos sistemas poliméricos para serem aplicados nas mais variadas superfícies mucosas do organismo, tanto para efeitos locais como sistêmicos. Tendo em vista o crescente número de estudos que empregam plataformas tecnológicas bio(muco)adesivas, este trabalho tem como objetivo discutir as propriedades dos sistemas bio(muco)adesivos, os conceitos envolvidos, quais metodologias são utilizadas para mensurar a bio(muco)adesão, suas possíveis aplicações para diferentes vias de administração e como a nanotecnologia vem contribuindo para melhorar o seu desempenho.

Composição, Estrutura e Função do Muco

As mucosas do organismo humano possuem relativa permeabilidade e permitem a rápida absorção do fármaco. A mucosa mais utilizada para administração e absorção de fármacos é a gastrointestinal, mas outras membranas ou mucosas também têm sido estudadas, como a cutânea, nasal, ocular, bucal, vaginal, retal, oral e periodontal^[10-21].

A função do muco é proteger e lubrificar o epitélio para evitar que micro-organismos e substâncias sejam absorvidos. O muco é continuamente removido, conferindo uma proteção maior à mucosa. Este processo, entretanto, pode reduzir o tempo de residência e diminuir o gradiente de concentração do fármaco na camada de muco. É importante lembrar que algumas patologias podem afetar as propriedades, composição e espessura do muco^[11].

O muco contém glicoproteínas, lipídios, sais inorgânicos e cerca de 95% de água. A mucina é a glicoproteína que confere a estrutura de gel ao muco. Ela contém grandes quantidades de resíduos de serina, treonina e de prolina. Os oligossacarídeos N-ligados localizados nas extremidades dos monômeros de mucina correspondem a 40-80% do seu peso seco^[10]. Estes oligossacarídeos variam em tamanho e ramificação dependendo da localização da mucosa. Para proteger contra a degradação proteolítica por proteases digestivas, as cadeias de mucina devem ser longas e ramificadas. As moléculas de mucina podem emaranhar e reticular adesivamente e reversivelmente para formar um gel viscoelástico com o cisalhamento, que ocorre com os mecanismos fisiológicos, como os movimentos peristálticos no trato gastrointestinal. Embora a mucina seja considerada a principal responsável pelas propriedades de gel do muco, o comportamento viscoelástico é ainda regulado pelo teor de água, lipídios e íons presentes no muco, sendo essencial para a proteção e a lubrificação da mucosa^[11]. A espessura do muco pode

variado de 800 µm no trato gastrointestinal para menos que 1 µm na cavidade oral^[11].

Propriedades dos Sistemas Bio(Muco)Adesivos

A eficiência de sistemas de liberação de fármacos com propriedades mucoadesivas está relacionada não só na sua capacidade de aderir ao muco durante um período de tempo, mas também pela capacidade de modificar a liberação do fármaco^[11].

É possível delinear sistemas bio(muco)adesivos nas mais variadas formas farmacêuticas, uma vez que a propriedade da adesão depende das características do material utilizado na sua preparação e do muco^[22:23]. As características do polímero mucoadesivo empregado (peso molecular, concentração, flexibilidade das cadeias poliméricas, conformação espacial e grau de intumescimento e reticulação) estão intimamente relacionadas com seu desempenho, o qual também dependerá do ambiente biológico (pH, força aplicada e temperatura), tempo de *turnover* de mucina, espessura da camada de muco, condições da mucosa e do muco^[21]. A estrutura química do polímero determina algumas propriedades importantes na mucoadesão. A presença de grupos hidroxila, carboxila ou amina podem contribuir para o estabelecimento de ligações de hidrogênio ou pontes dissulfeto no caso de presença de grupos sulfidrílo. Polímeros com grupos ionizáveis podem atuar por interação eletrostática com o muco carregado negativamente, que é dependente do pH do meio^[24]. Há polímeros que intumescem ou aumentam a viscosidade quando entram em contato com algum estímulo fisiológico, sendo sua mucoadesão resultado da formação de uma matriz mais reticulada^[25].

Estes polímeros pode ser empregados no desenvolvimento dos mais diferentes tipos de sistemas de liberação, como sistemas sólidos multiparticulados^[26-29], sistemas líquidos, como microemulsões^[12:30], dispersões coloidais de polímeros bioadesivos^[7], sistemas semissólidos, como mesofases líquido cristalinas^[15:17] e hidrogéis^[31-33].

Métodos Utilizados para Estudar a Bio(Muco) Adesão

Embora os estudos dos mecanismos envolvidos na mucoadesão e o desenvolvimento de novos sistemas e polímeros mucoadesivos tenham evoluído nos últimos anos, ainda não há uma tecnologia desenvolvida especialmente para analisar a mucoadesão. A maioria dos testes foi adaptada de outros já existentes e são importantes para selecionar os materiais mucoadesivos mais promissores e também para estudar seus mecanismos de ação^[5].

Métodos baseados na medida da força de destacamento

Dentre os métodos encontrados na literatura, a maioria baseia-se na avaliação da força de adesão, ou seja, da força requerida para romper a ligação entre a membrana modelo e o material mucoadesivo^[2]. Para medida desta força, pode ser utilizado um analisador de

textura em que seja possível adaptar uma prova analítica na qual uma membrana modelo pode ser fixada e colocada em contato com a amostra a ser testada durante um tempo pré-determinado. A membrana modelo pode ser um disco de mucina em pó ou uma mucosa animal^[5:18:33-36]. A medida é realizada com a retirada da prova a uma velocidade constante até a separação das duas superfícies. A força necessária para a separação das duas superfícies é registrada, obtendo-se um gráfico de força *versus* tempo. Com este gráfico são calculados a área sobre a curva, sendo reportada como trabalho de bio(muco)adesão e o pico de bioadesão, que é a força máxima obtida durante a retirada da prova analítica^[5:14:15:37].

Métodos baseados em medidas reológicas

Essa categoria de métodos é realizada totalmente *in vitro* e foi proposta primeiramente por Hassan e Gallo^[38]. Neste teste, o polímero é previamente misturado com a mucina para realização das medidas reológicas. A mucoadesão se caracteriza quando a resposta reológica da mistura polímero-mucina for maior que as contribuições do polímero e da mucina isolados. Este fenômeno é reportado como sinergismo reológico.

O teste reológico mais comumente empregado é o oscilatório, pois é uma técnica não destrutiva que mede, simultaneamente, tanto a viscosidade como o comportamento elástico^[39]. Nos ensaios oscilatórios, a magnitude do módulo elástico G' é uma indicação qualitativa da estrutura do sistema. Sob uma tensão constante e em baixas frequências, sistemas mais estruturados apresentam o módulo elástico G' maior que o viscoso G'' e ambos são independentes da frequência. Num gráfico duplo logarítmico, são representados por uma reta constante. Para sistemas mais fracamente estruturados, os módulos são dependentes da frequência e é observada nesse mesmo gráfico uma inclinação da curva^[39:40].

