

**UNIVERSIDADE DE SOROCABA**  
**PRÓ-REITORIA ACADÊMICA**  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACEUTICAS

Daiane Tenor Lopes

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES POLIMÉRICOS  
MUCODESIVOS COM POTENCIAL DE USO PARA O TRATAMENTO  
DA MUCOSITE ORAL AGUDA INDUZIDA POR QUIMIOTERAPIA E  
RADIOTERAPIA**

**Sorocaba/SP**

**2013**

Daiane Tenor Lopes

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES POLIMÉRICOS  
MUCODESIVOS COM POTENCIAL DE USO PARA O TRATAMENTO  
DA MUCOSITE ORAL AGUDA INDUZIDA POR QUIMIOTERAPIA E  
RADIOTERAPIA**

Dissertação apresentada à Banca Examinadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba, como exigência parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Marco Vinicius Chaud

Sorocaba/SP

2013

Daiane Tenor Lopes

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES POLIMÉRICOS  
MUCODESIVOS COM POTENCIAL DE USO PARA O TRATAMENTO  
DA MUCOSITE ORAL AGUDA INDUZIDA POR QUIMIOTERAPIA E  
RADIOTERAPIA**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba.

Aprovado em: 31/07/2013

BANCA EXAMINADORA:

---

Orientador: Prof. Dr. Marco Vinicius Chaud  
Universidade de Sorocaba (UNISO)

---

1°. Exam.: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Patrícia Severino  
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

---

2°. Exam.: Prof. Dr. Halbert Villalba  
Universidade Paulista (UNIP)

## DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho primeiramente a Deus, pela saúde, força e determinação para alcançar este objetivo.

Aos meus queridos pais Jorge, Walkiria e ao meu padrasto Clovis por acreditarem em mim, por todo sacrifício que fizeram, para que aqui eu estivesse e principalmente por acreditarem sempre em meu potencial.

Ao meu doce avô Erenio, que mesmo no silêncio das palavras não ditas, me deu forças para continuar, me incentivando a nunca desanimar.

Ao meu querido companheiro Robson, pelo amor e carinho, por estar lado a lado comigo durante esta árdua caminhada, por me fazer acreditar que vale a pena lutar, por ter chorado das mesmas lágrimas e por rir as mesmas risadas, por acreditar que a vitória aconteceria.

Finalmente dedico este, a todos que perto ou longe, de uma forma ou de outra, me deram forças para continuar rumo a este sonho.

Dedico com amor a vocês.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ser à base das minhas conquistas. À minha família por acreditar sempre em minhas escolhas, apoiando-me e esforçando-se junto a mim. Muito obrigado pela compreensão e carinho.

Agradeço imensamente aos meus mestres, Dr.<sup>a</sup> Perla Porto Leite Shitara e Dr. Marco Vinicius Chaud pelo brilhantismo e amor em ensinar, pelos preciosos conhecimentos a mim concedidos, contribuindo para essa conquista. Por toda dedicação e carinho em suas orientações prestadas na elaboração deste trabalho me incentivando e colaborando no aprimoramento de minhas ideias.

Agradeço também a todos os funcionários do Serviço de Odontologia do Conjunto Hospitalar de Sorocaba - (Luzia, Cláudia, Cristiane) pela dedicação e carinho.

Agradeço também a minha colega de trabalho Liliane C. F. de Souza pela amizade, força e carinho em todos esses anos de formação.

Agradeço ao Serviço de Pacientes com Necessidades Especiais do Setor de Odontologia do Conjunto Hospitalar de Sorocaba (CHS), pela experiência tão grandiosa em minha vida profissional.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento e pela confiança depositada durante o desenvolvimento deste projeto de pesquisa.

Agradeço à Universidade de Sorocaba (UNISO) por todo apoio durante a elaboração e desenvolvimento deste trabalho de pesquisa.

As alunas Laura e Juliana, colaboradoras do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC), pela contribuição na prospecção deste trabalho.

A todos que de alguma maneira me ajudaram a concluir este trabalho e me deram o incentivo para levá-lo adiante, meu muito obrigado!

## RESUMO

Tratamentos antineoplásicos como quimioterapia e radioterapia para tratamento de câncer na região de cabeça e pescoço causam, invariavelmente, mucosite oral. Esta grave consequência leva a modificações indesejadas no protocolo do tratamento antineoplásico, prejudica o estado nutricional e diminui a qualidade de vida de pacientes em tratamento. Tratar ou prevenir o agravamento da mucosite oral destes pacientes é, sobretudo, um grande desafio científico. O desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos para aliviar a dor local, estimular a reepitelização do tecido, manter a umidade da mucosa, e promover a descontaminação seletiva de microrganismos pode contribuir significativamente para tratamento da doença e para o bem estar dos pacientes. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi à preparação e avaliação *in vitro* e *in vivo* de dispositivos orais, na forma de filme mucoadesivos e hidrogelatinosos, para liberação bucal de fármacos para prevenir e tratar a mucosite oral. Os dispositivos orais foram preparados na forma de uma mistura de polímeros, cuja base foi composta de carboximetilcelulose ultrapurificada (CMC), polivinilpirrolidona K30 (PVP), hidroxipropilmetilcelulose K4M (HPMC K4M), hidroxipropilmetilcelulose 100 (HPMC 100), hidroxietilcelulose (HEC) e quitosana de baixa massa molar (QT). Para obtenção dos filmes foi adotada 2 técnicas, sendo uma delas por moldagem e a outra técnica por extensão do hidrogel. As propriedades morfológicas, mecânicas e biofarmacotécnicas dos filmes foram avaliadas *in vitro*. Estudo piloto *in vivo* foi realizado para avaliar, preliminarmente, a mucoadesão. Os resultados dos estudos com os hidrogéis mostraram o comportamento de fluxo de cada polímero bem como da mistura e das concentrações adequadas de cada polímero no hidrogel para a formação de um dispositivo oral na forma de filme bicamada, hidrogelatinoso e mucoadesivo. A mucoadesão e a resistência mecânica medidas *in vitro* foram plenamente satisfatórias para alcançar o produto desejado. Estudo piloto realizado *in vivo* demonstrou que o dispositivo oral adere á superfície do epitélio e que a erosão da camada apical observada visualmente foi gradual. Nesta perspectiva de produto com alto valor agregado, os dispositivos orais na forma de filme hidrogelatinoso mucoadesivo podem ser uma alternativa promissora na prevenção e tratamento da mucosite oral. O efeito da concentração dos polímeros sobre a liberação dos fármacos será avaliado posteriormente.

Palavras-chave: Mucosite Oral, Dispositivos Oraís, Filmes Mucoadesivos e Hidrogéis

## ABSTRACT

Cancer treatments such as chemotherapy and radiotherapy for cancer in the head and neck cause invariably oral mucositis. This serious consequence leads to undesired changes in the protocol for anticancer treatment, affect the nutritional status and decreases the quality of life of patients undergoing treatment. Treat or prevent the worsening of oral mucositis in these patients is primarily a great scientific challenge. Systems for controlled release of drugs to relieve local pain, stimulate epithelization tissue, maintaining moisture in the mucosa, and promote selective decontamination of microorganisms can contribute significantly to disease treatment and the well being of patients. In this context, the aim of this work was the preparation and evaluation *in vitro* and *in vivo* oral appliances in the form of mucoadhesive films and hydrogelatinous for release oral drugs to prevent and treat oral mucositis. The oral devices were prepared in the form of a mixture of polymers, whose base is composed of ultrapure carboxymethylcellulose (CMC), polyvinylpyrrolidone K30 (PVP), hydroxypropylmethylcellulose K4M (HPMC K4M), hydroxypropylmethylcellulose 100 (100 HPMC), hydroxyethylcellulose (HEC) and chitosan low molecular weight (QT). To obtain the two films was adopted techniques, one being by molding and other techniques for extending the hydrogel. The morphological properties, mechanical and biopharmacotechnical of the films were evaluated *in vitro*. *In vivo* pilot study was conducted to evaluate preliminarily the mucoadhesion. The results of the studies showed hydrogels flow behavior of each polymer mixture and as well as the appropriate concentrations of each polymer in the hydrogel to the formation of an oral appliance in the form of a film bilayer mucoadhesive and hydrogelatinous. However, the mechanical strength mucoadhesion and *in vitro* measurements were fully satisfactory to achieve the desired product. Pilot study *in vivo* showed that the oral device adheres to the surface of the epithelium and the erosion of the apical layer was visually observed gradual. From the perspective of product with high added value, oral applications as hydrogelatinous mucoadhesive film may be a promising alternative for the prevention and treatment of oral mucositis. The effect of polymer concentration on the release of drug will be evaluated later.

Keywords: Oral Mucositis, Oral Devices, Mucoadhesive Films, Hydrogels

## LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Tempo aproximado de residência de soluções aplicadas sobre áreas selecionadas do corpo humano.....	20
Tabela 2 - Propriedades estruturais dos epitélios da cavidade oral .....	29
Tabela 3 – Características de massa molecular, viscosidade específica de polímeros hidrodispersíveis .....	36
Tabela 4 - Propriedades adesivas de diferentes polímeros .....	37
Tabela 5 - Formulações dos hidrogéis.....	55
Tabela 6 - Formulação (F7) á base da mistura dos hidrogéis de CMC,HPMC K4M e QT. ....	56
Tabela 7 - Resultado da viscosidade dos hidrogéis de CMC (F2), HPMC K4M (F4), QT (F6) e da mistura (F7).....	64
Tabela 8 - Desempenho de mucoadesão das amostras F2 e F7 para diferentes tempos de contato.....	73
Tabela 9 - Resistência mecânica (Kg $\pm$ DP) dos filmes hidrogelatinosos à tração e perfuração e tempo de resistência (seg $\pm$ DP) em função da força (Kg) aplicada (ASC), n=3 .....	74
Tabela 10 - Resultado do estudo de vitalidade celular.....	77

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Classificação da MO segundo a Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) e a Eastern Consortium for Cancer Nursing Research (EORTC).....	47
Quadro 2 - Escala de graduação da MO, de acordo com OMS (1979).....	47

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura esquemática da mucina.....	22
Figura 2 - Progressão da mucosite oral de acordo com os sinais e sintomas.....	44
Figura 3 - CEC de língua, com presença de Candidose oral e MO grau 2 induzida por Radioterapia.....	46
Figura 4 - Aspectos clínicos da MO em diferentes graus de acometimento: A e B MO grau 1; C e D MO grau 2; E e F MO grau 3; G e H MO grau 4; .....	48
Figura 5 - Extensor de hidrogel para preparação de filmes hidrogelatinosos sobre placas de vidro. ....	57
Figura 6 - Aspecto físico da preparação do hidrogel antes da extensão,(a) com bolhas de ar , (b)sem bolhas de ar.....	62
Figura 7 – Resultados obtidos para a relação entre tensão de cisalhamento ( $\Gamma$ ) e taxa de cisalhamento ( $\gamma$ ) para F2 (■), F4 (●), F7 (▲) e na inserção F6 (◆).....	65
Figura 8 – Resultados obtidos para a relação entre viscosidade ( $\eta$ ) e taxa de cisalhamento ( $\gamma$ ) para F2 (■), F4 (●), F7 (▲) e na inserção F6 (◆).....	66
Figura 9 - Hidrogel estendido sobre a placa de vidro, (A)antes e (B) depois da secagem.....	68
Figura 10 - Filmes hidrogelatinosos mucoadesivos (A) sem corante e (B) corados. ....	68
Figura 11 - Filme Hidrogelatinoso na embalagem original, (A) embalagem lacrada e (B) embalagem aberta.....	69
Figura 12 - Características morfológicas adequadas dos filmes hidrogelatinosos ....	70
Figura 13 - Sequência de imagens da aplicação do filme: introdução na cavidade oral e posicionamento do mesmo sob o palato. ....	70
Figura 14 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura da face superior do filme (painel A), face inferior do filme (painel B) e cortes transversais em diferentes amplificação.....	72
Figura 15 - Resultados das forças de perfuração (A) e tração (B) do filme de CMC (F2).....	74
Figura 16 - Resultados das forças de perfuração (A) e tração (B) do filme de HPMC (F4).....	75

Figura 17 - Resultados das forças de perfuração (A) e tração (B) do filme da mistura CMC: HPMC:QT (F7).....	75
Figura 18 - Resultado do estudo de viabilidade celular na presença dos filmes hidrogelatinosos mucoadesivos para as formulações F2 (amostra A); F 7 (amostra B) e F7 + fármaco (amostra C). ....	78
Figura 19 – Resultados obtidos na cultura de células com filme, (A) Amostra C - F7+fármaco e (B) cultura de células controle.....	78
Figura 20 – Resultados obtidos no estudo de viabilidade celular de células da linhagem MCF7 na presença das amostras A (F2), B (F2 +F7), C (F2+F7+ fármacos) em relação ao controle.....	80
Figura 21 -Sequência de imagens do estudo piloto realizado in vivo com o FHM sem a presença de fármacos.....	82

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS, SÍMBOLOS E UNIDADES

$\gamma$	taxa de cisalhamento
$\tau$	tensão de cisalhamento
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
$A_o$	área de superfície total
CMC	carboximetilcelulose ultrapurificada
FHM	filme hidrogelatinoso mucoadesivo
$F_m$	força máxima de tensão
$h$	espessura da camada do adesivo.
HEC	hidroxietilcelulose
HPMC 100	hidroxipropilmetilcelulose 100
HPMC K4M	hidroxipropilmetilcelulose K4M
ISOO	International Society of Oral Oncology
$k$	energia dissipada
MASCC	Multinational Association for Supportive Care in Cancer
MEV	microscopia eletrônica de varredura
MO	mucosite oral
$\eta$	viscosidade do fluido.
OMS	Organização Mundial da Saúde
pH	potencial de Hidrogênio
PVP	polivinilpirrolidona K30
QT	quitosana de baixa massa molar
$S_m$	força máxima de tensão
T	temperatura
y	velocidade
$\alpha$	ativa
$\varepsilon$	tensão
$\phi$	energia de superfície

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	14
2 OBJETIVOS .....	17
2.1 Objetivo Geral .....	17
2.2 Objetivos Específicos .....	17
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	18
3.1 Via mucosal para administração de fármacos .....	18
3.2 Retenção no local de administração ou Bioadesão .....	19
3.3 Substratos orgânicos para mucoadesão .....	20
3.4 Mecanismos de Mucoadesão .....	23
3.4.1 Teoria Eletrônica .....	24
3.4.2 Teoria da Adsorção .....	24
3.4.3 Teoria do Intumescimento .....	24
3.4.4 Teoria da Difusão .....	25
3.4.5 Teoria da fratura .....	26
3.5 Cavidade oral para liberação de fármacos .....	27
3.5.1 Principais aspectos biofarmacotécnicos da cavidade bucal .....	28
3.5.2 Principais barreiras para absorção bucal de fármacos .....	29
3.6 Desenvolvimento de dispositivos bucais bioadesivos .....	31
3.6.1 Objetivos e requisitos terapêuticos e físico-químicos .....	31
3.6.2 Modelo e geometria dos dispositivos intraorais .....	34
3.7 Formulação e caracterização de dispositivos mucoadesivos .....	35
3.8 Mucosite .....	39
3.8.1-Etiologia .....	39
3.8.2 Fisiopatologia .....	42
3.8.3 Manifestações Clínicas e complicações .....	44
3.8.4 Formas de prevenção e tratamento .....	48
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	54
4.1 Material .....	54
4.2 Métodos .....	54
4.2.1 Preparação dos hidrogéis .....	54
4.2.2 Avaliação dos hidrogéis .....	55

4.2.3	Preparação dos dispositivos orais .....	56
4.2.4	Caracterização dos dispositivos orais .....	57
4.2.4.1	Caracterização morfológica .....	58
4.2.4.2	Avaliação da espessura e determinação da massa dos filmes após secagem. .....	58
4.2.4.3	Caracterização das propriedades mecânicas de resistência à perfuração e tração. ....	58
4.2.4.4	Avaliação da citotoxicidade .....	59
4.2.4.5	Avaliação da mucoadesão .....	60
4.2.4.6	Avaliação piloto “in vivo” da manipulação e aplicação dos filmes hidrogelatinosos sem fármaco.....	61
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	62
5.1	Avaliação dos Hidrogéis .....	62
5.2	Avaliação dos dispositivos orais.....	67
5.2.1	Caracterização morfológica e organoléptica .....	69
5.2.2	Avaliação da Mucoadesão .....	73
5.2.3	Avaliação das propriedades mecânicas de resistência a perfuração e fratura.	77
5.2.4	Avaliação da citotoxicidade .....	77
5.2.5	Avaliação piloto “in vivo” sob a erosão do filme sem fármacos. ....	81
6	CONCLUSÃO.....	85
	Referências .....	87
	Anexo A - Aprovação do Projeto de Pesquisa e Emendas .....	97

## INTRODUÇÃO

Radioterapia e quimioterapia causam efeitos adversos agudos e tardios em pacientes submetidos a tratamento antineoplásico. Os efeitos agudos ocorrem durante a radioterapia e/ou a quimioterapia e acometem tecidos com alta taxa de renovação celular, tais como as mucosas oral, intestinal e vaginal

A mucosa bucal possui alta taxa de proliferação celular, sendo particularmente, vulnerável a terapia citotóxica. Dois mecanismos podem induzir o aparecimento das complicações bucais durante o tratamento do câncer, efeito direto do tratamento na mucosa bucal (estomatotoxicidade direta) ou efeito indireto resultante de agentes citotóxicos e mielossuppressores (estomatotoxicidade indireta).

As terapias antineoplásicas, com protocolos bem delineados e validados têm aumentado a sobrevida dos pacientes com câncer. Entretanto, a qualidade de vida não aumentou na mesma proporção. Nos tratamentos do câncer de cabeça e pescoço as principais e inevitáveis consequências do tratamento quimioterápico e radioterápico são a mucosite e a xerostomia.

A mucosite oral é caracterizada por lesões eritematosas e ulcerativas da cavidade oral e é extremamente dolorosa. O surgimento da mucosite causado pela quimioterapia ou pela radioterapia dificulta a continuidade do tratamento antineoplásico, afeta a nutrição e a qualidade de vida do paciente contribuindo para o aparecimento de infecções locais e sistêmicas.

Embora as complicações bucais provocadas pelo tratamento antineoplásico sejam muitas, existem estratégias medicamentosas que poderiam minimizar ou prevenir estas alterações, proporcionando ao paciente melhor qualidade de vida e ao clínico melhores condições para cumprir o protocolo de tratamento.

O presente trabalho é caracterizado como pesquisa científica e tecnológica nas áreas de biotecnologia, farmacotécnica e biomateriais. Os objetivos do trabalho estão direcionados para o desenvolvimento tecnológico de forma farmacêutica mucoadesiva para liberação modificada de fármacos na cavidade oral, controle das etapas envolvidas no processo de produção e avaliação *in vitro* e *in vivo*.

Os resultados são destinados primeiramente ao tratamento da mucosite oral causada pelas terapias antineoplásicas. Contudo, também, podem servir de

subsídios para o desenvolvimento de outras formas farmacêuticas para tratamento de mucosites da faringe e da vagina.

É evidente que a mucosite causada em pacientes submetidos a tratamento quimioterápico e radioterápico é um problema debilitante e grave, não apenas do ponto de vista da recuperação da neoplasia, mas também da saúde e da qualidade de vida das pessoas. Apesar da severidade da doença não, estão publicados inovações terapêuticas para reduzir a morbidade e a comorbidade causada pela mucosite.

Portanto, o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos promissores, não necessariamente novos fármacos, deve ser apoiado e avaliado clinicamente para, posteriormente, serem aprovados para gerenciamento desta condição debilitante e multicausal.

Não foram encontrados estudos avaliando se agentes que atuam por diferentes mecanismos podem ser utilizados em combinação para aumentar a eficácia clínica do tratamento da mucosite. Portanto, a investigação mais promissora, seja pelo conhecimento acumulado ou pela possibilidade de resultados em curto prazo, deve ser centrada no uso de novas tecnologias de veiculação e liberação de fármacos que aumentem a eficácia dos ativos já conhecidos e favoreçam a adesão à continuidade do tratamento antineoplásico.

A redução nos níveis de morbidade da mucosite ajudaria a evitar a indesejada redução da dose ou a não programada interrupção na terapia do câncer, melhorando assim os resultados dos tratamentos antineoplásicos.

Neste estudo é esperado que a partir de material biocompatível, sejam obtidos hidrogéis mucoadesivos e mucoprotetores com liberação controlada de fármacos. Estes hidrogéis constituirão biomateriais capazes de prevenir ou reduzir a gravidade das mucosites e outras comorbidades orais em pacientes em tratamento do câncer de cabeça e pescoço.

Estes novos biomateriais, ainda não descritos na literatura para a aplicação pretendida, contribuirão para evitar as constantes interrupções nos tratamentos antineoplásicos causadas por debilidades físicas, possibilitarão a manutenção do equilíbrio nutricional e, conseqüentemente, uma melhor qualidade de vida aos pacientes em tratamento radioterápico e quimioterápico.

Nestas condições será possível aumentar qualitativamente as opções disponíveis para o tratamento de pacientes com câncer na área de cabeça e pescoço, submetidos à quimioterapia ou à radioterapia.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Preparação e avaliação de dispositivos orais, na forma de filmes poliméricos mucoadesivos e hidrogelatinosos, para liberação bucal de fármacos para prevenção e tratamento da mucosite oral.

### 2.2 Objetivos Específicos

Preparação, seleção e avaliação dos hidrogéis;  
Avaliação físico-química da estrutura morfológica dos dispositivos orais;  
Avaliação da resistência mecânica dos dispositivos orais;  
Avaliação, "*in vitro*", da mucoadesão dos dispositivos orais;  
Avaliação, "*in vitro*", da citotoxicidade dos dispositivos orais;  
Avaliação piloto "*in vivo*" da manipulação e aplicação dos filmes hidrogelatinosos em um grupo de pacientes.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Via mucosal para administração de fármacos

A maioria dos excipientes utilizados na produção de formas farmacêuticas, para administração de fármacos, é vista como carreador passivo de compostos, ou seja, farmacologicamente inativos. Com esta perspectiva, a função principal dos excipientes é manter a estabilidade da formulação, na sua embalagem original, durante um período determinado de tempo, e permitir que a dose terapêutica do fármaco, liberada no sítio de absorção, esteja disponível no local de ação.

Os excipientes não funcionais estão enquadrados as formas farmacêuticas mais consumidas, como soluções, suspensões, comprimidos ou cápsulas ingeridas oralmente e cremes, pomadas e géis aplicados topicamente. Todos estes carreadores passivos contidos na forma farmacêutica podem ser designados de formas de dosagem (AUNGST, 2012).

Uma visão mais moderna e inovadora do uso dos excipientes e da relação dos mesmos com a via de administração e com o local de absorção está centrada em considerar que o sistema de tratamento medicamentoso contribua de forma decisiva, na liberação espacial e temporal do fármaco, otimizando o desempenho terapêutico do medicamento. As formas farmacêuticas compostas por excipientes multifuncionais, que além de garantir a estabilidade do produto farmacêutico, participam ativamente do processo de liberação e absorção, contemplam a designação de sistemas de liberação de fármacos (CHOI LEE *et al.*, 2012).

Embora, possa parecer razoavelmente fácil elencar uma ampla faixa de características físico-químicas e biológicas que devem estar presente nos sistemas de liberação de fármacos, a tarefa é complexa, pois envolve aspectos multifatoriais.

Para simplificar a argumentação sobre a questão relacionada a carreadores passivos ou ativos o foco desta revisão priorizará a permeação mucosal para absorção de fármacos. Estas vias incluem o globo ocular, o nariz, a boca, a vagina e o trato gastrointestinal. Para cada uma destas vias algumas características fundamentais são comuns e devem ser consideradas em todos os sistemas de liberação de fármacos. Entre estes os mais relevantes são: i) retenção no local de administração; ii) modulação da liberação do fármaco; iii) proteção do fármaco

contra degradação química ou enzimática; iv) promoção da absorção; v) biocompatibilidade. Embora esta relação sugira o uso de multicomponentes, uma provável alternativa seria o uso de componentes multifuncionais (CHOI LEE *et al.*, 2012).

Para explorar a via mucosal como alternativa para administração de fármacos através de sistemas de liberação planejados, os polímeros são exemplos de compostos multifuncionais que melhor atendemos requisitos citados acima.

### **3.2 Retenção no local de administração ou Bioadesão**

As vias que normalmente são usadas para administração de medicamentos fazem parte de um complexo sistema de proteção do organismo que ao mesmo tempo inutilizam e/ou eliminam substâncias estranhas ao organismo. Cada compartimento do corpo humano apresenta um mecanismo de autodepuração, para remover material exógeno ou endógeno não desejado (MC INNES *et al.*, 2008).

A Tabela 1 apresenta o tempo aproximado de residência de medicamentos em algumas vias de administração (YANG E ROBINSON, 1998). Embora haja uma variação considerável nestes tempos de residência, influenciada pela idade, massa corporal, hábitos de vida, alimentação, compatibilidade biológica, entre outros, os dados justificam a necessidade de prolongar o tempo de retenção da forma farmacêutica no local de absorção.

Um exemplo representativo do problema são as mucosas do olho e da boca. No olho o tempo médio de residência na mucosa é de 90 segundos com um desvio de mais ou menos 30 segundo (MAINARDES *et al.*, 2005). Na cavidade oral o tempo de residência é 2 – 30 minutos (SHINKAR *et al.*, 2012). Em ambos os casos o tempo é curto o que justifica a importância de prolongar o tempo de retenção tanto para efeito local como sistêmico.

Tabela 1 - Tempo aproximado de residência de soluções aplicadas sobre áreas selecionadas do corpo humano.

<b>Via de administração</b>	<b>Tempo de residência sem bioadesivos</b>	<b>Tempo de residência com policarbofil</b>
<b>Ocular</b>	01 – 02 minutos	12 – 15 minutos
<b>Nasal</b>	02 – 60 minutos	06 – 12 minutos
<b>Bucal</b>	02 – 30 minutos	06 – 12 minutos
<b>Vaginal</b>	30 – 90 minutos	03 – 04 dias

Fonte: Adaptação de Yang e Robinson, 1998.

### 3.3 Substratos orgânicos para mucoadesão

Bioadesivos são materiais de natureza sintética ou natural que podem aderir a uma superfície biológica e permanecem retidos por um longo período de tempo. O termo mucoadesão é usado quando o substrato é a mucina (SALAMAT-MILLER *et al.*, 2005).

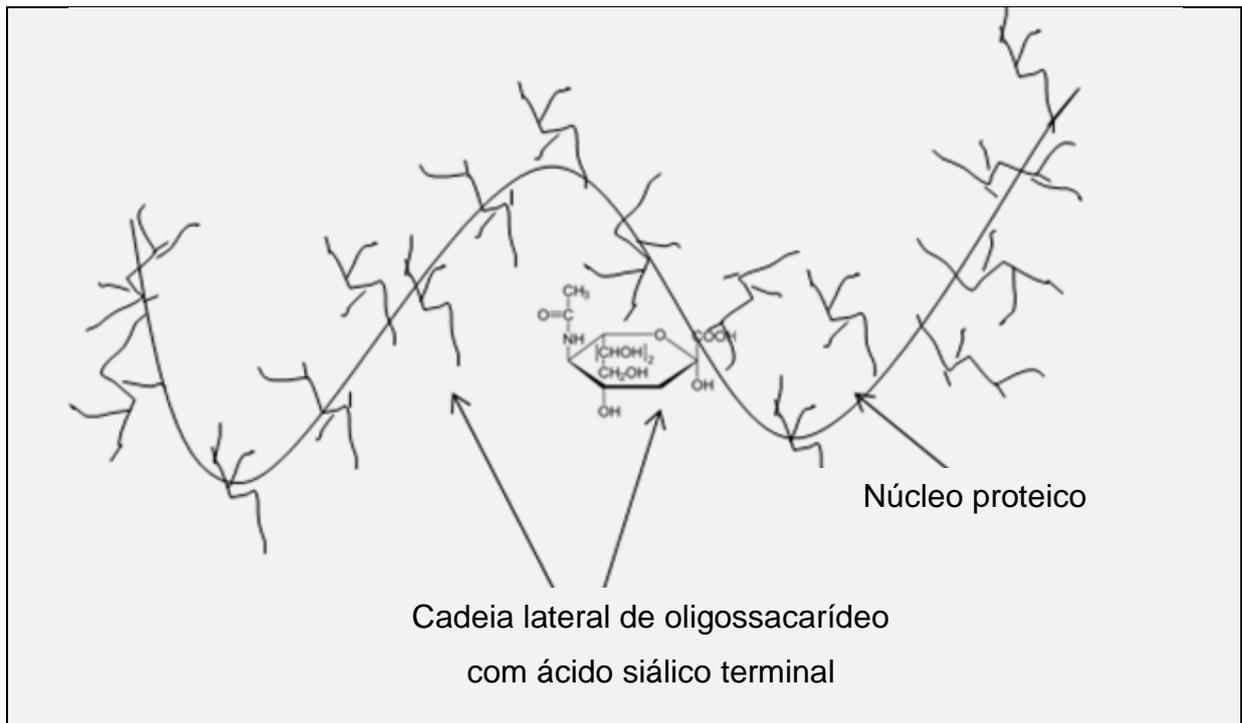
Embora a bioadesão seja um fenômeno comum, a compreensão do mecanismo desta ação não está completamente estabelecido. A percepção sobre a interação dos polímeros com a superfície biológica está sendo mais bem detalhada conforme os conhecimentos sobre a engenharia de polímeros vão atingindo novos patamares. No entanto, para uma melhor compreensão do fenômeno de bioadesão, é necessário examinar as principais características físico-químicas do substrato no qual um polímero vai aderir, especificamente, o muco e a superfície do tecido epitelial.

O muco é um gel viscoelástico inteiramente hidratado que recobre a superfície das mucosas. A principal e mais importante função do muco é proteger as células epiteliais de danos físicos, químicos, e/ou biológicos provocados por ação mecânica, por xenobióticos e por microrganismos patogênicos. Além desta função, o muco promove lubrificação e atua como agente molhante e controlador do teor de água na superfície adjacente ao epitélio (FIGUEIRAS *et al.*, 2008; DE VRIES *et al.*, 1988). O muco é composto de mucina, anticorpo IgA, enzimas, tensoativos e lipídios livres. Os anticorpos são mucofílicos e combatem a entrada de microrganismos na superfície epitelial (WU *et al.*, 1994).

A mucina é definida como o componente marcador do muco. O principal componente da mucina é uma glicoproteína de elevada massa molar ( $2 \times 10^6$  kDa), responsável pela propriedade viscoelástica do muco (TEUBL *et al.*, 2013). A representação esquemática do muco é mostrada na Figura 1. A presença de ácido siálico e de ésteres de sulfato confere ao muco uma carga elétrica negativa nas extremidades da cadeia de oligossacarídeos. O pKa aproximado destes ácidos varia de 1,0 a 2,5, desta forma no pH fisiológico estes compostos estão totalmente na forma ionizada. A massa do núcleo de proteína representa de 12 a 17% da massa total da molécula e aproximadamente 70% dos aminoácidos são serina, treonina e prolina. A massa molar remanescente corresponde aos oligossacarídeos que são compostos de N-acetilgalactosamina, N-acetilglucosamina, galactose, fucose e ácido neuramínico. O grupo N-acetilgalactosamina na cadeia lateral é atacado por grupamentos hidroxila da serina/treonina no interior no núcleo protéico (SLOMIANY *et al.*, 1988).

A estrutura da glicoproteína tem sido descrita por dois modelos. Um deles é o “*bottle brush border*”, no qual a cadeia terminal do núcleo proteico é não-glicosilada e o restante da proteína é glicosilada. O outro modelo é o “*rolling pin model*”, no qual a parte central do núcleo da proteína é glicosilada e as extremidades finais são não-glicosiladas. Em ambos os casos, cerca de 60% do núcleo da proteína é recoberto por cadeias de oligossacarídeos ramificadas. O modelo “*rolling pin*” é mais bem aceito, desde que ambas as terminações possam ser unidas por ligações dissulfeto, para formar segmentos lineares, os quais podem ser visualizados por microscopia eletrônica de varredura (ELIASSON E CARLEN, 2010).

Figura 1 - Estrutura esquemática da mucina.



Fonte: SLOMIANY, MURTY *et al.*, 1988.

O muco pode captar cerca de 40 vezes o seu peso em água para formar a dispersão gelatinosa, suficientemente viscosa para permitir boa fluidez e resistir à pressão osmótica e à dissolução. Tais características são devidas à união das moléculas de glicoproteínas, as quais são unidas por ligações não-covalentes. A força de retenção primária da união das glicoproteínas não está suficientemente explicada. No entanto, como o gel não se dissolve em soluções salinas as ligações iônicas podem ser descartadas. Neste caso, as ligações de hidrogênio seriam a causa da força de retenção primária (TEUBL *et al.*, 2013).

A espessura e o tempo de renovação da camada de muco são variáveis, e estão condicionadas à localização da mucosa no corpo humano, idade, sexo e hábitos de vida. A espessura da camada do muco pode variar de 1 a 400  $\mu\text{m}$  e o tempo de renovação de 1 a 5 horas (KERSS *et al.*, 1982; ALLEN *et al.*, 1988). Tanto a espessura como o tempo de renovação são aspectos biofarmacêutico que podem interferir na taxa de absorção e na mucoadesão (SAROSIEK *et al.*, 1988; VERDUGO, 1991). Ambas as características devem ser consideradas durante o desenvolvimento de formulações farmacêuticas.

As células goblet são as fontes primárias de produção e secreção de muco. No entanto, glândulas gástricas, cardíacas e sub mucosais são importantes fontes

de secreção de muco. Células goblet têm, geralmente, formato de cálice nas vias aéreas, mas não têm formato fixo em outras mucosas. O ciclo de vida destas células é em torno de 2 a 3 dias (LIPKIN, 1981). A secreção é acompanhada por exocitose ou esfoliação (expulsão basal). As células goblet podem manter uma taxa de secreção lenta e permanente através da liberação de um único grânulo secretório, ou de um pico de secreção que libera, em um período curto de tempo, todos os grânulos intracelulares (JOHANSSON, 2012).

O cálcio é conhecido pela sua capacidade de precipitar a mucina. Agentes quelantes tais como o ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) é capaz de reverter o processo e dissolver o muco precipitado. Por outro lado, uma alta concentração de cálcio pode aumentar a força de adesão e a taxa de hidratação. Algumas evidências suportam a hipótese da presença de cálcio nos grânulos de mucina no interior das células. A carga elétrica positiva do íon cálcio contrabalança a força repulsiva entre os grupos de mucina carregados negativamente. Após a exocitose, o cálcio é diluído e a repulsão entre os grupos de mucina força a sua expansão volumétrica em centenas de vezes o valor inicial no curto prazo de 5 a 10 segundos (VERDUGO *et al.*, 1987; VERDUGO *et al.*, 1987; VERDUGO, 1991).