Métodos que utilizam imagem

Métodos que utilizam imagens podem ser complementares na medida da mucoadesão. A microscopia de força atômica (MFA) é uma técnica que pode ser utilizada em qualquer condição ambiental, seja no ar, em líquidos ou no vácuo, e permite, mediante uma ampliação possível, visualizar átomos isolados, além de oferecer uma imagem tridimensional da superfície. O equipamento possui um suporte junto a uma ponta de prova unida perpendicularmente a ele. Para medir as forças entre essa ponta e a superfície de interesse, é construída a curva força-distância^[41]. Essa curva pode ser então utilizada nos estudos de bioadesão. Para isso, a ponta é revestida com o material adesivo, normalmente de formato esférico e a interação com a superfície, no caso a mucosa, pode ser medida^[42].

Além da MFA, há outras técnicas que geram imagens fotográficas como a microscopia de fluorescência e microscopia confocal com varredura a laser (MCVL). Resultados obtidos em testes *ex vivo*, como saco intestinal não invertido^[43], podem ser melhor visualizados empregando essas técnicas. Utilizando radioisótopos ou marcadores radioativos, é possível marcar o polímero ou

a substância a ser incorporada no sistema de liberação, e sua localização pode ser visualizada no microscópio específico após a excisão da mucosa. Takeuchi et al. (2005)^[44] analisaram por MCVL lipossomas formulados com marcador fluorescente que foram administrados por via oral em ratos. Os intestinos foram removidos em tempo apropriado após a administração, e a retenção da formulação na mucosa foi analisada através das imagens obtidas no microscópio confocal.

Métodos de escoamento de líquidos

Neste teste, a mucosa escolhida pode ser colocada num tubo cilíndrico cortado longitudinalmente ao meio o qual é disposto inclinado dentro de uma célula cilíndrica com temperatura controlada. Com uma bomba propulsora, é jorrado um fluxo de solução isotônica através da mucosa no suporte, a qual é coletada. Então, no caso de sistemas particulados, a quantidade remanescente na mucosa pode ser contada com a ajuda de um *coultter*^[45] e no caso de sistemas semissólidos, o mucoadesivo não aderido pode ser quantificado por cromatografia líquida de alta eficiência^[46].

Testes em humanos

Säkkinen et al.^[47] aplicaram a gamacintilografia para analisar a mucoadesão *in vivo* da quitosana ao longo do trato gastrointestinal (TGI). A gamacintilografia permite a visualização imediata de todo curso do trânsito da formulação pelo trato, com baixa exposição dos sujeitos à radiação. Esse estudo enfatizou a importância dos estudos *in vivo*, pois embora a quitosana exiba marcante capacidade de mucoadesão *in vitro*, o tempo de retenção no local de absorção no TGI humano foi relativamente curto e não reprodutível suficientemente^[47]. Pode ser avaliado também o tempo de trânsito gastrointestinal em animais de uma maneira não invasiva, em que os sistemas de liberação podem ser formulados com radioisótopos opacos e monitorados por raios-X sem afetar a motilidade normal do TGI^[45].

Limitações dos métodos utilizados para estudar bio(muco)adesão

Os testes utilizados para medir bio(muco)adesão são normalmente focados para um tipo específico de resposta. Como as condições experimentais são diferentes, as técnicas podem então se complementar. Os testes *in vitro* devem ser realizados em associação com métodos *ex vivo* ou *in vivo* para o maior entendimento dos mecanismos de mucoadesão envolvidos.

A reologia, por exemplo, mede a resistência ao escoamento e à deformação e tem sido muito aplicada para avaliar as alterações estruturais dos sistemas em contato com os componentes do muco. Porém, como a mucina e polímero são misturados previamente ao experimento, esta técnica não dá uma informação direta do que ocorre na interface sistema-muco.

No teste de medida de força bio(muco)adesiva, a interface pode ser criada artificialmente, podendo ser correlacionado o sinergismo reológico com uma correspondente estruturação na interface mucoadesiva.

Os testes reológicos e de medida de força são totalmente *in vitro* e não simulam os movimentos biológicos ou a depuração mucociliar e, por isso, seria interessante complementar seus resultados com estudos de escoamento de líquidos ou com estudos e que utilizam imagem *in vivo*. Assim é possível correlacionar respostas mucoadesivas dos sistemas de liberação obtidos estaticamente com seu comportamento *in vivo*.

Apesar de serem encontrados na literatura vários exemplos de metodologias empregadas nas medidas de mucoadesão, não há uma correlação detalhada dos métodos utilizados e os diferentes tipos de formas farmacêuticas. Além disso, cada autor estipula parâmetros de ensaio diferentes, como tempos de contato ou velocidades, o que torna mais difícil uma padronização.

Somado aos testes de mensuração da bio(muco)adesão, faltam estudos que correlacionem estes resultados com o efeito do emprego de polímeros e fármacos com características físico-químicas distintas, o que acarreta em diferentes curvas de liberação. Logo, no delineamento de uma forma farmacêutica bio(muco)adesiva, deve ser levado em consideração não somente os mecanismos de adesão do sistema, mas também se o polímero escolhido promoverá uma curva de liberação adequada para o fármaco em estudo.

Desta maneira, são necessários mais estudos visando correlacionar e padronizar métodos de medida de mucoadesão a fim de se fundamentar o desenvolvimento de novos sistemas poliméricos bio(muco)adesivos.

Aplicações das Metodologias e Propriedades Bio(Muco)Adesivas no Desenvolvimento de Sistemas Poliméricos de Liberação de Fármacos

Sistemas bio(muco)adesivos para o TGI

O muco que recobre a mucosa gastrointestinal é bastante complexo e pode conter componentes que exercem funções específicas dependendo da região. Além disto, a espessura e a renovação do muco, assim como a variabilidade individual, tornam o desenvolvimento de sistemas mucoadesivos para o TGI muito desafiador. As propriedades viscoelásticas do muco do TGI são essenciais para sua proteção e lubrificação, podendo atuar também como barreira à difusão do fármaco entre o lúmen e o epitélio. Para que o bolus alimentar seja transportado através do TGI sem danificar o epitélio, o muco apresenta duas camadas distintas, uma camada mais fortemente aderida à mucosa e uma camada mais próxima ao lúmen, que é facilmente removida por digestão enzimática, erosão ou por sucção^[9,11]. A espessura da camada de muco depende da quantidade secretada pelas células de Goblet e da sua degradação pelas enzimas ou erosão^[11]. Atuma et al.^[48] mediram as espessuras destas duas camadas desde o estômago até o cólon de ratos através de microscopia e verificaram que o cólon apresentava a maior espessura de muco (830±110 µm); contudo, a camada fortemente aderida à mucosa é mais espessa no estômago (154±16 µm). Matsuo et al.^[49], empregando técnica *in vitro*, mediram a espessura de muco em diferentes regiões do cólon humano e encontraram valores bem mais baixos

que aqueles descritos por Atuma et al.^[48], principalmente no ceco e cólon proximal, o que reflete as diferenças entre o modelo e a técnica usada. O esôfago, ao contrário do resto do TGI, não é revestido por muco, sendo a função lubrificante desempenhada pela saliva^[50].