A membrana celular é composta de uma bicamada lipídica associada a proteínas e polissacarídeos com uma espessura de aproximadamente 5 nm. Os principais componentes da superfície epitelial são lipídeos (colesterol, fosfolipídeos e esfingolipídeos), proteínas e carboidratos ligados às proteínas ou lipídeos com glicoproteínas e glicolipídeos. A maioria dos carboidratos nas glicoproteínas e glicolipídeos são glicose, galactose, manose, fucose e açúcares N-acetilados (N-acetilglucosamina, N-acetilgalactosamina e ácido N-acetilneuramínico (ácido siálico). Na superfície epitelial as estruturas contendo polissacarídeos são chamadas de glicocálice (YANG e ROBINSON, 1998).

### **3.4 Mecanismos de Mucoadesão**

O estudo da adesão de materiais a determinadas superfícies não é uma nova ciência. A mesma teoria sobre adesão utilizada para explicar e prever o desempenho de colas, adesivos e tintas é aplicado para sistemas bioadesivos.

Em geral cinco teorias têm sido adaptadas para estudar o fenômeno da bioadesão: eletrônica, adsorção, intumescimento, difusão e fratura (SUDHAKAR *et*

*al.*, 2006). Destas teorias algumas são baseadas na formação de ligações mecânicas, enquanto outras estão focadas nas interações químicas (THU *et al.*, 2012). De qualquer forma a mucoadesão é um mecanismo para aumentar o tempo de retenção do fármaco no local de aplicação. O interesse no efeito muco adesivo é acompanhado de interesse também no efeito de liberação controlada.

#### 3.4.1 Teoria Eletrônica

A hipótese da teoria eletrônica é baseada no pressuposto de que o material bioadesivo e o material biológico possuem diferentes estruturas eletrônicas. Neste caso, quando os dois materiais entram em contato, ocorre transferência de elétrons numa tentativa de equilíbrio do sistema, causando a formação de bicamadas de cargas elétricas na interface do material bioadesivo e na superfície biológica. A teoria eletrônica tem produzido algumas controvérsias a respeito das forças eletrostáticas. Alguns autores apontam esta teoria como uma importante causa da bioadesão, outros a apontam como efeito do contato entre as superfícies dos componentes bioadesivos e do meio biológico (BIRUDARAJ *et al.*, 2005).

#### 3.4.2 Teoria da Adsorção

A teoria da adsorção estabelece que a ligação bioadesiva, formada entre um substrato adesivo e o tecido ou a mucosa é devido às interações de van der Waals, ligações de hidrogênio e forças relacionadas. Embora estas forças sejam individualmente fracas, o número de interações pode produzir intensa força adesiva. Para efeitos mucoadesivos, a teoria da adsorção é a mais amplamente aceita e tem sido profundamente estudada (VAN OSS, 1995).

#### 3.4.3 Teoria do Intumescimento

A capacidade do bioadesivo ou muco para se espalhar e desenvolver um contato íntimo com o substrato correspondente é um fator importante na formação de ligações. A teoria do intumescimento usa a tensão interfacial para prever o relaxamento das cadeias e o espalhamento, conseqüentemente, a adesão. Na maioria das pesquisas relacionadas ao fenômeno da bioadesão, o estudo da energia

de superfície dos polímeros e do tecido, para prever o desempenho mucoadesivo, tem sido considerado com muita atenção (ALHALAWEH *et al.*, 2011).

Além do coeficiente de espalhamento, outros parâmetros importantes que podem indicar a força de uma ligação adesiva, Equação 1 é o trabalho específico de adesão ( $W_{bt}$ ). De acordo com a equação de Dupré, (VAN OSS *et al.*, 1986), isto equivale á soma das tensões superficiais ( $gb$ ) do tecido ( $gt$ ) e do bioadesivo ( $b$ ), menos a tensão interfacial ( $gbt$ ):

$$W_{bt} = gb + gt - gbt \quad (1)$$

Desta forma, usando a teoria do intumescimento, é possível calcular o coeficiente de espalhamento de vários bioadesivos sobre o tecido biológico e prever a intensidade da ligação bioadesiva. Através das medidas das tensões interfaciais e de superfície é possível calcular o trabalho realizado na formação da ligação adesiva.

Tanto o coeficiente de espalhamento como o trabalho de adesão influencia diretamente a natureza da ligação bioadesiva e, portanto, fornece informações essenciais para o desenvolvimento de sistemas de liberação mucoadesivos.

#### 3.4.4 Teoria da Difusão

Esta teoria sugere que a formação de ligações bioadesivas não permanentes, se deve a interpenetração e conseqüente enrolamento entre as cadeias do polímero bioadesivo e as cadeias poliméricas do muco.

Este processo é conduzido por gradientes de concentração e é afetado pelo tamanho das cadeias do polímero e a sua mobilidade. A profundidade da interpenetração depende do coeficiente de difusão do polímero e do tempo de contato (STRÖM *et al.*, 1987).

Para que a difusão ocorra é importante que haja uma boa solubilidade de um dos componentes no outro. O bioadesivo e o muco devem também apresentar uma estrutura química similar, pois quanto maior a similaridade estrutural, mais forte será a ligação mucoadesiva a ser estabelecida (LEE *et al.*, 2000).

A interdifusão das cadeias do polímero e do muco através da interface depende também da concentração, do comprimento da cadeia, da mobilidade do polímero e do tempo e pressão de contato (SMART, 2005).

Não está determinado, exatamente, quantas ligações de interpenetração são necessárias para produzir uma ligação bioadesiva efetiva (LEE *et al.*, 2000). No entanto, uma faixa de 0,2 a 0,5  $\mu\text{m}$  é citada pela maioria dos pesquisadores (SUDHAKAR *et al.*, 2006). A profundidade da penetração ( $L$ ) pode ser estimada através da seguinte equação:

$$L = \sqrt{tD_b} \quad (2)$$

Na equação 2, o  $t$  representa o tempo de contato e  $D_b$  o coeficiente de difusão do material bioadesivo na camada de muco.

A teoria de difusão sugere que a força de ligação para um determinado polímero é alcançada quando a profundidade da penetração é igual a distancia entre o final de ambas as cadeias poliméricas (muco e polímero bioadesivo). Para que a difusão ocorra é importante que haja uma boa solubilidade de um dos componentes no outro. O bioadesivo e o muco devem também apresentar uma estrutura química similar, pois quanto maior a similaridade estrutural entre o bioadesivo e o substrato biológico mais forte será a ligação mucoadesiva estabelecida (LEE *et al.*, 2000).

#### 3.4.5 Teoria da Fratura

A teoria da fratura é a mais aplicada para estudar a bioadesão, através de medidas mecânicas. Esta teoria analisa as forças requeridas para separar duas superfícies após adesão (AHUJA *et al.*, 1997). Na Equação 3 a força máxima de tensão ( $S_m$ ) produzida durante a separação pode ser determinada dividindo a força máxima de tensão ( $F_m$ ), pela área de superfície total ( $A_o$ ) envolvida na interação adesiva:

$$S_m = \frac{F_m}{A_o} \quad (3)$$

Em um sistema uniforme de componente único, a força de fratura ( $S_f$ ), a qual é igual á força máxima de tensão ( $S_m$ ), é proporcional à energia de fratura ( $g_c$ ), módulo Young de elasticidade ( $E$ ) e o comprimento crítico ( $c$ ) no local da fratura, como descrito na Equação 4 (PLISZCZAK *et al.*, 2012):

$$S_f \sim \sqrt{g_c E / c} \quad (4)$$

A energia de fratura ( $g_c$ ) pode ser obtida da soma do trabalho reversível de adesão com o trabalho irreversível de adesão (deformação plástica). Ambos os valores são expressos por unidade de área da superfície de fratura (AHUJA *et al.*, 1997; ALHALAWEH *et al.*, 2011).

A bioadesão envolve aspectos biológicos e físico-químicos. Nesta pequena revisão dos mecanismos de adesão a tecidos biológicos foram discutidas as teorias e os conceitos desenvolvidos para descrever interações adesivas e explicar as forças relevantes associadas com ligações bioadesivas (HAGERSTROM *et al.*, 2000).

A taxa de interpenetração é dependente da flexibilidade da cadeia e coeficiente de difusão de ambos. A força adesiva é diretamente proporcional à profundidade da penetração da cadeia de polímeros (BERNKOP - SCHNURCH, 2005; BRUSCHI e DE FREITAS, 2005). Outros fatores não menos importantes são o tempo de contato, a presença de água e o comprimento da cadeia do polímero. Os tópicos envolvidos incluem ligações químicas e mecânicas, interações polímero-muco, o efeito da energia de superfície na bioadesão, o papel da hidratação e intumescimento do polímero e reologia do muco (FEFELOVA *et al.*, 2007). Em adição, a anatomia e fisiologia do tecido alvo bem como o mecanismo molecular e intracelular podem contribuir para a bioadesão.

### 3.5 Via de administração bucal

Sistemas de liberação de fármacos baseados em materiais mucoadesivos para uso na cavidade oral têm um potencial considerável para tratamento de patologias locais tais como, mucosites, infecções bacterianas, distúrbios das glândulas salivares e na anestesia tópica. Além disto, a via bucal apresenta

vantagens terapêuticas para ação sistêmica, quando comparada com outras vias de administração de medicamentos (HAGERSTROM *et al.*, 2000; HEEMSTRA *et al.*, 2010).

A cavidade oral apresenta características que a tornam um local desejável para liberação e absorção de fármacos, incluindo fluxo sanguíneo intenso e drenagem diretamente para o interior da veia jugular, evitando a passagem pelo fígado e poupando o fármaco do metabolismo hepático (HEEMSTRA *et al.*, 2010). Desta forma, os fármacos ficam livres das condições fisiologicamente drásticas das cavidades estomacal e intestinal, responsáveis pela degradação de muitos compostos ativos (LLABOT *et al.*, 2007).

Por outro lado a via bucal possibilita a administração de medicamentos para pessoas com dificuldade de deglutição, seja pela idade ou por obstrução mecânica do trato digestivo.

### 3.5.1 Principais aspectos biofarmacotécnicos dos produtos farmacêuticos destinados à cavidade oral

Para avaliar aspectos relativos ao planejamento e desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos com propriedades bioadesivas, é fundamental examinar aspectos anatômicos e fisiológicos da cavidade oral (PEH E WONG, 1999; NAPPINNAI M. *et al.*, 2008).

A área de superfície da mucosa na cavidade oral é de cerca de 100 cm<sup>2</sup>. O espaço é continuamente irrigado com saliva produzida pelas glândulas salivares. A saliva é um fluido ligeiramente ácido (pH 5,8 - 7,2) sem atividade de protease e níveis moderados de esterases, fosfatases e carbohidrases. A mucosa bucal está permanentemente recoberta por uma camada de saliva de aproximadamente 70 µm de espessura. A produção diária de saliva em seres humanos é de 750 – 1000 mL. Devido a este volume de fluxo salivar, fármacos em solução, suspensão ou em pós são removidos da boca, por deglutição, em poucos minutos (PATHER *et al.*, 2008).

Os tecidos da cavidade bucal podem ser divididos em 4 partes: i) bucal (bochechas e parte interna dos lábios); ii) sublingual (assoalho da cavidade bucal e parte ventral da língua); iii) palato (teto da cavidade bucal); iv) gengival (tecido ao redor dos dentes). O palato e a região gengival têm epitélio queratinizado, os demais não são queratinizados.

Algumas características destes tecidos são apresentados na Tabela 2. Para comparação, a pele humana tem aproximadamente 70  $\mu\text{m}$  de espessura, mas a camada limitante de queratina tem somente 16  $\mu\text{m}$ . Em contraste, a espessura do tecido bucal é de aproximadamente 600  $\mu\text{m}$  e a camada limitante é de 1/3 da parte superior deste tecido. Um fármaco aplicado topicamente apresenta um “lag time” para o seu aparecimento na corrente circulatória, proporcional á espessura do tecido. Desta forma, um intervalo de tempo considerável é esperado na administração na cavidade oral, a menos que um facilitador de permeação seja utilizado (SAHNI J *et al.*, 2008).

Tabela 2 - Propriedades estruturais dos epitélios da cavidade oral

<b>Região</b>	<b>Espessura (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Queratinização</b>	<b>Lipídeos intercelulares</b>
<b>Bucal (bochecha e lábios)</b>	500 - 600	Não	Polar
<b>Palato</b>	250	Sim	Não polar
<b>Sublingual</b>	100 - 200	Não	Polar
<b>Gengival</b>	200	sim	Não polar

Fonte: Adaptado de SAHNI J, RAJ S. *et al.*, 2008

A via paracelular é a rota preferida para permeação de fármacos, polares e hidrossolúveis, através dos tecidos da cavidade oral, incluindo peptídeos e proteínas. Por esta razão, a natureza dos lipídeos intercelulares é um aspecto relevante na absorção de fármacos. Uma relação entre os tecidos não queratinizados e a natureza polar dos lipídeos é evidente. Este fato é importante na escolha dos facilitadores de permeação.

### 3.5.2 Principais barreiras para a absorção bucal de fármacos

As principais barreiras para a liberação bucal de fármacos são a área de superfície, relativamente pequena quando comparada com a de outras regiões do trato digestivo e a permeabilidade relativamente baixa dos tecidos.

A atividade enzimática e o tempo de residência, também, são aspectos a serem considerados. Compostos muito pouco solúveis ou pouco permeáveis, geralmente relacionados à compostos de elevada massa molar e portanto, baixa biodisponibilidade, dificilmente terão melhor desempenho através de dispositivos bucais (SAKATA E ONISHI, 2012).

Se o trato gastrointestinal com algumas centenas de metros quadrados de mucosa, especialmente adaptadas para absorção não é capaz de absorver uma dose específica do fármaco, a cavidade oral com alguns centímetros quadrados de mucosa terá menor possibilidade de cumprir esta tarefa (SAKATA E ONISHI, 2012). A área de superfície da mucosa oral é de aproximadamente  $100 \text{ cm}^2$ , com uma área efetiva de 2 a  $5 \text{ cm}^2$ , dependendo da forma farmacêutica a ser utilizada. A área de superfície relativamente baixa limita as características dos fármacos que podem ser administrados por esta via. Os requisitos básicos a que os fármacos têm de atender são i) serem potencialmente ativos; ii) requererem doses baixas; iii) serem de fácil permeação (DIKICIER E SEN, 2011).

O tecido da cavidade oral tem uma permeabilidade para pequenas moléculas maior que a pele e menor que a mucosa intestinal. Entretanto, em seres humanos os tecidos bucais são surpreendentemente permeáveis para um grande número de fármacos. A impressão de baixa permeabilidade está, muitas vezes, relacionada ao modelo animal utilizado no estudo. Tecidos bucais de camundongo, ratos, hamsters e coelhos são, consideravelmente, menos permeáveis que em cães, que por sua vez são menos permeáveis que os dos seres humanos. Estas diferenças entre espécies animais podem ter de uma a duas ordens de grandeza no coeficiente de permeabilidade. A saliva contém quantidades limitadas de carbohidrase, esterase e fosfatase, além disso, poucas enzimas hidrolíticas são encontradas na superfície epitelial da boca (DE ALMEIDA PDEL *et al.*, 2008).

A influência do fluxo salivar na remoção do fármaco da cavidade oral é significativa, e experimentos com uso de partículas de carvão mostram eliminação total no prazo de 5 a 10 minutos (EDGAR, 1992). Algumas áreas da boca são menos influenciadas pelo fluxo salivar que outras. A área palatal é a menos sensível enquanto a área sublingual é a mais sensível (DE ALMEIDA PDEL *et al.*, 2008).

### 3.6 Desenvolvimento de dispositivos bucais bioadesivos

A mucosa bucal vem sendo investigada como local de interesse para sistemas de liberação e absorção de fármacos. Desde a década de 80 o interesse por esta via de administração vem aumentando de forma significativa (SHOJAEI, 1998). A análise da energia de superfície na mucoadesão foi estudada por Lehr e colaboradores e tanto o ângulo de contato como a superfície de espalhamento têm sido usados para prever o desempenho mucoadesivo dos polímeros (LEHR *et al.*, 1993).

O sucesso no desenvolvimento de dispositivos poliméricos para liberação bucal de fármacos requer a atenção de pelo menos três fatores: i) sistema bioadesivo para manter o fármaco na cavidade oral e maximizar o contato com a mucosa; ii) veículo que, sob as específicas condições da cavidade oral, libere o fármaco à uma taxa apropriada; iii) estratégias que superem a permeabilidade, relativamente baixa, da mucosa oral (DIKICIER E SEN, 2011).

#### 3.6.1 Requisitos terapêuticos e físico-químicos

Dispositivos mucoadesivos para administração na cavidade oral apresentam modelos diferentes dependendo do objetivo terapêutico e das propriedades físico-químicas e farmacocinéticas do fármaco.

Para alcançar, com sucesso, objetivos terapêuticos para ação sistêmica ou local, as vantagens sobre outras formas farmacêuticas ou outras vias de administração precisam estar claramente definidas (BRUSCHI E DE FREITAS, 2005; DANGI e ZALODIYA, 2012; DAVAA E PARK, 2012). Nos casos de dispositivos para ação local, as alternativas, mais frequentemente utilizadas, são pastilhas, géis ou líquidos orais (colutórios). Para ação sistêmica as alternativas vão desde comprimidos até formulações injetáveis para liberação controlada (GIBALDI e PERRIER, 1974).

As vantagens dos dispositivos orais para terapia local da mucosa oral são justificadas pelo maior tempo de residência comparado ao tempo das outras formas farmacêuticas na cavidade bucal. Para citar apenas uma, entre muitos exemplos, a infecção oral por *Cândida albicans* é, geralmente, tratada com pastilhas ou

enxaguatórios orais com nistatina 400.000 IU, 5 ou mais vezes por dia (HEEMSTRA *et al.*, 2010). Esta terapia com formas farmacêuticas convencionais mostra que o tecido afetado é exposto à uma fração mínima da dose terapêutica do fármaco, por um curto período de tempo. Nestas condições, o nível efetivo de fármaco não é alcançado no local de ação. Por outro lado, dispositivos bucais que são aplicados diretamente na região da mucosa afetada têm potencial para disponibilizar níveis efetivos de fármaco, no sítio de ação, por um longo período de tempo (GIBALDI e PERRIER, 1974). Esta superioridade farmacocinética sobre as formas farmacêuticas convencionais pode estar acompanhada de outras vantagens, tais como: recobrimento e proteção da mucosa afetada, reepitelização e maior adesão ao tratamento.

Dispositivos bucais para administração sistêmica de fármacos devem ser planejados com maior ênfase sobre a taxa e mecanismo de liberação do fármaco, e em alcançar níveis plasmáticos efetivos durante um período de tempo pré-estabelecido. Fármacos para ação sistêmica podem ser liberados na cavidade oral de forma unidirecional em direção à mucosa, evitando a liberação para a saliva (NAPPINNAI M. *et al.*, 2008), sendo que este tipo de dispositivo requer um tempo de adesão mais longo, para alcançar o efeito sistêmico esperado (PLISZCZAK *et al.*, 2012).

Na maioria dos casos, a função terapêutica pretendida para um produto de liberação modificada resultaria em alguns requisitos, relativos ao início da ação, e o mais importante, a duração do efeito terapêutico; ou se há uma relação direta entre níveis plasmáticos e efeito farmacológico e duração dos níveis plasmáticos sobre uma concentração mínima especificada. O tempo para o início da ação é de pouca relevância se o dispositivo usado se destina a administrações múltiplas ou tratamento crônico. Nos casos em que uma ação terapêutica particularmente longa é necessária (12 ou 24 horas), uma taxa de liberação uniforme para evitar grandes variações de níveis plasmáticos, o que pode ser especialmente importante neste caso, pode ser conseguida por diferentes métodos (AHUJA *et al.*, 1997; ANDREW L FINN *et al.*, 2011).

Nos casos em que o início da ação terapêutica deve ser rápido o modelo do dispositivo deve privilegiar um contato direto entre o reservatório do fármaco e a mucosa. Ao mesmo tempo, sem desconsiderar o conforto no uso do dispositivo a área de contato pode ser a mais extensa possível (SUDHAKAR *et al.*, 2006).

As razões farmacocinéticas são as principais motivações para início do desenvolvimento de dispositivos intrabucais, seja para ação local ou, principalmente, sistêmica. No entanto, outras razões devem ser consideradas como, por exemplo, dificuldade de deglutição ou obstrução do trato digestivo superior, eliminação pré-sistêmica, degradação do fármaco em ambiente estomacal ou intestinal e, nos casos onde a única alternativa seja a administração parenteral, ou menos frequentemente nos casos de meia vida de eliminação muito curta (SHIN *et al.*, 2000; NICOLAZZO *et al.*, 2005).

A dificuldade de deglutição de crianças e adultos para administração de formas farmacêuticas sólidas é um obstáculo á adesão ao tratamento que pode ser superado pelos dispositivos intrabucais.

Muitos compostos biologicamente ativos não têm chances de ultrapassar as células da mucosa e serem absorvidos, devido ao alto grau de degradação no estômago e no intestino. A degradação pode ser química, enzimática, ou catalisada pelo pH (NICOLAZZO *et al.*, 2005) Eliminação pré-sistêmica é a eliminação metabólica de um composto que foi absorvido em determinadas regiões do organismo. O efeito de primeira passagem se refere à moléculas que uma vez absorvida são metabolizadas durante sua passagem através da mucosa, ou mais frequentemente durante sua passagem pelo fígado. Desta forma a quantidade que aparece na circulação sistêmica é significativamente menor que a dose absorvida e muitas vezes menor que a dose administrada (GREENBLATT, 1993; SALAMAT-MILLER *et al.*, 2005). Os dispositivos bucais são uma alternativa viável, com grande potencial para contornar os efeitos de eliminação pré-sistêmica, uma vez que os vasos sanguíneos da cavidade oral não drenam o sangue para o sistema porta-hepático (GREENBLATT, 1993).

Além de uma maior biodisponibilidade geral para fármacos com metabolismo ou degradação extensa é a possibilidade real de melhor controle dos níveis plasmáticos. Nestes casos, a dose administrada pode ser menor e o custo benefício, para o usuário de medicamento, proporcionalmente, maior.

Se a duração da ação de um fármaco para uso oral com uma meia vida de eliminação é menor que a desejada, o projeto para obter um produto de melhor desempenho passa pelo desenvolvimento de um sistema de dosagem de liberação controlada. Embora a meia vida de eliminação não seja motivo suficiente para justificar o desenvolvimento de dispositivos mucoadesivos, a combinação com

outros parâmetros farmacocinéticos indesejáveis, tais como metabolismo e degradação química ou enzimática, faz dos sistemas intrabucais uma alternativa bastante desejável (CAMPISI *et al.*, 2010).

Devido à pequena área de superfície para absorção, a permeabilidade do fármaco através das mucosas da cavidade oral pode ser considerada um requisito importante para o sucesso da administração de fármacos por via da mucosa bucal. No entanto, se o fármaco é pouco permeável as dimensões dos dispositivos intraorais devem ser consideravelmente maiores. Contudo, se a taxa de fluxo é suficientemente alta, as dimensões do dispositivo oral podem ser mantidas pequenas (KANTO E KLOTZ, 1988).

Um dispositivo bucal para veicular fármaco passível de degradação no trato gastrointestinal pode também apresentar problemas de estabilidade durante o período de fabricação e/ou administração. Compostos altamente hidrolisáveis podem ser degradados ou na fabricação de filmes hidrogelatinosos ou pela ação da saliva. Portanto, no caso de fármacos passíveis de degradação química, devem ser protegidos por adjuvantes farmacotécnicos, ou incorporados na forma não dissolvida.

### 3.6.2 Modelo e geometria dos dispositivos bucais bioadesivos

Dimensões, geometria e modelo dos dispositivos bucais dependem de aspectos relacionados ao fármaco tais como dose, permeabilidade mucosal e propriedades físico-químicas. No entanto, dependem também da aceitação do produto pelo usuário do medicamento. Nos casos em que há impedimento para deglutição, ou naqueles em que a forma farmacêutica disponível é apenas injetável, o conforto do paciente deve ser sacrificado, em benefício do melhor resultado terapêutico (ALUR *et al.*, 2001).

Outras características que influenciam a adesão ao tratamento devem ser cuidadosamente consideradas durante a fase de desenvolvimento. Entre as características mais relevantes destacam-se o sabor, a irritação mucosal, a dificuldade para movimentar os lábios ou as bochechas enquanto fala, come ou bebe e a sensação desconfortável de corpo estranho na boca (GUO E COOKLOCK, 1996; ANDREWS *et al.*, 2009).

Durante o processo de desenvolvimento, o sabor dos fármacos é frequentemente subestimado, e pode ser a causa de baixa adesão ao tratamento. Entre as estratégias para mascarar o sabor está o uso de adjuvantes apropriados ou a prevenção do contato com os receptores de sabor.

Dispositivos com duas ou mais camadas tornam o produto mais confortável, que dispositivos de camada única. Se a camada basal for não adesiva, a chance de aderência aos dentes, bochechas e lábios é menor. Desta forma, a camada apical pode possuir forças mucoadesivas mais fortes (GUO e COOKLOCK, 1996).

A irritação mucosal está relacionada ao tempo de contato com a mucosa. Nos casos em que o tempo de contato é longo, a irritação da mucosa é inevitável. Nestes casos a perspectiva para aceitação do produto é relativamente baixa. Os problemas de irritação estão intrinsecamente relacionados com a formulação, sendo que no caso dos dispositivos bucais a principal causa de irritação é a presença dos facilitadores de permeação (HARRIS e ROBINSON, 1992).

A eliminação do fármaco da cavidade oral juntamente com a saliva deglutida, deve ser prevista, durante a fase de desenvolvimento. Para ação sistêmica, uma das maneiras de resolver o problema é através de dispositivos para liberação unidirecional, onde a camada basal é impermeável à saliva. A forma mais simples e, no entanto menos desejável, é através do aumento da fração do fármaco dissolvida na saliva (KANTO e KLOTZ, 1988; DE ALMEIDA PDEL *et al.*, 2008; CAMPISI *et al.*, 2010).

### **3.7 Formulação e caracterização de dispositivos mucoadesivos**

A primeira etapa na formulação dos dispositivos bucais é a seleção e caracterização do componente com propriedades mucoadesivas apropriadas, aos objetivos do produto a ser desenvolvido. Os polímeros que são comumente usados como bioadesivos são a pululana, acácia, quitosana, carboxipolimetileno, goma guar, polivinilpirrolidona, álcool polivinílico, alginato de sódio, carboximetilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose, hidroxietilcelulose, hidroxipropilcelulose e carbopol (SALAMAT-MILLER *et al.*, 2005).

O desenvolvimento de dispositivos com propriedades físicas requeridas para mucoadesão e controle da liberação tem sido investigado, e trabalhos de revisão sobre este assunto têm sido amplamente publicados (GUO, 1994; GUO e

COOKLOCK, 1996; SALAMAT-MILLER *et al.*, 2005). Nas misturas poliméricas, os efeitos das diferentes proporções de polímeros têm sido investigados sobre as propriedades de superfície, adesão, intumescimento e perfil de liberação de fármacos (SALAMAT-MILLER *et al.*, 2005; CHATURVEDI *et al.*, 2011).

A avaliação de dispositivos mucoadesivos laminados, na forma de filmes hidrogelatinosos, preparados com hidrocolóides, tem se mostrado como uma alternativa promissora para sistemas de liberação bucal. Os hidrocolóides mais utilizados são exemplificados na Tabela 3.

Na preparação dos filmes hidrogelatinosos (FH) com propriedades mucoadesivas (FHM), o teor de água é, após a seleção dos polímeros, o ponto crítico da formulação. A massa de água deve ser suficiente para dispersar o polímero, na viscosidade mais adequada, e para possibilitar a solução aquosa do fármaco.

Na preparação dos FHM o suporte onde o gel será depositado influencia o processo de reticulação do polímero durante a secagem. Da mesma forma, a taxa de eliminação da água influencia as características de superfície do filme polimérico (ALHALAWEH *et al.*, 2011).

Tabela 3 – Características de massa molecular e viscosidade específica de polímeros hidrodispersíveis.

<b>Polímeros</b>	<b>Massa molecular</b>	<b>Nome Comercial</b>	<b>Viscosidade (mPa.s<sup>-1</sup>)</b>
	23.300	Mowiol 44-88	4 (4%)
<b>Álcool polivinílico</b>	114.400	Mowiol 40-88	40 (4%)
	202.400	Mowiol 56-98	56 (4%)
	80.000	Natrosol 250L	14 (2%)
<b>Hidroxietilcelulose</b>	300.000	Natrosol 250G	300 (2%)
	650.000	Natrosol 250M	600 (2%)
	900.000	Natrosol 250H	30.000 (2%)
<b>Hidroxipropilcelulose</b>	60.000	Klucel EF	500 (10%)
	1.000.000	Klucel HF	2.000 (1%)
	9.500	Kollidon 17	2 (10%)
<b>Polivinilpirrolidona</b>	27.000	Kollidon 25	4 (10%)
	49.000	Kollidon 30	7 (10%)
	1.100.000	Kollidon 90	500 (10%)

Fonte: Elaboração própria

Estudo com Natrosol 250, Klucel EF, Kollidon 90, Mowiol 44-88 e usando placa de aço inoxidável como suporte para extensão do FHM (LU e REILAND, 1996) mostrou que o Natrosol 250 apresenta propriedades mucoadesivas superiores a dos outros polímeros, ver Tabela 4. ANDERS E MERKLE (1989) mostraram a influência do grau de viscosidade do polímero no perfil de liberação de filmes mucoadesivos. Neste estudo os autores mostraram que a taxa de liberação pode ser significativamente controlada pela escolha do polímero, seu grau de viscosidade e a massa do polímero na formulação.

Tabela 4 - Propriedades adesivas de diferentes polímeros

Polímero/nome comercial	Massa de polímero (mg/cm <sup>2</sup> )	Duração da mucoadesão		
		Média	DP	N
<b>HEC/natrosol 250</b>	2.91	32.7	5.7	3
<b>HPC/Klucel EF</b>	5.82	32.3	7.6	3
<b>PVP/Kollidon 90</b>	8.81	36.3	8.1	3
<b>PVA/Mowiol 44-88</b>	8.75	30.3	6.7	3

Fonte: Adaptado de ANDERS e MERKLE, 1989.

A medida da mucoadesão é caracterizada *in vitro* através de equipamentos próprios para este tipo de estudo. Ha vários modelos de equipamentos, sendo que o texturômetro (TAXT- Plus) apresenta melhor desempenho. Como a dissolução/erosão dos FHM ocorre naturalmente durante o tempo de contato com a mucosa, é importante estabelecer a duração e a intensidade da força adesiva. Independentemente do mecanismo de mucoadesão, o teste para medir a força utilizada para o desprendimento do filme da superfície da mucosa, é a fratura. A força necessária é expressa como uma média da resistência à fratura, sendo que as unidades empregadas nesta medida são Kg/mm (peeling strength) ou Kg (load) (HAGERSTROM *et al.*, 2000).

Testes *in vitro* mostram que a força necessária para a separação das duas superfícies aumenta com o aumento da espessura do FHM. Esta relação entre espessura e mucoadesão é limitada pela distância entre as superfícies basal e apical (HAGERSTROM *et al.*, 2000; TACHAPRUTINUN *et al.*, 2013). Isto é, a partir de uma determinada distância entre estas duas superfícies a espessura do FHM não

altera a força bioadesiva (TACHAPRUTINUN *et al.*, 2013). O fenômeno pode ser explicado por uma alteração da dissipação de energia do polímero com o aumento da espessura do FHM sob condição de deformação plástica ou viscoelástica. Entretanto, a energia de separação das duas superfícies é independente da espessura do adesivo, uma vez que o processo de dissipação não envolve toda a camada de adesivo ( $k \sim 0$ ).

Para sistemas viscosos, não reticulado, a energia de separação das superfícies pode ser expressa como (YANG E ROBINSON, 1998).

Onde na Equação 5,  $\theta$  é a energia gasta para separar as duas superfícies,  $\Phi$  é a energia de superfície,  $k$  é a energia dissipada por unidade de volume do adesivo, e  $h$  é a espessura da camada do adesivo.

$$\theta = \Phi + \frac{kh}{2} \quad (5)$$

A relação de sobreposição tempo-temperatura entre a energia e a velocidade de separação entre as superfícies do filme e da mucosa, podem ser expressas pela seguinte equação:

Na Equação 6, onde  $\theta_0$  é a energia da ligação interfacial, e  $\phi$  é a perda da função dependente sobre a velocidade  $\gamma$ , temperatura T e tensão  $\epsilon_0$ .

$$\theta = \theta_0 \phi(\gamma, T, \epsilon_0) \quad (6)$$

Entre as possíveis aplicações dos dispositivos bucais está o seu uso para tratamento local de patologias que acometem a cavidade bucal. Entre estas, a mucosite oral que pode alcançar níveis altos de morbidade, com prejuízos no estado nutricional e na qualidade de vida dos portadores desta enfermidade.

## 3.8 Mucosite

### 3.8.1 Etiologia

As terapias antineoplásicas, através de protocolos bem delineados e validados, têm aumentado a sobrevivência de pacientes com câncer. Entretanto, observa-se que a qualidade de vida, durante o período de tratamento oncológico, não aumentou na mesma proporção.

O termo “mucosite” refere-se a reações inflamatórias que acometem a mucosa da boca e das regiões parafaríngeas, esofágicas, gastrointestinais. Dependendo da mucosa atingida, a mucosite se manifesta com dor intensa, diarreia, náusea e ulcerações (ELTING *et al.*, 2008; MAURICIO, 2007).

A Mucosite Oral (MO) foi mencionada pela primeira vez em 1980 e descrita como uma complicação oral, decorrente de terapia antineoplásica, radioterapia e quimioterapia, sendo observada com maior frequência nos pacientes submetidos a altas doses de quimioterápico, especialmente, nos transplantes de medula óssea e nas radioterapias na região de cabeça e pescoço (RAMPINI *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2008). A reação inflamatória decorrente destas terapias é extremamente dolorosa e debilitante. Embora de caráter transitório, esta manifestação se distingue das demais estomatites e requer atenção especial devido às suas particularidades clínicas, severidade e forma de tratamento (GOMES *et al.*, 2009; PINHO *et al.*, 2010).