Em algumas circunstâncias, pode ser interessante prolongar o tempo de retenção de formas farmacêuticas no estômago. Porém, o insucesso de muitos trabalhos sobre mucoadesão gástrica tem sido reportado e pode ser resultado da rápida taxa de renovação do muco no estômago, da elevada acidez e da motilidade gástrica^[50].

Assim como no estômago, a taxa de renovação do muco no intestino delgado é rápida e a motilidade pode minimizar o desempenho das formas farmacêuticas mucoadesivas nesta região do TGI^[4]. Porém, a presença de alguns carreadores no intestino delgado, como aqueles que favorecem a absorção de nucleotídeos e substâncias análogas, como os antirretrovirais, podem favorecer a absorção destes fármacos^[20].

Apesar da alta espessura de muco, o cólon apresenta taxa de renovação do muco mais baixa que o estômago e o intestino delgado. Combinado com a baixa motilidade, o cólon apresenta um grande potencial para o desenvolvimento de sistemas com propriedades mucoadesivas, os quais podem contribuir para aumentar o tempo de residência dos fármacos^[11]. No entanto, garantir que a forma farmacêutica alcance o cólon de forma íntegra para ocorrer a mucoadesão é um grande desafio^[37].

Um bom trabalho de revisão publicado recentemente discute as propriedades e funções do muco no TGI, incluindo como as propriedades de barreira e as mudanças na composição do muco que ocorre em patologias do TGI podem influenciar o processo de mucoadesão e alterar o destino dos sistemas de liberação de fármacos^[9]. Os autores concluíram que a encapsulação do fármaco em nanocarreadores pode aumentar o direcionamento do fármaco para o epitélio do TGI. Para isto, é muito importante que as nanopartículas tenham a capacidade de penetrar o muco secretado por este epitélio, pois há várias evidências indicando que partículas que ficam retidas na camada de muco fracamente aderida são rapidamente eliminadas pela depuração mucociliar, limitando assim a eficácia do fármaco. Portanto, a partícula deve ser delineada para penetrar a camada frouxa de muco e atingir a camada de muco fortemente aderida, alcançando o epitélio e aumentando assim a distribuição do fármaco, o que pode levar a tratamentos mais eficazes.

Um dos trabalhos conduzidos por nosso grupo de pesquisa avaliou o efeito de matrizes de glicolato sódico de amido (GSA) e ftalato de hidroxipropilmetilcelulose (HPMCP) na liberação de zidovudina (AZT), considerando que o principal problema deste fármaco é sua baixa biodisponibilidade^[20]. Assim, o desenvolvimento de um sistema de liberação com propriedades mucoadesivas representa uma importante estratégia tecnológica visando melhorar sua biodisponibilidade, por aumentar o tempo de residência e o gradiente de concentração na mucosa^[9]. Os ensaios de mucoadesão confirmaram as propriedades adesivas das matrizes estudadas, sendo esta propriedade melhor evidenciada nas amostras em pó. Os ensaios de liberação *in vitro* demonstraram que o HPMCP foi

capaz de reduzir as taxas de liberação do fármaco em meio gástrico e o aumento da proporção deste polímero promoveu maior controle das taxas de liberação do fármaco. A absorção intestinal do AZT, empregando o método do saco intestinal invertido, foi maior quando o fármaco foi incorporado na matriz formada pelo GSA e HPMCP, sugerindo que o acúmulo local de água e o aumento do tempo de contato pode ter contribuído com a abertura das junções paracelulares da membrana intestinal pela formulação^[20].

Além disso, a incorporação desse fármaco em sistemas com propriedades mucoadesivas, que o protejam do meio gástrico, pode contribuir para que o fármaco chegue intacto ao intestino delgado, uma vez que as maiores taxas de absorção do AZT ocorrem no íleo e jejuno proximal^[4;51;52]. O efeito da GSA pode ter influenciado o mecanismo de efluxo e pode ter contribuído, também, para o aumento das taxas de absorção do AZT pela mucosa intestinal.

Sistemas bio(muco)adesivos para administração nasal de fármacos

A mucosa nasal tem sido apontada como promissora para administração sistêmica de fármacos e apresenta uma série de vantagens, como a presença de uma camada sub-epitelial altamente vascularizada, que permite uma absorção rápida do fármaco para a corrente circulatória, evitando, dessa maneira, o metabolismo pré-sistêmico. A cavidade nasal apresenta um meio menos hostil que o TGI, possibilitando condições menos agressivas devido à menor atividade enzimática. Por ser uma via menos invasiva que a intravenosa, a via nasal pode ainda aumentar a adesão e o conforto do paciente^[12]. A mucoadesão aumenta o tempo de residência da formulação na cavidade nasal e possibilita o aumento da permeação e da absorção do fármaco^[53].

A via nasal permite a aplicação tanto de sistemas particulados, como de sistemas líquidos que podem ser facilmente gotejados, permitindo sua chegada à cavidade nasal; porém, podem facilmente escorrer para a nasofaringe. Por isso, formas farmacêuticas líquidas devem, por algum estímulo, aumentar a viscosidade quando entram em contato com a mucosa.

Alguns veículos com este mecanismo de ação podem ser encontrados no mercado, como PecSys® (Archimedes Pharma) composto por pectina, cuja gelificação ocorre pelo contato com íons cálcio. Este sistema de liberação faz parte do medicamento PecFent® para administração nasal de fentanil, o qual foi aprovado no mercado em 2009 na Europa e em 2011 nos Estados Unidos^[54].

Estudos de nosso grupo de pesquisa têm mostrado que sistemas contendo álcool cetílico etoxilado 20 OE e propoxilado 5 OP (PPG-5-CETETH-20) são capazes de formar microemulsões que ao entrarem em contato com muco nasal simulado resultam em diferentes tipos de mesofases líquido-cristalinas de maior viscosidade que podem contribuir para o aumento da adesão^[9;14-16;55;56]. As misturas das microemulsões com muco mostraram alta força de mucoadesão e sinergismo reológico, como pode ser visualizado na Figura 1. À medida que aumenta o contato com muco artificial, a microemulsão aumenta seu

grau de estruturação, apresentando aumento do módulo elástico^[9;14-16;55].

Ao longo dos últimos anos o nosso grupo tem explorado o uso de nanopartículas de quitosana obtidas por reticulação ionotrópica para potencial administração nasal de AZT e, mais recentemente, de proteínas^[57-60]. A propriedade mucoadesiva da quitosana está relacionada com a interação eletrostática do polímero com os grupos siálicos da mucina. Para avaliar as propriedades mucoadesivas das nanopartículas de quitosana contendo AZT e uma desintegrina, a DisBa01, foi empregado também o analisador de textura.

As propriedades de mucoadesão destas partículas foram comparadas com outros polímeros descritos na literatura como sendo mucoadesivos. A Figura 2 mostra resultados de força de mucoadesão utilizando analisador

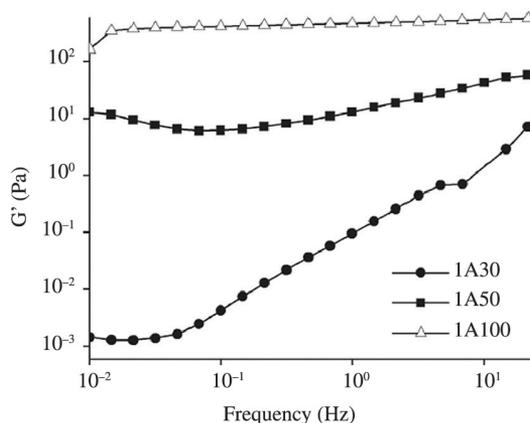


Figura 1. Reograma oscilatório de varredura de frequência mostrando o módulo de armazenamento (G') em função da frequência obtido a 32 °C. As amostras representam microemulsões compostas por PPG-5-CETETH-20, ácido oleico e água misturadas com muco nasal simulado na proporção 3:1 (1A30), 2:1 (1A50) e 1:1 (1A100) (p/p). Fonte: Carvalho et al., 2010^[15].

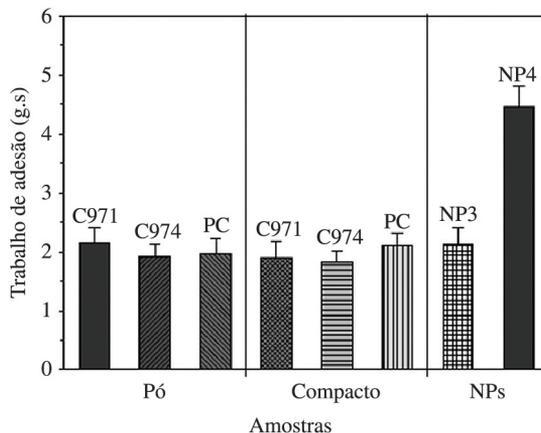


Figura 2. Valores do trabalho de mucoadesão de amostras particuladas e compactadas na forma de disco de Carbopol® 971 (C971), Carbopol® 974 (C974), policarbofil (PC) e de nanopartículas de quitosana obtidas pela reticulação com tripolifosfato liofilizadas (NP3 e NP4). A mucosa modelo utilizada foi disco de mucina. Fonte: Barbi^[57].

de textura e disco de mucina como mucosa modelo. As nanopartículas de quitosana exibiram valores de força de destacamentos maiores que outros polímeros muito reportados na literatura como mucoadesivos, como policarbofil, Carbopol® 971 e 974.

Sistemas bio(muco)adesivos para administração periodontal de fármacos

Sistemas para a liberação de fármacos na região bucal têm atraído o interesse de muitas pesquisas e várias abordagens, convencionais e complexas, têm sido desenvolvidas na tentativa de desenvolver produtos mais adequados para administração nesta região^[61]. A administração de fármacos na cavidade bucal é comprometida por vários fatores que reduzem drasticamente o tempo de residência da preparação no local de ação. As forças de cisalhamento associados com a fala, deglutição e mastigação, excesso de água no local e a frequente produção de saliva, favorecem a redução do tempo de residência nesta região.

As doenças periodontais são condições inflamatórias e infecciosas que afetam as estruturas de suporte dos dentes, resultando na formação de bolsa entre a gengiva e o dente, causado retração gengival, além do desenvolvimento de um ambiente ideal para o crescimento de bactérias anaeróbicas. A progressão desse processo destrutivo pode causar a perda do dente^[18,20]. O tratamento das doenças periodontais fundamenta-se na remoção das bactérias responsáveis pela infecção através de procedimentos clínicos realizados pelo dentista e aplicação tópica de agentes antimicrobianos e/ou anti-inflamatórios^[18]. Embora a região da boca não tenha um muco muito espesso, a depuração nesta região é muito rápida, dificultando a manutenção da concentração no local.

No trabalho de Bruschi^[18], foram utilizadas duas estratégias para administração da própolis na bolsa periodontal. Em uma delas, a própolis foi incorporada em um sistema polimérico composto por C974 e poloxamer, sendo que o primeiro é um polímero que apresenta propriedades mucoadesivas e o segundo modifica o comportamento reológico do sistema em função da temperatura. Assim, este sistema pôde ser facilmente administrado, pois apresenta boa seringabilidade e conjuga ainda as propriedades viscoelásticas e termoresponsíveis, melhorando a propriedade mucoadesiva do sistema^[39]. A Tabela 1 mostra que dependendo da concentração empregada destes polímeros, é possível obter em baixas temperaturas sistemas menos estruturados com menores valores de módulo de armazenamento (G'), e o aumento da temperatura promove maior estruturação, visualizada pelo aumento do G' .

Em outro sistema baseado em precursor de cristal líquido composto por PPG-5-CETETH-20, miristato de isopropila e água, a própolis foi incorporada tanto diretamente como encapsulada em nanopartículas de gelatina^[62,63]. Este sistema, que modifica seu comportamento reológico quando entra em contato com o meio fisiológico aquoso, foi empregado para atribuir as propriedades mucoadesivas e reológicas ao sistema.

Tabela 1. Valores do módulo de armazenamento (G') em função da temperatura das misturas de Poloxamer 407 (P407) e Carbopol® 934P (C934). Fonte: Jones et al.^[34].

P407 (% p/p)	C934 (% p/p)	G' (Pa)	
		5 °C	37 °C
10	0,10	0,42	7,19
10	0,15	1,10	4,07
10	0,20	9,29	7,76
10	0,25	41,18	37,67
15	0,10	0,54	3772,00
15	0,15	2,57	4083,60
15	0,20	9,25	3477,60
15	0,25	29,16	3296,00
20	0,10	0,71	14412,00
20	0,15	3,26	16058,00
20	0,20	8,84	15532,00
20	0,25	18,62	13974,00

Sistemas bio(muco)adesivos para administração cutânea de fármacos

A aplicação cutânea de fármaco pode ser usada tanto para atingir a via sistêmica como para obter um efeito local, sendo, para isso, necessário uma diminuição da absorção sistêmica e um aumento da retenção do fármaco na pele, o que pode diminuir o aparecimento de efeitos colaterais^[64]. A administração cutânea apresenta várias vantagens quando comparada às outras vias de administração. Dentre as vantagens desta via tem-se a possibilidade de melhorar significativamente o tratamento de doenças que acometem a pele, bem como o conforto do paciente, por não ser invasiva, além de evitar o metabolismo pré-sistêmico e a degradação de fármacos peptídicos e proteicos^[8,65,66].