Estudos recentes relatam que a MO acomete cerca de 100% dos pacientes submetidos ao transplante de medula óssea, pois o regime mieloablativo adotado abrange a quimioterapia e pode associar a radioterapia. A MO também encontra-se presente em 80% dos pacientes portadores de doenças malignas na região de cabeça e pescoço, os quais realizaram radioterapia, onde o tratamento quimioterápico em muitos casos está associado (JUNE, *et al.*, 2007; VERA-LLONCH *et al.*, 2007; SATHEESH KUMAR *et al.*, 2009; PINHO *et al.*, 2010; CHIAPPELLI, 2005).

Os agentes quimioterápicos, visam eliminar as células neoplásicas com seus efeitos anti-tumorais, os quais destroem ou retardam a divisão celular, afetando sua proliferação. Durante este tratamento antineoplásico, as células normais do hospedeiro que possuem alto índice de atividade mitótica também são afetadas, acometendo em especial tecidos com alta taxa de renovação celular como as mucosas oral, intestinal, vaginal e as células da medula óssea (SANTOS *et al*, 2009; ANTUNES *et al*, 2004; MEDEIROS *et al.*,2002;PETERSON *et al.*,2000).

Comumente, o aparecimento da MO farmaco -induzida ocorre em torno do 5º ao 10º dia após iniciada a quimioterapia e tende a exibir um caráter autolimitante , desaparecendo dentro de duas a três semanas após concluído o tratamento (GARG e MALO, 1997). A MO se manifesta , mais frequentemente , associada a agentes farmacológicos específicos , tais como o metotrexato, 5- fluorouracilo, bleomicina, doxorubicina, cisplatina, vinblastina e vincristina (BENSANDOUN *et al.*, 2006). Estes fármacos produzem toxicidade direta ou , ainda, através de alguns de seus antimetabólitos. Agentes sintéticos tais como hidroxiuréia e hidrocloreto de procarbazina levam à degeneração glandular, alterações no colágeno e à displasia epitelial (EPSTEIN *et al.*, 2003).

Já a MO radio -induzida tende a ocorrer na 3ª semana após o início do tratamento radioterápico e este geralmente abrange sessões diárias durante 6 a 8 semanas. A severidade da MO depende de vários fatores entre eles a dose de radiação, o fracionamento desta, o volume tecidual irradiado e o tipo de radiação. No caso de sobreposição de trauma e /ou de infecção, o quadro de MO pode agravar, prejudicando o tempo de recuperação do tecido, levando algumas vezes, à suspensão do tratamento (PARULEKAR *et al.* 1998).

A radioterapia e a quimioterapia são ativadores efetivos de várias vias de destruição do endotélio, fibroblastos e epitélio. A MO induzida por radiação é iniciada por dano direto nas células epiteliais basais, assim como nas células dos tecidos adjacentes. Nestas células, a ativação dos fatores de transcrição tais como os fatores nucleares kB (NF-kB) e NRF-2 levam à regulação dos genes que modulam a resposta aos danos celulares, ou seja as reações inflamatórias (LOGAN, *et al.*, 2007).

Nesta condição, também células imunes, como macrófagos, produzem citocinas pró-inflamatórias tais como o fator alfa de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) e interleucinas-6 que provocam mais lesão tecidual (LOGAN, *et al.*, 2007).

Notoriamente, estas citocinas pró-inflamatórias são sinalizadores que retroalimentam positivamente o processo, amplificando o efeito original da radiação e da quimioterapia. A TNF- $\alpha$  ativa o fator NF-KB, assim como a atividade da esfingomielinase na mucosa, causando mais morte celular que, direta ou indiretamente, resulta em perda da capacidade de renovação celular. Conseqüentemente, o epitélio fica mais fino e os pacientes começam a pontuar os primeiros sintomas da mucosite (HUANG, *et al.*, 2002; GIBSON *et al.*, 2004).

Durante a fase inicial da radioterapia, observa-se um estado de equilíbrio entre a morte celular (apoptose) e a regeneração celular da mucosa oral, devido a uma elevação na taxa de produção de células locais oriundas das sobreviventes. Entretanto, com o decorrer do tratamento, a taxa de regeneração tecidual não consegue acompanhar a taxa de apoptose celular, resultando na desnudação total ou parcial do epitélio (SATHEESH KUMAR *et al.*, 2009). Então, a mucosite se torna mais severa, pseudomembranosa, com ulcerações, dificultando a alimentação, levando o doente a um estado de deficiência nutricional (caquexia), reduzindo ainda mais a renovação celular e conseqüentemente a regeneração da mucosa, elevando o tempo de hospitalização. Este quadro debilitante resulta na necessidade de associar uma terapia opióide, dieta líquida suplementar, nutrição parenteral, profilaxia ou controle de infecções secundárias, ampliando assim o tempo de internação. Estes fatores elevam os custos hospitalares e assistenciais (FLIGLIOLIA, 2006).

Além da MO, os pacientes em tratamento antineoplásico desenvolvem xerostomia permanente ou transitória. A hipossalivação agrava ainda mais a inflamação tecidual, aumenta o risco de inflamação local e dificulta a mastigação. Muitos pacientes também sofrem com uma secreção salivar mais espessa, decorrente da formação de pontes de dissulfeto entre as proteínas e redução do componente seroso da saliva (LALLA *et al.*, 2008). Ao manter a cavidade oral hidratada, pode-se minimizar a hipossalivação e reduzir a viscosidade da saliva.

A causa da MO está relacionada com mecanismos diretos e indiretos. A injúria direta na mucosa oral promovida pela quimioterapia e radioterapia dura em média de 5 a 14 dias, tempo no qual ocorre a renovação do epitélio "turn over". Os efeitos indiretos resultam de uma interação com mediadores do processo inflamatório, da diminuição dos constituintes salivares e de uma neutropenia induzida pela terapia, a qual contribui para o desenvolvimento da MO e favorece o aumento de bactérias,

fungos e vírus, alterando a mucosa. O surgimento da MO dificulta a continuidade do tratamento antineoplásico, afeta a nutrição e a qualidade de vida do paciente contribuindo para o aparecimento de infecções locais e sistêmicas (BERGER, KILROY, 1997; SATHEESH KUMAR *et al*, 2009).

A etiologia da MO é multifatorial . Portanto, existe uma carência de estudos que determinem a associação entre sua incidência e um fator de risco potencial (MAURÍCIO, 2007). A sua ocorrência e a gravidade podem estar diretamente associadas aos tratamentos antineoplásicos . Os medicamentos administrados, a intensidade das doses, a frequência da administração, a duração do tratamento e também fatores relacionados ao paciente como idade, gênero, leucometria, estado nutricional e higiene oral podem influenciar (OLIVEIRA; DINIZ; VIANA, 2004).

Sonis *et al.* (2004) apontaram que a condição dental , o desequilíbrio da microbiota oral causada pelo acúmulo de biofilme ou por pro blemas periodontais, o consumo de bebidas alcoólicas e o fumo são fatores que aumentam a severidade da MO.

Diante das reações adversas decorrentes do tratamento antineoplásico, a estabilização do comprometimento bucal antes do início da terapia oncológica através do uso de medicamentos adequados e acompanhamento por especialista durante o tratamento pode reduzir o risco e minimizar o grau de lesões na mucosa da cavidade oral, melhorando a qualidade de vida e afastando o agravamento das comorbidades (SILVA *et al*, 2008).

### 3.8.2 Fisiopatologia

SONIS *et al.* (2004) descreveram a mucosite como um processo biológico complexo, que pode ser dividido em cinco fases sequenciais: iniciação (Fase 1); sinalização (Fase 2); amplificação (Fase 3); ulceração (Fase 4) e cicatrização (Fase5), as quais estão descritas a seguir e ilustrada na Figura 2.

A iniciação é a fase assintomática em que ocorre lesão direta no DNA das células basais do epitélio e o aparecimento de radicais oxidativos . No tecido-alvo são observados estresses oxidativos e espécies de oxigênio reativo (ROS) que estimulam numerosos fatores de transcrição celular. Estas alterações geradas pela quimioterapia e radioterapia são um evento preliminar na maioria das vias que conduzem à mucosite, promovendo danos celulares, teciduais e vasculares. Uma

vez danificado o DNA, ocorre uma sequência de destruição da camada basal do epitélio, bem como da submucosa adjacente. Simultaneamente, os mediadores do processo inflamatório entram em atividade, iniciando uma cascata de eventos, agredindo a submucosa. Intervenções precoces e o diagnóstico correto são de fundamental importância para a reversão do quadro em estágios iniciais e a recuperação dos tecidos orais.

Na fase denominada sinalização, enzimas podem ser ativadas diretamente pela radioterapia e quimioterapia ou indiretamente pelos radicais oxidativos formados na fase anterior, induzindo apoptose.

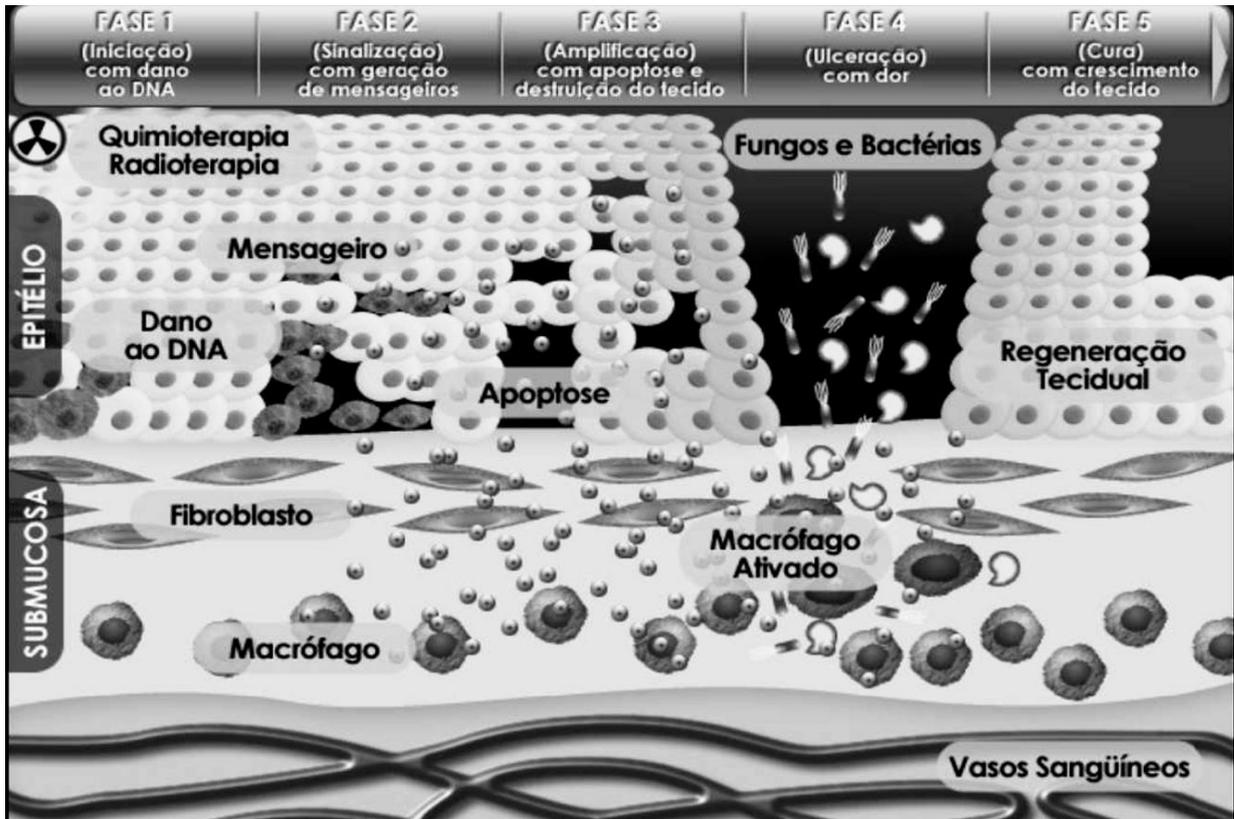
Ao evoluir para a fase de amplificação observa-se ocorrer uma série de ciclos retroalimentados, agravando ainda mais a injúria celular em virtude da produção exacerbada de citocinas inflamatórias e a destruição direta das células alvo da mucosa. Nesta fase, as citocinas pró-inflamatórias executam uma função indireta na amplificação do dano da mucosa iniciado pela radioterapia e quimioterapia. Os eventos prejudiciais permanecem focados na camada submucosa e na camada basal, por isso, a aparência clínica da superfície é normal.

A fase ulcerativa caracteriza-se pela perda da integridade da mucosa, fato que favorece a entrada de bactérias, fungos e vírus. Nesta fase a sintomatologia dolorosa se faz presente e exacerbada e pode-se evidenciar os sinais mais característicos da MO, ou seja, um denso infiltrado inflamatório e bactérias (Gram positivas, Gram negativas e organismos anaeróbios), colonizando o local e ativando macrófagos teciduais que, por sua vez, amplificam os danos teciduais, acelerando o aumento de citocinas pró-inflamatórias. A fase ulcerativa é bastante relevante, pois pacientes neutropênicos podem permanecer expostos a bacteremia e sepsis devido à invasão dos microrganismos através dos vasos da submucosa.

Na fase de cicatrização, observa-se proliferação, diferenciação e migração das células epiteliais e restauração da integridade da mucosa. É evidente a matriz extracelular promovendo a renovação do epitélio, a diferenciação e o restabelecimento da microflora local. Após esta fase a aparência da mucosa aproxima-se da normalidade.

A cicatrização espontânea ocorre em aproximadamente três semanas após o término da radioterapia e/ou da quimioterapia. No entanto, a reparação pode ser retardada se a depleção epitelial celular for intensa e profunda, se houver infiltrado inflamatório significativo ou alterações no curso da reparação (RAMPINI *et al*, 2009).

Figura 2 - Progressão da mucosite oral de acordo com os sinais e sintomas.



Fonte: (SPIELBERGER *et al.*, 2004)

### 3.8.3 Manifestações clínicas e complicações

Clinicamente, a mucosite inicia-se como uma hiperemia e a mucosa pode apresentar-se edemaciada. Em seguida, observa-se a atrofia tecidual, descamação úmida, formação de eritemas, hiperqueratinização, ulceração e até necrose da mucosa. Além disso, como as células de defesa também são atingidas pelo tratamento antineoplásico, especialmente nos pacientes que receberam transplante de medula óssea, ocorrendo formação de petéquias, bolhas ou equimoses na mucosa bucal. Na submucosa observa-se hemorragias ou perda parcial da vascularização local, o que leva à fibrose. As áreas não queratinizadas, como mucosa jugal, palato mole, superfícies ventro-lateral da língua e assoalho da boca, são as mais atingidas (RAMOS *et al.*, 2005). Estas alterações clínicas podem acometer toda a mucosa bucal, gerando dor e desconforto, prejudicando a fala, a deglutição e a alimentação.

Além de promover uma sintomatologia significativa, as ulcerações elevam o risco de infecção local e sistêmica, comprometem a função oral e interferem no tratamento antineoplásico, podendo interrompê-lo (SANTOS *et al.*, 2009).

A presença de sinais e sintomas bucais como desconforto, ardência, eritema, edema, dificuldade de fala e deglutição de alimentos sólidos e líquidos, são frequentes e evoluem para lesões ulcerativas dolorosas recobertas por exsudato fibrinoso (pseudomembrana) de coloração esbranquiçada ou opalescente. As úlceras podem ser múltiplas e extensas, levando a um estado nutricional deficiente, prejudicando a qualidade de vida dos pacientes em tratamento antineoplásico, resultando em impacto substancialmente negativo. A dor causa dificuldade na alimentação e o agravamento deste quadro algico favorece à perda de peso, anorexia, caquexia e desidratação (ALBUQUERQUE *et al.*, 2007; PINHO *et al.*, 2010.; HEYDARI *et al.*, 2012). Complicações como estas requerem hospitalização, nutrição parenteral e uso de narcóticos, o que gera um grande impacto na qualidade de vida do paciente (SONIS *et al.*, 2001).

Alguns autores admitem que a MO seja mais acentuada em pacientes que não apresentam uma boa higiene oral e relatam que a inflamação e a mielossupressão conduzem à quebra das barreiras da mucosa, facilitando a entrada de patógenos nos tecidos orais. Observam-se na cavidade oral infecções oportunistas causadas por vírus tais como herpes simples tipo HSV-1 (NICOLAUGALITIS *et al.*, 2006). Também estão presentes fungos como *Candida albicans* e bactérias, principalmente as gram-negativas (*Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Escherichia coli*) próprias da microbiota normal, que favorecem o aparecimento das infecções sistêmicas (GAMBIRAZI, 2007). É difícil a diferenciação clínica entre a mucosite intensa e processos infecciosos oportunistas como a candidose pseudomembranosa, pois apresentam sobrepostos na maioria dos casos, como ilustra Figura 3.

Figura 3 – CEC de língua, com presença de Candidose oral e MO grau 2 induzida por radioterapia.



Fonte – Obtida Conjunto Hospitalar de Sorocaba/Setor de Odontologia-Pacientes Especiais

Além das questões inerentes ao paciente podem-se elencar os problemas que a MO traz para os sistemas de saúde, em virtude do aumento de custos com as hospitalizações, decorrente do prolongamento das internações, consumo de analgésicos, antibióticos e nutrição parenteral (SCULLY, SONIS, DIZ, 2006).

A gravidade das lesões da MO interfere no tratamento sistêmico do indivíduo, uma vez que o grau de morbidade é alto e pode levar à suspensão da terapia antineoplásica. Dentro deste contexto, as classificações da mucosite, que têm por objetivo graduá-las segundo sua severidade e danos, têm importância fundamental, pois são instrumentos da avaliação do sucesso ou falha de determinada terapia Figura 4.

Vários tipos de escala têm sido utilizados para registrar a extensão e a severidade da MO, mas três são as classificações mais importantes de gravidade e intensidade da mucosite oral: o método da Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) e a classificação do Eastern Consortium for Cancer Nursing Research (EORTC) presentes no Quadro 1, e a da OMS, evidenciada no Quadro 2 (SANTOS *et al.*, 2009):

Quadro 1 - Classificação da MO segundo a Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) e a Eastern Consortium for Cancer Nursing Research( EORTC).

GRAU	0	1	2	3	4
<b>Radiation Therapy Oncology Group</b>	Não	Eritema da mucosa.	Reação desigual <1,5cm, não contíguo.	Reação confluenta >1,5cm, contíguo.	Necrose ou profunda ulceração +/- sangramento
<b>Estern Consortium for Cancer Nursing Resarch</b>	Lesões: Não Cor: Rosa Sangramento: Não	Lesões: 01/abr Cor: Vermelho suave Sangramento: N/A	Lesões: >4 Cor: Vermelho moderado Sangramento: Espontâneo.	Lesões: coalescendo Cor: Muito Vermelho Sangramento: Espontâneo.	N/A

Fonte: SANTOS *et al.*,2009.

Quadro 2 - Escala de graduação da MO, de acordo com a OMS (1979).

GRAU	0	1	2	3	4
<b>SINAIS E SINTOMAS</b>	Nenhum	Irritação, dor e eritema.	Eritema, úlceras, pode alimentar-se.	Úlceras, requer somente dieta líquida.	Impossível a alimentação.

Fonte: SANTOS *et al.*,2009.

Ressalta-se que a classificação proposta pela OMS em 1979 leva em consideração aspectos anatômicos, funcionais e sintomáticos da MO e as outras duas citadas consideram apenas as mudanças anatômicas ocorridas, como extensão da área da lesão, cor e aspecto (SANTOS *et al.*, 2009).

Figura 4 - Aspectos clínicos da MO em diferentes graus de acometimento: A e B MO grau 1; C e D MO grau 2; E e F MO grau 3; G e H MO grau 4.



Fonte: Conjunto Hospitalar de Sorocaba/Setor de Odontologia - Pacientes Especiais.

#### 3.8.4 Formas de prevenção e tratamento

Intervenções relacionadas à prevenção e ao tratamento da MO, têm sido foco de muitos estudos nos últimos anos. Estudiosos deste assunto citam que a melhor forma de prevenção da MO consiste na eliminação profilática de focos agudos ou

potenciais de infecções previamente ao tratamento antineoplásico. Também destacam a necessidade de uma boa higiene oral como fator controlador da microflora oral que favorece a redução da suscetibilidade às infecções (ALBURQUERQUE *et al.*, 2007; ROSENTHAL E TROTTI, 2009).

Uma higiene oral intensiva, consistindo de escovação após cada refeição utilizando escova de dente macia e/ou extra-macia, o uso de creme dental fluoretado, preferencialmente sem lauril sulfato de sódio, a passagem de fio dental, a realização de bochechos sem álcool como meios auxiliares, os cuidados com próteses (limpeza e ajustes necessários), assim como a remoção de toda forma de trauma mecânico e a manutenção de uma hidratação adequada, são todas ações fundamentais para prevenção da MO (INGRANCI-DE LUCIA *et al.*, 2006).

A descontaminação e a higiene oral bem feita podem alcançar resultados positivos importantes para os pacientes com MO. Contudo, mesmo com protocolos intensivos de higiene oral a porcentagem de pacientes com septicemia documentada, decorrente da MO, não tem diminuído significativamente (Mc GUIRE *et al.*, 2006). A colonização microbiana das lesões orais exacerba a severidade da mucosite oral. A descontaminação efetiva e prolongada da cavidade oral pode ajudar a reduzir a MO. Considerando o papel etiológico dos bacilos gram-negativos na MO, o conceito de descontaminação seletiva tem sido desenvolvido. A este respeito, pastilhas com polimixina E, tobramicina e anfotericina B têm sido avaliadas (MATTHEWS, 1996; STOKMAN *et al.*, 2006). Contudo, a rigidez das pastilhas provoca dores, sangramento e, conseqüentemente, baixa adesão ao tratamento.

É também de grande importância a orientação dietética que visa fornecer informações ao paciente objetivando prevenir o aparecimento de lesões na mucosa oral durante o tratamento antineoplásico. Alimentos muito quentes, condimentados, ácidos e de consistência dura devem ser evitados (XAVIER, 2006; SANTOS *et al.*, 2009; PINHO *et al.*, 2010).

O tratamento da MO até a presente data é paliativo. Baseado em ampla revisão da literatura, o grupo de estudos de MO da Multinational Association for Supportive Care in Cancer e a International Society of Oral Oncology (MASCC/ISOO) desenvolveram um guia prático para gerenciamento desta condição oral (KEEFE *et al.*, 2007; PINHO *et al.*, 2010). Neste guia, o tratamento da MO está dividido nas seguintes fases: controle da dor, suporte nutricional, descontaminação

oral, alívio do ressecamento da boca, redução do sangramento e intervenção terapêutica.

Devido à dor ser o sintoma primário da MO e afetar concomitantemente o estado nutricional, a higiene oral e a qualidade de vida, o controle da mesma torna-se um componente primário de qualquer estratégia de tratamento da mucosite. As instituições brasileiras, americanas e européias seguem as condutas recomendadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) referente aos cuidados relacionados aos quadros de MO, que abrange desde o uso de bochechos, crioterapia, laser de baixa intensidade, de analgésicos tópicos, até a associação de opióides, de acordo com o nível de dor e gravidade (SANTOS *et al.*, 2009).

Apesar de agentes tópicos, empregados na MO, promoverem apenas um alívio passageiro na sua sintomatologia, é rotineira a indicação de enxaguatórios bucais salinos com ou sem anestésicos, gelo e produtos capazes de formarem uma película aderente sobre as lesões presentes. Mas, nos casos de mucosite severa, torna-se necessário o tratamento sistêmico com analgésicos opióides (DODD *et al.*, 2003; BARCLAY, 2002).

A aplicação de anestésicos tópicos como a lidocaína e a benzocaína pode aliviar o desconforto do paciente temporariamente, em casos de MO de pouca gravidade abrangendo os graus 1 e 2; trata-se de uma conduta óbvia voltada para os cuidados paliativos da dor e tem mínimas consequências sistêmicas. Também analgésicos sistêmicos são frequentemente empregados. Em relação aos opióides, a sua indicação dependerá da escala da dor na qual o paciente se encontra. Por exemplo, o cloridrato de tramadol, do grupo dos opiáceos, inibe a recaptção da serotonina e da dopamina, e tem sido utilizado para casos de dor importante em MO graus 3 e 4 (BARASCH *et al.*, 2006).

Alguns protocolos preconizam bochechos com bicarbonato de sódio, ou seja, água bicarbonatada, uma solução salina alcalina diluída em água, visando o alívio da sintomatologia da MO, devido ao fato desta solução criar um ambiente alcalino, interferindo na multiplicação bacteriana bucal e na candidíase oral. Mas, pesquisas apontam para o impacto negativo desta água bicarbonatada no paladar e a sensação desagradável com seu uso (ALBUQUERQUE E CAMARGO, 2006).

Tem sido indicada durante o tratamento antineoplásico, a camomila na forma líquida para bochechos ou em cubos de gelo, produzindo efeito antiinflamatório e promovendo granulação e epitelização. O bochecho com a solução de camomila

profilaticamente retarda e reduz a severidade da MO induzida por radioterapia e também por quimioterapia (CARDOSO *et al.*, 2005; MENDONÇA *et al.*, 2005; CHICARELLI DA SILVA *et al.*, 2008).

Quando empregada a crioterapia durante a administração do quimioterápico, onde pequenos cubos de gelo são introduzidos na cavidade oral, ocorre uma redução local da liberação do agente quimioterápico devido a vasoconstrição local, diminuição do fluxo sanguíneo, da permeabilidade vascular, e conseqüentemente o extravasamento de mediadores químicos. A utilização deste mecanismo é simples e insento de efeitos adversos, apresentando bons resultados para a prevenção ou redução da MO em pacientes utilizando 5- fluorouracilo, metrotexate e altas doses de Melfalan, contudo não é prático (MENDONÇA *et al.*, 2005).

A solução de gluconato de clorexidina é amplamente estudada no âmbito odontológico. Trata-se de uma molécula catiônica simétrica que consiste em dois anéis de 4-clorofenol e dois grupos biguanide unidos por uma cadeia central de hexametileno. A propriedade catiônica proporciona uma série de atividades contra bactérias gram-positivas, gram-negativas, e leveduras. Alguns autores têm indicado bochechos de gluconato de clorexidina a 0,12%, em solução aquosa, devido à evidência de que isso propiciaria a recuperação da mucosa, redução da ulceração e diminuição da infecção secundária (LABBATE, LEHN, DENARDIN, 2003). Porém, outras correntes apontam que o gluconato de clorexidina apresentou pouco efeito naqueles pacientes que receberam radiação em altas doses (FOOTE *et al.*, 1994). O consenso da International Society of Oral Oncology (ISOO) posiciona-se contra a utilização deste produto na prevenção e no tratamento da MO (NEVILLE *et al.*, 2004).

Pinho *et al.* (2010), após uma revisão sistemática da literatura, consideraram os estudos sobre o uso do gluconato de clorexidina inconsistentes e afirmaram que embora o fármaco seja um antimicrobiano potente, os resultados na redução da MO são insipientes.

Sangramentos podem ocorrer durante o tratamento antineoplásico. Os pacientes trombocitopênicos, em terapia com altas doses de quimioterápicos podem sofrer com o sangramento das ulcerações devido a MO. O sangramento oral pode ser controlado com o uso de agentes hemostáticos tais como goma de fibrina e esponja de gelatina (AFRAMIAN *et al.*, 2007).

Outra terapia empregada para prevenção de MO é a administração do "granulocyte-macrophage colony-stimulating factor" (GM-CSF), que é uma citocina que promove a proteção da mucosa durante a realização do tratamento antineoplásico. A ação desse medicamento visa à recuperação da medula óssea do paciente, com posterior produção de seus elementos e, dessa forma, atua apenas indiretamente no tratamento. Apesar do GM-CSF ser utilizado em alguns centros de tratamentos antineoplásicos, os resultados apresentados são parcialmente satisfatórios na prevenção e tratamento da MO (KOSTLER *et al.*, 2001).

A literatura tem reportado o uso do fator de crescimento de queratinócitos, o Palifermin, para controle da MO. O mecanismo de ação desta droga inclui a indução de proliferação celular, aumentando a espessura do epitélio, reduzindo o dano no DNA causado pelas terapias antineoplásicas, especialmente a quimioterapia. Também promove a elevação das enzimas desintoxicantes que protegem o tecido da ação dos compostos oxidantes, diminuindo os níveis de citocinas inflamatórias e a apoptose. Este medicamento tem demonstrado bons resultados clínicos (SPIELBERGER *et al.*, 2004). Algumas evidências mostram que o Palifermin reduz a incidência de MO dos graus 3 e 4 em pacientes com neoplasias hematológicas recebendo altas doses de quimioterápicos. Para esta população específica, a Multinational Association for Supportive Care in Cancer (MASCC) recomenda o uso de fatores de crescimento (von BÜLTZINGSLÖWEN *et al.*, 2006).

Outra medicação empregada no tratamento da MO e que se apresenta na forma de enxaguatório bucal é o cloridrato de benzydamina, um antiinflamatório não estereoidal que inibe as citocinas pró-inflamatórias, incluindo TNF- $\alpha$ . Os resultados ainda não são conclusivos e por tal motivo o Food and Drug administration (FDA) não a aprovou para estudos nos Estados Unidos da América.

A prevenção e o tratamento nutricional da MO ainda não estão totalmente estabelecidos. Algumas diretrizes incluem alguns nutrientes importantes que podem contribuir para a prevenção e tratamento, como os suplementos vitamínicos (vitaminas C, B, E e beta-caroteno) e a glutamina. A glutamina oral demonstra ser uma opção eficaz para o tratamento profilático da MO. Alguns estudos demonstraram efeitos benéficos do uso de probióticos, pois contribuem para a modulação da microbiota oral e inibição de citocinas pró-inflamatórias, conseqüentemente reduzindo a apoptose celular e promovendo a cicatrização pelo aumento da síntese de colágeno e fibroblastos (PETERSON *et al.*, 2007).

A Amifostina ou WR-2721, é outro fármaco utilizado na prevenção de MO, tem características citoprotetoras e age eliminando espécies reativas de oxigênio, conhecidas por potencializar a MO.

É evidente que a MO em pacientes submetidos a tratamento quimioterápico e radioterápico é um problema debilitante e grave, não apenas do ponto de vista da recuperação da neoplasia, mas também da saúde e da qualidade de vida dos pacientes. Apesar da severidade desta enfermidade, não é possível encontrar estudos publicados mencionando inovações terapêuticas para reduzir a morbidade e a comorbidade causadas pela MO.

No Brasil não existem dados suficientes para estimar o custo do tratamento da MO. Nos Estados Unidos o custo estimado para hospitalização de pacientes em tratamento quimioterápico com MO, clinicamente significativa, varia de USD 1.700,00 a USD 9.132,00 por ciclo, incluindo suporte nutricional por via parenteral, reposição de fluídos e profilaxia contra infecções (ELTING *et al.*, 2003; ELTING *et al.*, 2007).

Portanto, o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos promissores, não necessariamente novos fármacos, deve ser apoiado e avaliado clinicamente para, posteriormente, serem aprovados para gerenciamento desta condição debilitante e multicausal.

Não foram encontrados estudos avaliando se agentes que atuam por diferentes mecanismos podem ser utilizados em combinação para aumentar a eficácia clínica do tratamento. Portanto, a investigação mais promissora, seja pelo conhecimento acumulado ou pela possibilidade de resultados a curto prazo deve ser centrada no uso de novas tecnologias de veiculação e liberação de fármacos que aumentem a eficácia dos fármacos já conhecidos e favoreçam a adesão à continuidade do tratamento antineoplásico.

A redução nos níveis de morbidade associados a mucosite ajudaria a evitar a indesejada redução da dose ou a não programada interrupção na terapia do câncer, melhorando assim os resultados dos tratamentos antineoplásicos.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Material

Polímeros: Carboximetilcelulose ultrapurificada (Cekol<sup>R</sup>), CP-Kelco – Finlândia; Hidropropilmetilcelulose K4M (Methocel<sup>R</sup> K4M), Colorcon do Brasil; Quitosana (39 cPs), Sigma Aldrich; Etilcelulose (Ethocel<sup>R</sup>), Colorcon do Brasil; Hidropropilmetilcelulose (Methocel<sup>R</sup> 100); Polivinilpirrolidona K30 (PVP), Sigma Aldrich.

Edulcorantes: Sorbitol, Ácido cítrico, Cloreto de sódio, Óleo de castor hidrogenado, Corante verde E141.

Principais Equipamentos: TA.XT plus - Texture Analyser Stable Micro Systems (UK); Viscosímetro Digital RV-DV-I Primer Brookfield Engineering Laboratories, USA, com adaptador para pequenas amostras. Banho para controle de temperaturas TC550 Brookfield Engineering Laboratories, USA. Microscópio Eletrônico de Varredura - Jeol Mod 5200, USA.

### 4.2 Métodos:

#### 4.2.1 Preparação dos hidrogéis

Os hidrogéis foram preparados com carboximetilcelulose ultrapurificada (CMC), polivinilpirrolidona K30 (PVP), hidroxipropilmetilcelulose K4M (HPMC K4M), hidroxipropilmetilcelulose 100 (HPMC 100), hidroxietilcelulose (HEC), quitosana de baixa massa molar (QT). As formulações dos hidrogéis estão descritas na Tabela 5.

Os polímeros PVP K30, CMC, HPMC 100 e HPMC K4M foram dispersos em parte da água (60%) e agitados manualmente até completa homogeneização. O restante da água (40%) foi aquecido e adicionado à dispersão polimérica. As dispersões foram mantidas em repouso até a completa hidratação dos polímeros.

A HEC foi dispersa em solução hidroetanólica a 50% e agitada até completa dispersão do polímero. A QT foi dispersa em ácido acético 0,1M e mantida em agitação orbital durante 24h a 37°C na incubadora refrigerada da American Lab (modelo AL 140). Após completa dissolução o pH do meio foi corrigido para 6,8 com NaOH 0,1 M.

Os edulcorantes (cloreto de sódio, ácido cítrico e óleo de castor hidrogenado) e o corante (E141) foram solubilizados em parte da água utilizada para a preparação dos hidrogéis.

Tabela 5 - Formulações dos hidrogéis

Matéria prima	Concentração (%)					
	F1	F2	F3	F4	F5	F6
<b>PVP K30</b>	3,0	-	-	-	-	-
<b>CMC</b>	-	2,0	-	-	-	-
<b>HPMC 100</b>	-	-	3,0	-	-	-
<b>HPMC K4M</b>	-	-	-	3,0	-	-
<b>HEC</b>	-	-	-	-	1,5	-
<b>QT</b>	-	-	-	-	-	2,0
<b>Cloreto de sódio</b>	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	-
<b>Ácido Cítrico</b>	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	-
<b>Óleo de castor hidrogenado</b>	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	-
<b>Corante E141 1% (gotas)</b>	V	V	V	V	V	-
<b>Água purificada (mL) qsp</b>	100	100	100	100	100	-
<b>Ácido acético glacial 0,1M(mL) qsp</b>	-	-	-	-	-	100

Fonte: Elaboração própria

Nota: V = 5 gotas;

qsp = quantidade suficiente para

Com base nos resultados das formulações F1-F6 uma nova formulação (F7) foi preparada, contendo uma mistura de polímeros composta de CMC, HPMC K4M e QT, ver Tabela 6. O hidrogel resultante da mistura de polímeros foi analisada quanto ao comportamento de fluxo e propriedades tixotrópica ou reopética.