A pele apresenta inúmeras vantagens tanto para a liberação tópica quanto para a permeação cutânea de fármacos^[56,67-69]. O fármaco, ao se difundir na pele, pode ficar retido no estrato córneo ou nas diferentes camadas cutâneas, o que caracteriza a retenção cutânea do fármaco. Ele pode, ainda, permear para as camadas mais profundas, podendo atingir a circulação sistêmica. Entretanto, devido à estrutura e composição lipídica da epiderme, mais especificamente do estrato córneo, existe uma grande dificuldade na difusão dos fármacos por esta membrana. Por conseguinte, a permeação do fármaco após aplicação cutânea depende de suas propriedades físico-químicas e do seu gradiente de concentração no local, assim como da capacidade do sistema promover a permeação^[70].

Por outro lado, a habilidade de conseguir concentrações terapêuticas de fármaco nas diversas camadas do tecido cutâneo ou ainda na lesão, acompanhado por baixas concentrações sanguíneas, evitando-se, desta forma, os efeitos farmacológicos indesejados, adversos ou tóxicos em outras regiões do corpo, pode melhorar a eficiência do tratamento de algumas patologias como as dermatomicoses^[71].

A eficácia clínica de terapia tópica antifúngica depende da capacidade do fármaco penetrar no estrato

córneo e do tempo de residência^[72]. O fluconazol é um antifúngico de amplo espectro que tem sido usado para administração oral^[73]. Ele pode acumular em tecidos queratinizados mesmo durante semanas após o término do tratamento, ficando muito tempo em locais indesejados ou desnecessários. Como foi dito anteriormente, para algumas patologias o aumento da concentração local do fármaco é mais importante para a eficácia e segurança do tratamento do que a sua absorção.

No caso de algumas infecções fúngicas e parasitárias, como a esporotricose e leishmaniose tegumentar, respectivamente, a riqueza parasitária das lesões cutâneas pode favorecer a transmissão entre indivíduos e também dificultar a chegada do fármaco no local de ação quando o fármaco está na via sistêmica. Assim sendo, algumas pesquisas têm sugerido que a administração de fármaco na lesão pode melhorar sua eficácia terapêutica^[73].

Sistemas de liberação de fármacos com propriedades bio(muco)adesivas têm sido muito empregados para aumentar o tempo de permanência do fármaco na pele, e também em tecido lesionado, e pode melhorar as propriedades biofarmacotécnicas do fármaco na formulação. A bio(muco)adesão aumenta o tempo de residência da formulação no local aplicado, elevando o gradiente de concentração do fármaco e melhorando sua permeação, assim como restringindo a região de aplicação, evitando que a formulação escorra para outras regiões desnecessariamente^[56;69;74]. Um recente estudo correlacionou o aumento da estruturação de hidrogéis de polímeros derivados do ácido poliacrílico com a bioadesão em pele de orelha de porco^[33]. Os resultados podem ser visualizados na Tabela 2.

Em trabalhos realizados por nosso grupo de pesquisa foram desenvolvidos sistemas de liberação de fármacos com propriedades bioadesivas para administração cutânea de fármacos como dexametasona^[56;74;75] e os antifúngicos fluconazol e itraconazol^[35;40;42], empregando sistemas compostos pelo tensoativo PPG-5-CETETH-20 e o ácido oleico. As medidas de bioadesão foram realizadas empregando o analisador de textura e pele de orelha de porco. Os resultados mostraram que cristais líquidos compostos pelos materiais descritos acima, caracterizados como fases lamelares e hexagonais, obtiveram valores de força mucoadesiva semelhantes à hidrogéis compostos por C974 a 5% (p/V), polímero conhecido por sua elevada mucoadesão. Portanto, cristais líquidos formados pelo tensoativo PPG-5-CETETH-20 possuem grande potencial para atuarem como sistemas bioadesivos na pele a contribuírem para tratamento de dermatomicoses.

Sistemas bio(muco)adesivos para administração retal fármacos

A via retal oferece diversas oportunidades potenciais para a liberação de fármacos. Esta via pode ser empregada quando se pretende a absorção sistêmica ou local do fármaco, porém é importante identificar a mucosa que se pretende atingir. A mucosa retal é utilizada quando se pretende um efeito local, pois apesar de ser bastante vascularizada, a absorção por esta mucosa pode apresentar uma absorção errática e pouco previsível. Para ação na região do reto as formulações devem ser capazes de permanecer no local e as formas farmacêuticas convencionais como supositório, soluções, emulsões e

Tabela 2. Reologia oscilatória de varredura de frequência representada pelo módulo elástico (G') na frequência de 1 Hz, medidas de adesividade utilizando analisador de textura e valores de força de bioadesão utilizando pele de orelha de porco. Fonte: Carvalho et al.^[33].

Polímero	Composição % (p/v)	G' (Pa)	Trabalho de adesão in vitro (g.s)	Trabalho de bioadesão ex vivo (g.s)
Policarbofil	0,1	0,5	*	-
	0,5	384,7	33,5±2,5	11,5±1,4
	1,0	772,3	68,9±3,8	-
	1,5	670,0	77,6±2,1	-
	2,0	666,7	91,9±3,7	24,2±1,6
	3,0	1024,0	141,5±4,4	-
	5,0	1149,0	178,7±7,0	6,3±0,6
Carbopol 971P	0,1	0,2	*	*
	0,5	21,9	*	-
	1,0	3,9	*	-
	1,5	11,1	*	-
	2,0	12,4	*	8,2±0,5
	3,0	50,1	6,5±1,1	-
	5,0	116,9	23,15±0,9	11,7±1,0
Carbopol 974P	0,1	3,0	*	-
	0,5	374,1	52,9±3,1	10,7±0,9
	1,0	572,5	76,4±7,4	-
	1,5	517,7	57,2±1,8	-
	2,0	764,3	179,2±8,3	25,7±0,9
	3,0	929,2	163,6±20,9	-
	5,0	1274,0	165,4±35,5	42,6±4,9

*amostras líquidas não possibilita estas medidas.

suspensões são bastante empregadas, embora a utilização de sistemas com propriedades mucoadesivas possa ser interessante, com o objetivo de potencializar a ação dos fármacos.

A via de administração retal pode ser utilizada também para atingir outras mucosas como a do cólon e a do íleo, evitando assim o ambiente hostil das regiões superiores do TGI, podendo também ser empregada no tratamento de doenças inflamatórias do intestino como a doença de Crohn e a retocolite ulcerativa idiopática ou ainda possibilitar a administração de fármacos de origem proteica^[76].

No entanto, a via retal para administração de fármacos na mucosa gastrointestinal tem suas limitações, que incluem a distância de migração da formulação até a mucosa, o tempo disponível para a liberação do fármaco e taxa de absorção ou a permanência no local. A administração de enemas com 80 a 150 mL pode promover a liberação do fármaco no cólon ou no íleo. Contudo, é necessário que o sistema interaja com o muco do colón ou do íleo para aumentar o tempo de residência do sistema nestas regiões. O muco destas regiões apresenta uma camada fortemente aderida, próxima à mucosa, e outra mais fracamente aderida, mais próxima ao lúmen intestinal e que apresenta uma taxa de renovação maior que a outra camada. As espessuras da camada de muco fracamente aderida variam de 447 µm para o íleo e de 714 µm para o colón. Assim, para que o fármaco chegue à mucosa é necessário que se difunda através das duas camadas de muco, que tem características hidrofílicas, e fique retido na mucosa, com características mais hidrofóbicas, pelo tempo necessário para que seja absorvido ou exerça seu efeito localmente^[9].