Tabela 6 - Formulação (F7) á base da mistura dos hidrogéis de CMC, HPMC K4M e QT.

Hidrogel	Massa (g)	Massa polímero (g)	Relação percentual (%)
<b>CMC</b>	1,5	0,03	5,26
<b>HPMC K4M</b>	15,0	0,45	78,96
<b>QT</b>	4,5	0,09	15,78

Fonte: Elaboração própria

#### 4.2.2 Avaliação físico-química dos hidrogéis

Os hidrogéis foram avaliados quanto à viscosidade e comportamento de fluxo. Para a determinação da viscosidade foi utilizado um viscosímetro digital da Brookfield (modelo RVDV-I Prime) com adaptador para pequenas amostras. O “spindle” utilizado nas análises de viscosidade tinha formato coaxial modelo SC4-28. Durante a medida da viscosidade a temperatura foi mantida constante através de um sistema de circulação de água aquecida a 25°C (Banho termostaticado da Brookfield (modelo TC550)).

A tensão de cisalhamento ( $\tau$ ) foi determinada matematicamente através da equação 7:

$$\tau = \gamma \times \eta \quad (7)$$

Onde  $\tau$  é a tensão de cisalhamento,  $\gamma$  é a taxa de cisalhamento e  $\eta$  a viscosidade do fluido. A tensão e a taxa de cisalhamento foram utilizadas para analisar o comportamento de fluxo dos hidrogéis. O comportamento tixotrópico ou reopético dos fluídos foi avaliado a partir da medida da viscosidade ( $\eta$ ) em função do tempo ( $t$ ).

#### 4.2.3 Preparação dos dispositivos orais

Os dispositivos orais para liberação bucal de fármacos foram preparados na forma de filme hidrogelatinoso. Os filmes foram preparados a partir dos hidrogéis (F1-F7) descritos nas Tabelas 5 e 6 .

Para obtenção dos filmes foram adotadas 2 técnicas, sendo uma delas por moldagem em placas de Petri de vidro ou de polipropileno, e a outra executada por extensão do hidrogel sobre uma placa de vidro limpa e desengordurada.

No processo de moldagem uma massa de 15 g de hidrogel foi transferida para as placas de Petri. Para evitar a formação de bolhas de ar, as placas foram previamente aquecidas ( $\pm 35 - 40$  °C). A massa de 15 g de hidrogel de cada um dos

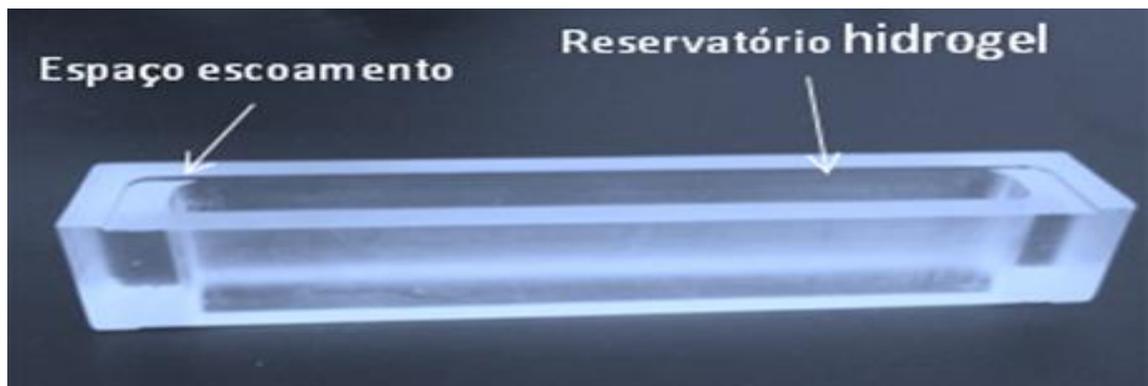
polímeros corresponde a 0,45; 0,3; 0,45; 0,45; 0,225 e 0,3 g, respectivamente, de PVP, CMC, HPMC 100, HPMC K4M, HEC e QT.

No processo de preparação por extensão, um dispositivo de acrílico, ver Figura 5, com capacidade para 20 g foi preenchido com 15 g de hidrogel e deslizado, manualmente, sobre a placa de vidro. Uma abertura na parte posterior do dispositivo de acrílico permitia uma vazão constante do hidrogel.

Os hidrogéis depositados sobre as placas de Petri (vidro ou acrílico) ou sobre as placas de vidro foram mantidos em repouso na temperatura ambiente ou em estufa 40 °C, até peso constante.

O extensor de hidrogel para preparação de filmes hidrogelatinosos sobre placas de vidro, está ilustrado na Figura 5.

Figura 5 - Extensor de hidrogel para preparação de filmes hidrogelatinosos sobre placas de vidro.



Fonte: Elaboração própria

#### 4.2.4 Caracterização dos dispositivos orais

Os filmes foram previamente selecionados quanto ao seu aspecto macroscópico, especialmente pela formação de uma película contínua e resistente á manipulação manual. Os filmes foram cuidadosamente removidos das placas de Petri ou da placa de vidro, tendo sido cortados nas dimensões exigidas para os testes e estocados em embalagens impermeáveis (Biofill Rexam-Itap). As embalagens foram mantidas à temperatura de  $24 \pm 1$  °C até o momento da análise. Amostras com bolha de ar, incisões ou variações de espessura maior que 5% foram excluídas dos demais testes de caracterização e avaliação.

#### 4.2.4.1 Caracterização morfológica dos filmes hidrogelatinosos

A avaliação morfológica dos filmes foi realizada pela observação macroscópica e por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Por análise macroscópica foram avaliados os seguintes parâmetros: textura, facilidade e adequação para manipulação manual, uniformidade de coloração e aspectos gerais dos filmes. Os resultados foram registrados por sinais gráficos usando os símbolos (+) para positivo e (-) para negativo.

A MEV foi realizada para observação das superfícies superior, inferior e lateral dos filmes. A superfície lateral foi visualizada após corte transversal do filme. As imagens foram capturadas em MEV da Jeol (modelo 5500). As amostras do filme foram fixadas sobre uma das faces de uma fita adesiva do tipo dupla face, a qual foi fixada pela face oposta a um suporte de alumínio. O suporte, contendo o filme, foi recoberto com íons de ouro. A fixação da cobertura de íons de ouro foi realizada no vácuo, por condutividade elétrica (3 mA) durante 3 min. O recobrimento do filme ficou com uma espessura final de ~150 Angstrom de ouro.

#### 4.2.4.2 Avaliação da espessura e determinação da massa dos filmes após secagem.

A espessura dos filmes foi medida usando um micrômetro (Micrômetro Externo Digital 25-50 mm (0,001mm) da Mitutoyo. As medidas foram realizadas em seis amostras sendo uma em cada canto e outra no centro do filme (20x20mm). A massa do filme (20x20mm) foi determinada usando balança analítica da Ohaus Explorer (modelo EO2140).

Os filmes com área de 20 mm<sup>2</sup> apresentaram uma espessura média de 0,0625 ± 0,0029 mm e massa de 15,3 ± 0,42 mg. Ambas as medidas foram realizadas em sextuplicata.

#### 4.2.4.3 Caracterização das propriedades mecânicas de resistência à perfuração e tração.

As propriedades mecânicas dos filmes foram avaliadas usando TA.XT2 – Texture Analyzer Equipment, equipado com célula de carga de 5 Kg da Stable Micro

System. O filme livre de bolhas de ar ou imperfeições físicas foi recortado com área de 8 cm<sup>2</sup> (2x4 cm).

Para avaliar a resistência à tração, as extremidades foram fixadas por presilhas, cujas braçadeiras foram posicionadas a uma distância de 3 cm uma da outra. As presilhas foram recobertas com fita de papel para evitar que o filme fosse cortado pelos sulcos das presilhas. Durante as medidas as amostras foram tensionados a uma taxa de 2 mm/s para uma distância de 10 cm, antes de retornar ao ponto de partida. A força de alongação foi medida quando o filme quebrou. As medidas foram feitas em triplicata.

Para avaliar a força necessária para a ruptura do filme foi utilizado um dispositivo composto de um corpo de prova esférico com 0,25 mm de diâmetro. O filme foi colocado entre duas placas perfuradas, as quais foram firmemente fixadas à plataforma do equipamento. Durante a medida, a amostra foi tensionada á uma taxa de 2 mm/s para uma distância de 5 cm, antes de retornar ao ponto de partida.

#### 4.2.4.4 Avaliação da citotoxicidade

As células MCF-7 foram cedidas pelo Laboratório de Oncologia Molecular da UNICAMP tendo como responsável o professor José Barreto Campello Carvalheira. As células foram mantidas em estufa a 37 °C em atmosfera contendo 5% de CO<sub>2</sub>, em garrafas com superfície de 75 cm<sup>2</sup>, com pescoço inclinado e tampa com filtro (TPP™, EUA), contendo 20 mL de meio DMEM com vermelho de fenol, sendo acrescentados 2,5 g/mL de glicose (Cultilab®, Brasil), 10% de soro fetal bovino inativado (Nutricell®, Brasil), penicilina (10.000 UI/mL) e estreptomicina (10 mg/mL) (Nutricell®, Brasil). Para os repiques periódicos, a cada 72 horas aproximadamente, aspirou-se todo o meio da garrafa e adicionou-se 10 mL de novo meio suplementado. Com o auxílio de tripsina as células foram destacadas e transferidas para novas garrafas contendo meio DMEM suplementado como descrito acima. Para manutenção da linhagem celular, 7x10<sup>5</sup> células/mL foram semeadas por repique/garrafa.

Todos os procedimentos foram realizados em câmara de fluxo laminar com desinfecção prévia dos materiais e bancada de trabalho por luz ultra-violeta (UV) durante 15 minutos e álcool a 70%.

Procedimentos nas culturas isoladas: para os experimentos, as células MCF-7 passaram por tripsinização, onde as células foram destacadas e centrifugadas para realização da técnica de contagem em câmara de Neubauer. As células foram lançadas em placas de 6 poços, na quantidade de  $3 \times 10^4$  células. Foram mantidas durante 24 horas e passaram para a fase de sobrevivência em contato com a membrana.

Os dispositivos orais na forma de filme hidrogelatoso mucoadesivo foram colocados em duplicata e foi acrescentado 4,5 ml de meio de cultura. O contato foi mantido durante 72 horas e os níveis de citotoxicidade avaliados.

Avaliação da influência da membrana mucoadesiva sobre as células MCF-7: o meio de cultura que estava em contato com as células foi retirado após 72 horas e feito DAPI (4',6-di-diamidino-2-fenilindol), que tem como característica a coloração em azul do núcleo, sendo observado através do microscópio de fluorescência TS-100 da Nikon com a câmera digital DXM1200F acoplada.

As mostras utilizadas neste estudo foram as formulações F2 (amostra A), F7 (amostra B) e F7 adicionada de lidocaína, benzidamina e N-acetilcisteína (Amostra C). Os resultados da viabilidade celular foram registrados por imagens fotográficas.

#### 4.2.4.5 Avaliação da mucoadesão

A propriedade mucoadesiva foi avaliada usando o equipamento TAXT-plus como descrito por Fransén et al., (2008) sendo a técnica realizada por compressão com velocidade de  $0,5 \text{ mm.s}^{-1}$  (FRANZÉN, BJÖRK *et al.*, 2008). Para análise das amostras, discos de mucina compactados em prensa hidráulica foram fixados usando fita coesiva de dupla face sobre a plataforma de metal. As amostras foram fixadas no corpo de prova A/MUC. Os discos de mucina foram previamente hidratados com tampão fosfato (pH 7,4) por 30 minutos. A metodologia aplicada foi realizada em modo de compressão na velocidade de  $0,5 \text{ mm.s}^{-1}$ , sob força de 2 mN. Após 3, 5 e 15 minutos de contato, o corpo de prova foi movido na direção oposta ( $2,0 \text{ mm.s}^{-1}$ ). A força máxima requerida para separar o disco de mucina da superfície do filme foi detectada e analisada pelo software Texture Expoente lite. A força requerida foi calculada da área do gráfico que relaciona força x distância. A análise foi feita em sextuplicata.

#### 4.2.4.6 Avaliação piloto “*in vivo*” da manipulação e aplicação dos filmes hidrogelatinosos sem fármaco.

A avaliação piloto foi realizada “*in vivo*” em um grupo composto por 18 pacientes, homens e mulheres na idade adulta, portadores de neoplasias de cabeça e pescoço assistidos no Setor de Odontologia do Conjunto Hospitalar de Sorocaba com protocolos quimioterápicos, radioterápicos ou combinação de ambos, os quais foram abordados aleatoriamente, concordaram livremente em fazer parte do experimento. O protocolo de estudo obedeceu à conduta aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde – Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, em Anexo 1.

O FHM sem fármacos foi colocado na cavidade oral, sob o palato, pelo próprio indivíduo experimentador. Para o estudo os pacientes receberam os filmes em embalagem plastificada. Cada paciente abriu a sua própria embalagem, retirou o filme e com as mãos previamente higienizadas colocou o filme na cavidade oral, aderindo-o a superfície do palato. O procedimento foi acompanhado pela pesquisadora responsável junto ao comitê de ética e por profissionais dentistas do setor de oncologia do Conjunto Hospitalar de Sorocaba (CHS). O resultado do estudo foi registrado por imagens fotográficas com intervalo de 30 minutos uma da outra.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

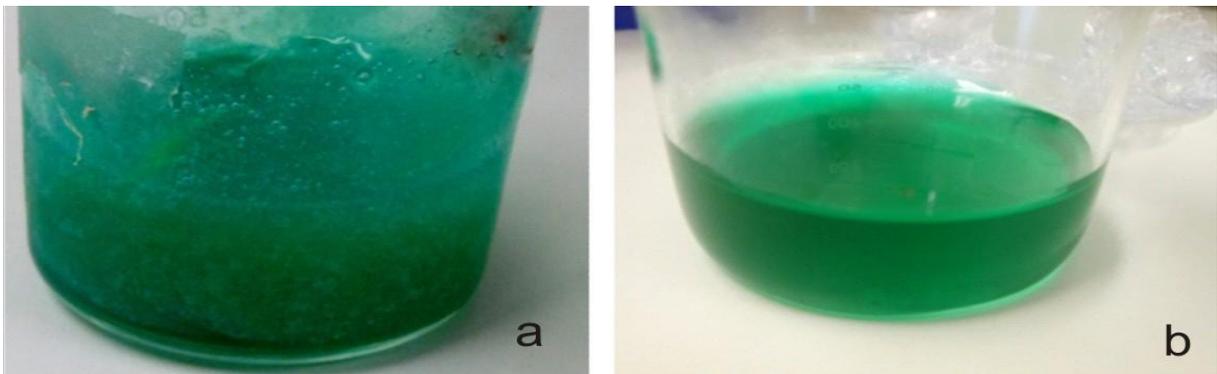
### 5.1 Preparação e Avaliação dos Hidrogéis

Durante o processo de hidratação dos polímeros, bolhas de ar incorporam-se ao hidrogel. A presença de bolhas tem reflexos negativos na aparência e na resistência mecânica do filme. Este aspecto é um dos pontos críticos do processo de obtenção dos hidrogéis e foi cuidadosamente observado durante a preparação dos hidrogéis de CMC, PVP, HPMC 100, HPMC K4M e na dissolução da HEC ou QT.

A presença de bolhas de ar ocorreu de forma mais significativa nas dispersões simples dos derivados de celulose bem como na mistura das dispersões poliméricas de CMC : HPMC K4M : QT. Nestes casos, um resultado satisfatório era alcançado após longo tempo de repouso (~ 50 horas). Para reduzir o tempo de preparação e eliminar as bolhas de ar, foram tentados diferentes procedimentos, sendo que a melhor técnica consistiu em associar o banho de ultrassom com adição de água (40%) previamente aquecida a 60 °C. A Figura 6(a) mostra o hidrogel com bolhas de ar e a Figura 6(b) mostra o hidrogel sem bolhas de ar, resultado da técnica de preparação.

Os polímeros foram escolhidos a partir de estudos de pré-formulação considerando as propriedades físico-químicas e o comportamento biofarmacotécnico dos mesmos. As características que justificaram a escolha dos polímeros CMC ultra purificada, HPMC 100 e K4M, PVP, HEC e QT, são descritas a seguir.

Figura 6 (a) Aspecto físico da preparação do hidrogel antes da extensão com bolhas de ar, (b) sem bolhas de ar.



Fonte: Elaboração própria

A CMC (F2) é um polímero aniônico, com boas propriedades bioadesivas, comportamento pseudoplástico, sinergismo com HPMC e capaz de formar complexo polieletrólítico com QT. As propriedades de reticulação aumentam na presença de sais o que favorece a manutenção das características físicas dos filmes após a adição de fármacos na forma de sais. A partir do mesmo princípio, a presença de íons monovalentes e bivalentes na saliva ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^+$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HPO}_4^-$ ,  $\text{SO}_4$ ,  $\text{F}^-$ , entre outros) favorece a prolongação do tempo de gelação do polímero.