Assim, o delineamento de sistemas de liberação para atingir a mucosa do TGI apresenta muitos desafios. A preparação deve apresentar fluxo livre para que seja facilmente administrada e migre para regiões mais altas do TGI. Ademais, o sistema deve ter a habilidade de se difundir pela camada de muco menos aderida, pois caso fique aderido nesta camada estará sujeito à influência da taxa de renovação do muco. Na sequência, o sistema deve interagir com o muco da camada mais fortemente aderida. Entretanto, para que o fármaco seja absorvido é necessário que o fármaco seja liberado para o tecido epitelial^[9].

Uma estratégia interessante para manter as características de fluxo livre, importante para favorecer a migração da preparação pelo TGI e evitar a diluição do sistema mucoadesivo pelos fluidos intestinais, é delinear um sistema que altere sua viscosidade após um estímulo fisiológico, como pH, força iônica, temperatura e mudança estrutural. Assim, a utilização de formulações que apresentam fluxo livre, que em contato com o fluido fisiológico modifiquem suas características de mucoadesão, associado com a presença de micro/nanopartículas que podem interagir com o muco por interação eletrostática ou por interação específica com os receptores apresentados na membrana celular, pode fornecer propriedades biofarmacêuticas mais adequadas aos sistemas. Adicionalmente, a superfície da partícula

pode ser modificada para que o sistema interaja melhor com a mucosa.

Sistemas de gelificação *in situ* são compostos por alguns polímeros que apresentam transição de sol-gel que resulta na mudança da sua viscosidade induzida pelo meio fisiológico como o pH e/ou a temperatura. Estes sistemas combinam a fluidez do sistema no momento da administração com a gelificação *in situ* no meio fisiológico. A baixa viscosidade da preparação torna fácil a aplicação, enquanto que o pH e/ou a temperatura do meio fisiológico induz a alteração da viscosidade do sistema. Poloxamer, um copolímero em bloco que consiste em unidades de óxido de polietileno (PEO) e óxido polipropileno (PPO) é conhecido por exibir o fenômeno de gelificação térmica inversa dependente da concentração e da temperatura. Ao utilizar diferentes poloxâmeros é possível obter uma solução líquida durante o armazenamento, que transforma num gel na temperatura fisiológica. Polímeros derivados do ácido poliacrílico têm sua capacidade de gelificação *in situ* induzida pelo pH. Estes sistemas apresentam fluxo livre em pH ácido e em pH fisiológico (pH 7,0), eles sofrem uma transição de fase e formam géis bastante rígidos. Além disto, a capacidade destes polímeros interagirem com a mucina é amplamente descrita na literatura^[35].

Além da capacidade de gelificação *in situ*, a interação com a mucosa pode ser modulada pelas partículas. Estas partículas podem ser micro e nanopartículas, lipossomas ou nanopartículas lipídicas sólidas. Adicionalmente, o tipo, tamanho e a superfície da partícula tem mostrado desempenhar um papel importante na eficiência de sistemas mucoadesivos. A redução do tamanho da partícula pode prolongar o tempo de residência do sistema no cólon. A combinação de estratégias pode melhorar a eficiência de fármacos cujo alvo seja a mucosa intestinal. As partículas micro/nanoestruturadas podem acumular-se em áreas inflamadas intestinais, o que torna estes sistemas promissores para a aplicação em doenças inflamatórias do intestino, proporcionando, por um longo período, efeitos terapêuticos que, pelas formas convencionais, somente poderiam ser alcançados após múltiplas administrações^[2;9;34;39].

Conclusões

Os processos envolvidos na mucoadesão, apesar de complexos, podem aumentar a eficácia de uma ampla gama de sistemas de liberação. Fatores fisiológicos como espessura do muco, pH, força iônica e depuração mucociliar devem ser considerados no delineamento da formulação. Somado a isso, as propriedades de certos polímeros como carga, hidrofiliicidade, peso molecular, entre outras, podem modular a força mucoadesiva. Apesar da falta de um método universal para medida da mucoadesão, há inúmeras técnicas disponíveis para entender os fenômenos envolvidos. Sistemas mucoadesivos podem promover um direcionamento e uma retenção mais específica do sistema de liberação. No homem, as superfícies das mucosas, tais como as do TGI, pulmonar e sistemas gênito-urinário, nasal e ocular, são recobertas por muco, que pode variar na composição, espessura e comportamento reológico, representando

uma barreira importante para a absorção de fármacos. Porém, é possível projetar sistemas capazes de superar estas barreiras e melhorar a eficácia de fármacos. Esta plataforma tecnológica combinada com a nanotecnologia oferece possibilidades como a proteção e o controle da liberação e, portanto, são excelentes estratégias para aumentar a biodisponibilidade de fármacos.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer a CAPES, PADC, FAPESP e CNPq.

Referências Bibliográficas

1. Smart, J. D. - Adv. Drug Del. Rev., **57**, p.1556 (2005). <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2005.07.001>
2. Andrews, G. P.; Laverty, T. P. & Jones, D. S. - Eur. J. Pharm. Biopharm., **71**, p.505 (2009). <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2008.09.028>
3. Shaikh, R.; Singh, T. R. R.; Garland, M. J. A.; Woolfson, D. & Donnelly, R. F. - J. Pharm. Sci., **3**, p. 89 (2011).
4. 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*, Tese de doutorado, Uppsala University, Suécia (2003).
5. Carvalho, F. C.; Bruschi, M. L.; Evangelista, R. C. & Gremião, M. P. D. - Braz. J. Pharm. Sci., **46**, p.1 (2010).
6. Woodley, J. - Clin. Pharmacokinet., **40**, p.77 (2001). <http://dx.doi.org/10.2165/00003088-200140020-00001>
7. Kockisch, S.; Rees, G. D.; Young, S. A.; Tsiouklis, J. & Smart, J. D. - J. Control. Release, **77**, p.1 (2001). [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-3659\(01\)00444-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-3659(01)00444-8)
8. Kreilgaard, M.; Pedersen, E. J. & Jaroszewski, J. W. - J. Control. Release, **69**, p.421 (2000). [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-3659\(00\)00325-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-3659(00)00325-4)
9. Carvalho, F. C.; Silva, H. R.; Luz, G. M.; Barbi, M. S.; Landgraf, D. S.; Chiavaccia, L. A.; Sarmiento, V. H. V. & Gremião, M. P. D. - J. Biomedical. Nanotechnology (2012). In press.
10. Ahuja, A.; Khar, R. K. & Ali, J. - Drug Dev. Ind. Pharm., **23**, p.489 (1997). <http://dx.doi.org/10.3109/03639049709148498>
11. Ensign, L. M.; Cone, R. & Hanes J. - Adv. Drug Del. Rev., **64**, p.557 (2012). <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2011.12.009>
12. Vyas, T. K.; Babbar, A. K.; Sharma, R. K.; Singh, S. & Misra, A. - AAPS Pharm. Sci. Tech., **7**, p.E1 (2006).
13. Varum, F. O.; Basit, A. W.; Sousa, J. & Veiga, F. - Braz. J. Pharm. Sci., **44**, p.535 (2008).
14. Carvalho, F. C.; Campos, M. L.; Peccinini, R. G. & Gremião, M. P. D. - Eur. J. Pharm. Biopharm (2012). In press.
15. Carvalho, F. C.; Barbi, M. S.; Sarmiento, V. H. V.; Chiavacci, L. A.; Netto, F. M. Gremião, M. P. D. - J. Pharm. Pharmacol., **62**, p.430, (2010).
16. Carvalho, F. C. - “*Sistemas nanoestruturados mucoadesivos para administração nasal de zidovudina*”, Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, Brasil (2012).
17. Bruschi, M. L.; Jones, D. S.; Panzeri, H.; Gremião, M. P. D.; Freitas, O. & Lara, E. H. G. - Drug Dev. Ind. Pharm., **34**, p.267 (2008). <http://dx.doi.org/10.1080/03639040701655911>
18. Bruschi, M. L.; Jones, D. S.; Panzeri, H.; Gremião, M. P. D.; Freitas, O. & Lara, E. H. G. - J. Pharm. Sci., **96**, p. 2074 (2007). <http://dx.doi.org/10.1002/jps.20843>
19. Bruschi, M. L. & Freitas, O. - Drug Ind. Pharm., **31**, p.293 (2005). <http://dx.doi.org/10.1081/DDC-52073>
20. Bruschi, M.L.; Panzeri, H.; Freitas, O.; Lara, E. H. G. & Gremião, M.P.D. - Rev. Bras. Cien. Farm., **42** (2006).
21. Bruschi, M. L. - “*Desenvolvimento e caracterização de sistemas de liberação de própolis intrabolsa periodontal*”, Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil (2006).
22. Hanes, J. - Adv. Drug Del. Rev., **61**, p.73 (2009). <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2009.01.002>
23. Evangelista, R. C. - “*Sistemas de liberação controlada de fármacos*”, Tese de Livre Docência, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, Brasil (2006).
24. Tobbyn, M. J.; Johnson, J. R. & Dettmar, P. W. - Eur. J. Pharm. Biopharm., **42**, p.56 (1996).
25. Park, K. & Robinson, J. R. - Int. J. Pharm., **19**, p.107 (1984). [http://dx.doi.org/10.1016/0378-5173\(84\)90154-6](http://dx.doi.org/10.1016/0378-5173(84)90154-6)
26. Pedreiro, L. N. - “*Desenvolvimento e caracterização de dispersão sólida com propriedade mucoadesiva para liberação de zidovudina*”, Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, Brasil (2012).
27. Bravo - Osuna, I.; Vauthier, C.; Farabollini, A.; Palmieri, G. F. & Ponchel, G. - Biomaterials, **28**, p.2233 (2007).
28. Lima, A. C. - “*Obtenção e Caracterização de Dispersões Sólidas de Praziquantel*”, Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, Brasil (2005).
29. Mansano, S. - “*Desenvolvimento de forma farmacêutica sólida a partir de dispersão sólida de praziquantel com glicolato sódico de amido*”, Projeto de Iniciação Científica, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, Brasil (2010).
30. Chorilli, M.; Prestes, P. S.; Rigon, R. B.; Leonardi, G. R.; Chiavacci, L. A. & Scarpa, M. V. - Quím. Nova, **32**, p.1036 (2009). <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422009000400035>
31. Peppas, N. A. & Sahlin, J. J. - Biomaterials, **17**, p.1553 (1996). [http://dx.doi.org/10.1016/0142-9612\(95\)00307-X](http://dx.doi.org/10.1016/0142-9612(95)00307-X)
32. Peppas, N. A. & Huang, Y. - Adv. Drug Del. Rev., **56**, p.1675 (2004). <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2004.03.001>
33. Carvalho, F. C.; Calixto, G.; Hatakeyama, I. N.; Luz, G. M.; Gremião, M. P. D. & Chorilli, M. - Drug Develop. Ind. Pharm. (2013). In press.
34. Jones, D.S.; Bruschi, M. L.; Freitas, O., Gremião, M. P. D.; Lara, E. H. & Andrews, G. P. - Int. J. Pharm., **372**, p.49 (2009). <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.01.006>
35. Jones, D. S.; Woolfson, A. D.; Brown, A. F.; Coulter, W. A.; McClelland, C. & Irwin, C. R. - J. Control. Release, **67**, p.357 (2000). [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-3659\(00\)00231-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-3659(00)00231-5)
36. Hägerström, H. & Edsman, K. - J. Pharm. Pharmacol., **53**, p.1589 (2001). <http://dx.doi.org/10.1211/0022357011778197>

37. Exponent Lite Software. - “*Introduction to texture analysis*”, 4,5, CD-ROM, TA-XTPlus, Stable Micro Systems (2009).
38. Hassan, E. E. & Gallo, J. M. - *Pharm. Res.*, **7**, p.491 (1990). <http://dx.doi.org/10.1023/A:1015812615635>
39. Callens, C.; Ceulemans, J.; Ludwig, A.; Foreman, P. & Remon, J. P. - *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **55**, p.323 (2003). [http://dx.doi.org/10.1016/S0939-6411\(03\)00024-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0939-6411(03)00024-9)
40. Ceulemans, J.; Vinckier, I. & Ludwig, A. - *J. Pharm. Sci.*, **91**, p.1117 (2002). <http://dx.doi.org/10.1002/jps.10106>
41. Mathiowitz, E.; Chickering, D. E. & Lehr, C. M. - “*Bioadhesive drug delivery systems: fundamentals, novel approaches, and development*”, Marcel Dekker, New York (1999). <http://dx.doi.org/10.1201/b14099>
42. Cleary, J.; Bromberg, L. & Magner, E. - *Langmuir*, **20**, p.9755 (2004). <http://dx.doi.org/10.1021/la048993s>
43. Keely, S.; Rullay, A.; Wilson, C.; Carmichael, A.; Carrington, S.; Corfield, A.; Haddleton, D. M. & Brayden, D. J. - *Pharm. Res.*, **22**, p.38 (2005). <http://dx.doi.org/10.1007/s11095-004-9007-1>
44. Takeuchi, H.; Thongborisute, J.; Matsui, Y.; Sugihara, H.; Yamamoto, H. H. & Kamashima, Y. - *Adv. Drug Del. Rev.*, **57**, p.1583 (2005). <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2005.07.008>
45. Chowdary, C. P. R. & Rao, Y. S. - *Biol. Pharm. Bull.*, **27**, p.1717 (2004). <http://dx.doi.org/10.1248/bpb.27.1717>
46. Nielsen, L. S.; Schubert, L. & Hansen, J. - *Eur. J. Pharm. Sci.*, **6**, p.231 (1998). [http://dx.doi.org/10.1016/S0928-0987\(97\)10004-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0928-0987(97)10004-5)
47. Säkkinen, M.; Marvola, J.; Kanerva, H.; Lindevall, K. & Marvola, A. A. M. - *Int. J. Pharm.*, **307**, p.285 (2006). <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.10.021>
48. Atuma, C.; Strugala, V.; Allen, A. & Holm, L. - *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **280**, p.922 (2001).
49. Matsuo, K.; Ota, H.; Akamatsu, T.; Sugiyama, A. & Katsuyama, T. - *Gut*, **40**, p.782 (1997). <http://dx.doi.org/10.1136/gut.40.6.782>
50. Batchelor, H. - *Pharm. Res.*, **22**, p.175 (2005). [http://dx.doi.org/10.1016/S1359-6446\(04\)03351-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1359-6446(04)03351-3)
51. Neves, J.; Bahia, M. F.; Amiji, M. & Sarmiento, B. - *Expert Opin. Drug Deliv.*, **8**, p.1085 (2011). <http://dx.doi.org/10.1517/17425247.2011.586334> <http://dx.doi.org/10.1517/17425247.2011.586334>
52. Davis, S. S. - *Drug Discov. Today*, **10**, p.249 (2005). [http://dx.doi.org/10.1016/S1359-6446\(04\)03351-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1359-6446(04)03351-3)
53. Ugwoke, M. I.; Agu, R. U.; Verbeke, N. & Kinget, R. - *Adv. Drug Del. Rev.*, **57**, p. 1640 (2005). <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2005.07.009>
54. Illum, L. - *J. Control. Rel.* (2012). In press.
55. Carvalho, F. C. - “*Desenvolvimento e caracterização de sistemas nanoestruturados para potencial administração nasal da zidovudina*”, Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, Brasil (2009).
56. Urban, M. C. C. - “*Desenvolvimento de sistemas de liberação micro e nanoestruturados para administração cutânea do acetato de dexametasona*”, Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, Brasil (2004).
57. Barbi, M. S. - “*Desenvolvimento de nanopartículas de quitosana para administração nasal de zidovudina*”, Trabalho de conclusão de curso, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, Brasil (2011).
58. Kiill, C. P. - “*Desenvolvimento de nanopartículas de quitosana para potencial administrativo nasal da disba - 01, uma desintegrina recombinante do veneno da serpente Bothrops alternatus.*”, Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, Brasil, (2012).
59. Kill, C. P. - “*Desenvolvimento de nanopartículas de quitosana para potencial administração intranasal de peptídeos. 2010*”, Projeto de Iniciação Científica, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, Brasil, (2010).
60. Ferreira, L. M. B. - “*Nanopartículas a base de quitosana para administração nasal de bevacizumab*”, Projeto de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, Brasil (2012).
61. Patel, V. F.; Liu, F. & Brown, M. B. - *J. Control. Rel.*, **161**, p.746 (2012). <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.05.026>
62. Bruschi, M.L. - “*Desenvolvimento e caracterização de micropartículas obtidas a partir de extrato etanólico de própolis*”, Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual paulista, Araraquara, Brasil (2002).
63. Bruschi, M. L.; Cardoso, M. L. C.; Lucchesi, M. B. & Gremião, M. P. D. - *Int. J. Pharm.*, **264**, p.45 (2003). [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-5173\(03\)00386-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-5173(03)00386-7)
64. Igartua, M.; Saulnier, P.; Heurtault, B.; Pech, B.; Proust, J. E.; Pedraz, J. L. & Benoit J. P. - *Int. J. Pharm.*, **233**, p.149 (2002). [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-5173\(01\)00936-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-5173(01)00936-X)
65. Tang, H.; Mitragotri, S.; Blankschein, D. & Langer R. - *J. Pharm. Sci.*, **90**, p.545 (2001). [http://dx.doi.org/10.1002/1520-6017\(200105\)90:5<545::AID-JPS1012>3.0.CO;2-H](http://dx.doi.org/10.1002/1520-6017(200105)90:5<545::AID-JPS1012>3.0.CO;2-H)
66. Matteucci, M. E.; Brettmann, B. K.; Rogers, T. L.; Elder, E. J.; Williams, R.O. & Johnston, K.P. - *Mol. Pharm.*, **4**, p.782 (2007). <http://dx.doi.org/10.1021/mp0700211>
67. Thomas, N. S. & Panchagnula, R. - *Eur. J. Pharm. Sci.*, **18**, p.71 (2003). [http://dx.doi.org/10.1016/S0928-0987\(02\)00242-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0928-0987(02)00242-7)
68. Lehmann, B.; Genehr, T.; Knuschke, P.; Pietzsch, J. & Meurer, M. - *J. Invest. Dermatol.*, **117**, p.1179 (2001). <http://dx.doi.org/10.1046/j.0022-202x.2001.01538.x>
69. Silva, R. S. - “*Sistemas nanoestruturados estabilizados com álcool cetílico etoxilado e propoxilado contendo óleo de copaíba e fluconazol potencialmente ativo contra dermatomicoses*” Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, Brasil (2011).
70. Prow, T. W.; Grice, J. E.; Lin, L. L.; Faye, R.; Butler, M.; Becker, W.; Wurm, E. M.T.; Yoong, C.; Robertson, T. A.; Soyer, H. P.; Roberts, M. S. - *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **63**, p.73 (2011).
71. Martins, M. R. F. & Veiga, F. - *Braz. J. Pharm. Sci.*, **38** (2002).
72. Piérard, G. E.; Piérard-Franchimont, C. - *Ver. Med. Liege.*, **51**, p.729 (1996).
73. Klein, T. - “*Desenvolvimento de sistemas nanoestruturados estabilizados com álcool cetílico etoxilado e propoxilado contendo fluconazol potencialmente ativo contra*

- esporotricose*”, Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, Brasil (2007).
74. Luz, G. M. – “*Desenvolvimento e caracterização de microemulsões e cristais líquidos estabilizados com álcool etílico etoxilado e propoxilado para administração cutânea de fármacos*”, Projeto de Iniciação Científica, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, Brasil (2011).
75. Landgraf, D. S. – “*Desenvolvimento e caracterização física de microemulsões estabilizadas com álcool cetílico etoxilado e propoxilado para administração tópica*”, Projeto de Iniciação Científica, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, Brasil, (2008).
76. Friend, D. R. – *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **7**, p. 149 (1991). [http://dx.doi.org/10.1016/0169-409X\(91\)90051-D](http://dx.doi.org/10.1016/0169-409X(91)90051-D)

Enviado: 27/11/12

Reenviado: 25/04/13

Aceito: 27/06/13