A HPMC 100 (F3) difere da HPMC K4M (F4) devido ao grau de viscosidade da dispersão a 2% (m/m), a qual é, respectivamente, 100 cPs e 4000 cPs. Ambas são estáveis na faixa de pH entre 3,0 e 11,0 e apresentam sinergismo com CMC. A propriedade bioadesiva é maior na HPMC K4M do que na HPMC 100. Assim como a CMC, ambas as HPMC são estáveis na presença de sais. No entanto, a estabilidade destes polímeros é maior na presença de compostos polivalentes.

A HEC (F5) é estável em uma faixa de pH (6,0 – 8,5) menor que a CMC ou as HPMC. Embora a viscosidade se mantenha estável em valores de pH entre 2,0 e 12,0, ela é reduzida com o aumento da temperatura.

Como o pH da saliva é 6,9, outro aspecto biofarmacotécnico favorável é a estabilidade da viscosidade da CMC (1200 cPs a 1% m/m) na faixa de pH entre 4,0 e 10,0 e das HPMC e HEC na faixa de pH entre 2 e 12.

A QT (F6) é um polissacarídeo linear aleatoriamente distribuído entre  $\beta$ -(1-4) D-glucosamina e N-acetil-D-glucosamina. Em soluções ácidas diluídas a QT produz um polieletrólito linear com densidade de carga elétrica positiva, formando sais com ácido acético, ácido clorídrico e ácido glutâmico. O grupo amino tem valor de pKa ~ 6,5. Portanto a elevada densidade de cargas elétricas positivas aumenta em pH neutro ou levemente ácido. A QT é um agente mucoadesivo devido à propriedade de formar ligações de hidrogênio e/ou interações iônicas entre o grupo amina da QT, carregado positivamente, com a mucina ou resíduos do ácido siálico da glicoproteína carregada negativamente.

A PVP K30 (F1) tem massa molar de aproximadamente 40.000 g/mol. A viscosidade da solução até 10% (m/m) é a mesma da água. Acima de 10% (m/m) a viscosidade aumenta com a concentração, mas é negativamente influenciada pelo pH. No entanto, é estável na presença de sais inorgânicos.

O hidrogel da mistura de CMC: HPMC: QT (F7) foi preparado para reunir as melhores propriedades de cada um dos polímeros, bem como propiciar ações

sinérgicas entre os mesmos. A decisão de trabalhar com a mistura polimérica foi tomada após resultados insatisfatórios obtidos com os filmes de cada um dos polímeros isolados. A proporção dos polímeros na formulação F7 foi estabelecida destacando as propriedades biofarmacotécnicas de cada polímero e garantindo um comportamento de fluxo adequado para a formação do filme.

Os edulcorantes foram escolhidos com base no sabor amargo dos fármacos que se pretende incorporar nestas formulações, especialmente cloridrato de benzidamina e cloridrato de lidocaína, e o odor da N-acetilcisteína. O sabor salgado e ácido conferidos, respectivamente, pelo NaCl e pelo ácido cítrico são indicados para mascarar o sabor amargo. O óleo de castor hidrogenado foi adicionado para minimizar o sabor residual dos fármacos. O corante na cor verde (E141) harmoniza com o sabor cítrico e levemente salgado dos edulcorantes. Essência mentolada ou limão será acrescentada, se necessário, para mascarar o leve odor da N-acetilcisteína.

Os resultados da viscosidade e das propriedades de fluxo dos hidrogéis são apresentados respectivamente, na Tabela 7 e nas Figuras 7 e 8. Este estudo foi realizado para os hidrogéis F2, F4 e F6 que compuseram a mistura de polímeros F7.

Os hidrogéis das formulações F1, F3 e F5, respectivamente PVP, HPMC 100 e HEC foram excluídos dos estudos subseqüentes porque, quando comparados com os demais, estes filmes apresentaram características menos favoráveis á formação de dispositivos intraorais na forma de filme hidrogelatinoso.

Tabela 7 - Resultados da viscosidade dos hidrogéis de CMC (F2), HPMC K4M (F4), QT (F6) e da mistura (F7)

Formulação	$\gamma$ (rpm)	S (Nº spindle)	$\eta \pm DP$ (dina cm <sup>2</sup> )
<b>F2</b>	60	28	6812,33 $\pm$ 111,58
<b>F4</b>	60	28	7329,3 $\pm$ 132,83
<b>F6</b>	100	28	40,0 $\pm$ 3,91
<b>F7</b>	100	28	2965,0 $\pm$ 108,12

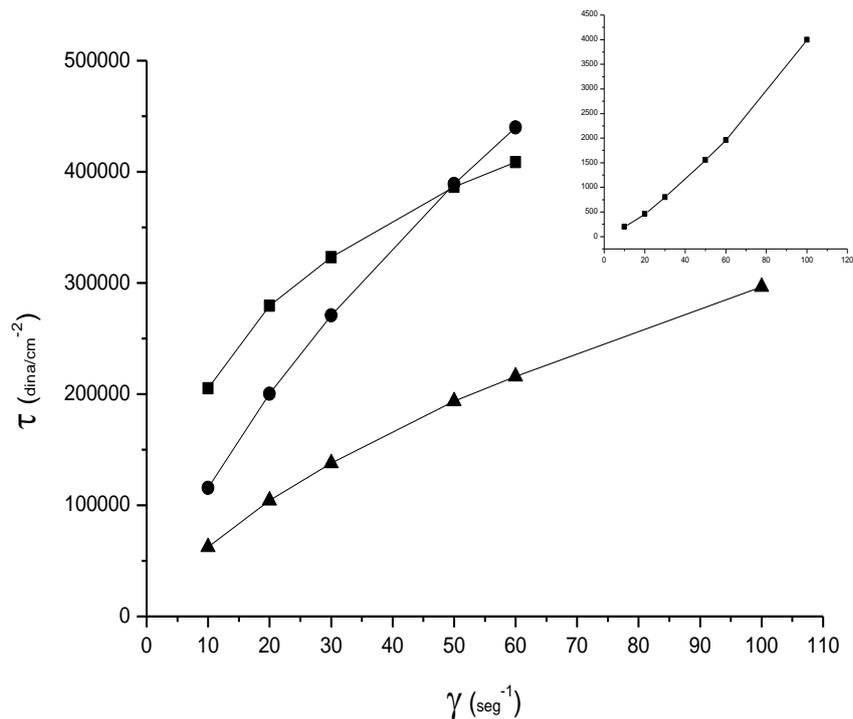
Fonte: Elaboração própria

$\gamma$  é a taxa de cisalhamento (rpm), **S** é a numeração do spindle e  $\eta \pm DP$  é a viscosidade e o desvio padrão da média n=3.

A taxa de cisalhamento foi selecionada com base na menor margem de erro no momento da leitura, tendo como margem aceitável valores inferiores a 10% da viscosidade. A baixa viscosidade (40 cPs) da formulação F6 é devido à adição da solução de NaOH 0,1M utilizado para elevar o pH da solução de QT (6,8) para valores acima do pKa (~6,5). Este cuidado foi tomado para aumentar a densidade das cargas elétricas positivas na dispersão da quitosana.

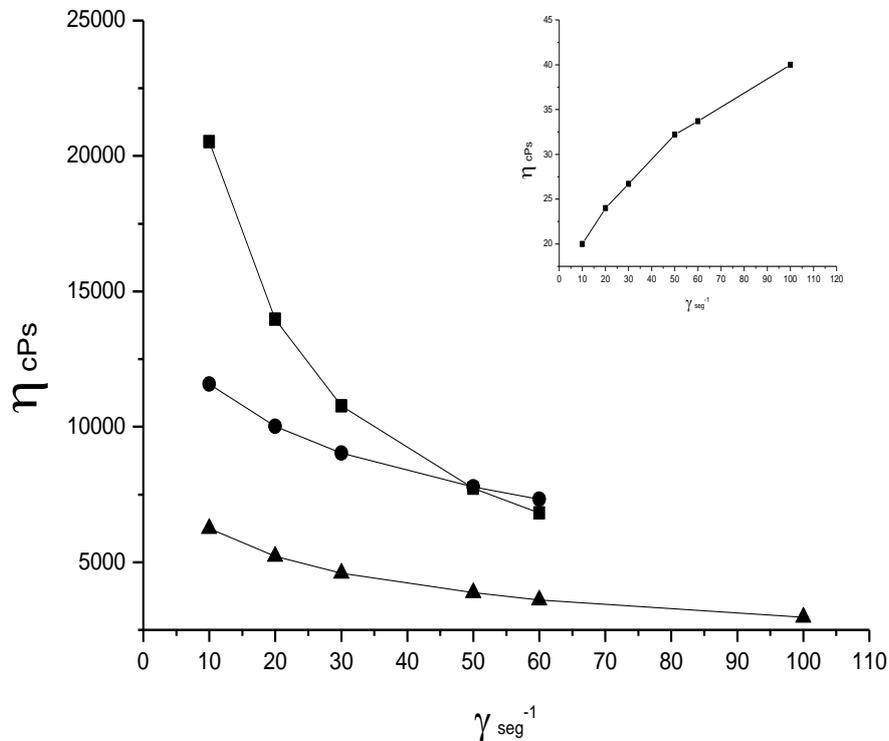
O volume de NaOH 0,1 M adicionado para alcançar este pH foi de 100 mL, o que reduziu a viscosidade da quitosana para 40 ( $\pm$  3,9) cPs. Este valor de viscosidade reduziu a viscosidade global da mistura F7 em relação aos hidrogéis das formulações F2 e F4. A viscosidade da mistura favoreceu a extensão do hidrogel sobre a placa de vidro e a formação do filme em bicamada.

Figura 7 – Resultados obtidos para a relação entre tensão de cisalhamento ( $\Gamma$ ) e taxa de cisalhamento ( $\gamma$ ) para F2 (■), F4 (●), F7 (▲) e na inserção F6 (◆)



Fonte: Elaboração própria

Figura 8 – Resultados obtidos para a relação entre viscosidade ( $\eta$ ) e taxa de cisalhamento ( $\dot{\gamma}$ ) para F2 (■), F4 (●), F7 (▲) e na inserção F6 (◆)



Fonte: Elaboração própria

As figuras 7 e 8 mostram o comportamento de fluxo dos hidrogéis. Para as formulações F2, F4 e F7, Figura 7 a tensão de cisalhamento aumenta com o aumento da taxa de cisalhamento. Como  $R^2$  para F2, F4 e F7 é diferente de 1,0 respectivamente, 0,974, 0,942 e 0,995 e o valor da ordenada na origem diferente de zero, o comportamento de fluxo é característico de fluido pseudo elástico. Esta interpretação é confirmada na Figura 8, na qual a viscosidade diminui com o aumento da taxa de cisalhamento.

O comportamento pseudo plástico é o mais comum entre os fluidos não Newtonianos. Este perfil também denominado de "shear-thinning" reflete uma mudança temporária da estrutura das moléculas no momento em que o "spindle" se movimentava, na amostra, em uma determinada velocidade (rpm). Neste caso, a conformação das moléculas seria orientada de forma paralela a superfície do "spindle", diminuindo a resistência à rotação do mesmo. Quanto maior for a taxa de

cisalhamento, mais a estrutura do hidrogel será alterada no sentido de formar lâminas, paralelas ao movimento do "spindle", reduzindo a viscosidade do meio.

A formulação F6, nos anexos de ambas as figuras, apresenta comportamento inverso. A tensão de cisalhamento e a viscosidade aumentam com o aumento da taxa de cisalhamento. Este comportamento é característico de fluido dilatante. O aumento da viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento caracteriza os fluidos dilatantes inserções nas Figuras 7 e 8. Embora mais raro que os fluidos pseudoplásticos, o comportamento dilatante é frequentemente observado nas dispersões com sólidos defloculados. Este perfil é também denominado de "shear-thickening".

## **5.2 Avaliação macroscópica dos dispositivos orais**

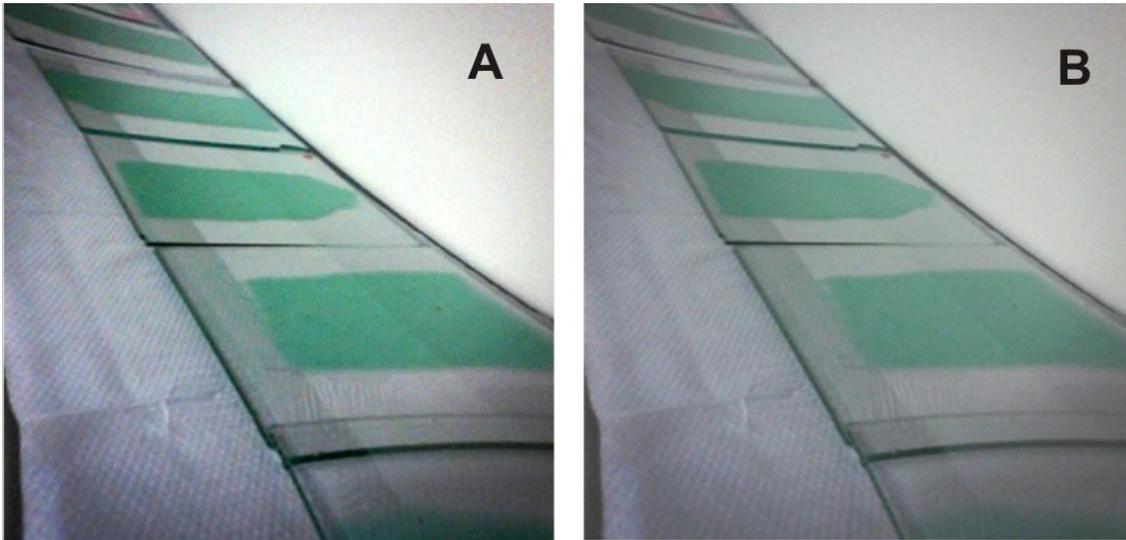
Os dispositivos orais na forma de filmes hidrogelatinosos mucoadesivos (FHM) foram preparados por extensão do hidrogel sobre uma placa de vidro. A presença de impurezas ou gordura sobre a superfície da placa interferiu negativamente na integridade do filme. Por este motivo, as placas foram cuidadosamente lavadas e desengorduradas com solvente orgânico, secas em estufa, polidas com tecido macio e mantidas ao abrigo do ar até o momento do uso.

Durante o desenvolvimento da formulação, a concentração do polímero e conseqüentemente a viscosidade do hidrogel, foi ajustada experimentalmente para após o deslocamento do extensor, escoar por uma abertura de 0,5 mm (abertura de vazão do extensor) sob uma taxa uniforme. A taxa de vazamento está diretamente relacionada à uniformidade de espessura lote a lote.

O hidrogel estendido sobre a placa de vidro é apresentado na Figura 9, antes e depois da secagem, respectivamente, painéis A e B.

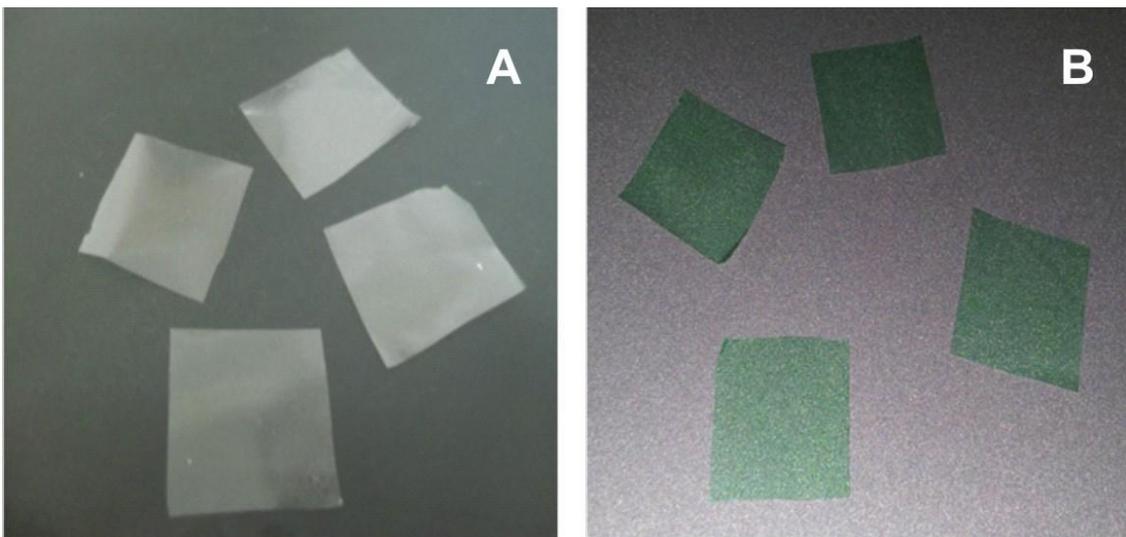
Após a secagem, o filme foi facilmente removido da placa e cortado para uma extensão final de (20x20 mm). A Figura 10 apresenta os FHM com e sem corante, respectivamente, painéis A e B.

Figura 9 - Hidrogel estendido sobre a placa de vidro, (A) antes e (B) depois da secagem.



Fonte: Elaboração própria

Figura 10 - Filmes hidrogelatinosos mucoadesivos (A) sem corante e (B) corados.



Fonte: Elaboração própria

Considerando os cuidados adotados para escolha dos polímeros e o rigor da técnica de preparação dos hidrogéis, o processo de preparação destes dispositivos orais pode ser facilmente ajustado para um aumento de escala na produção.

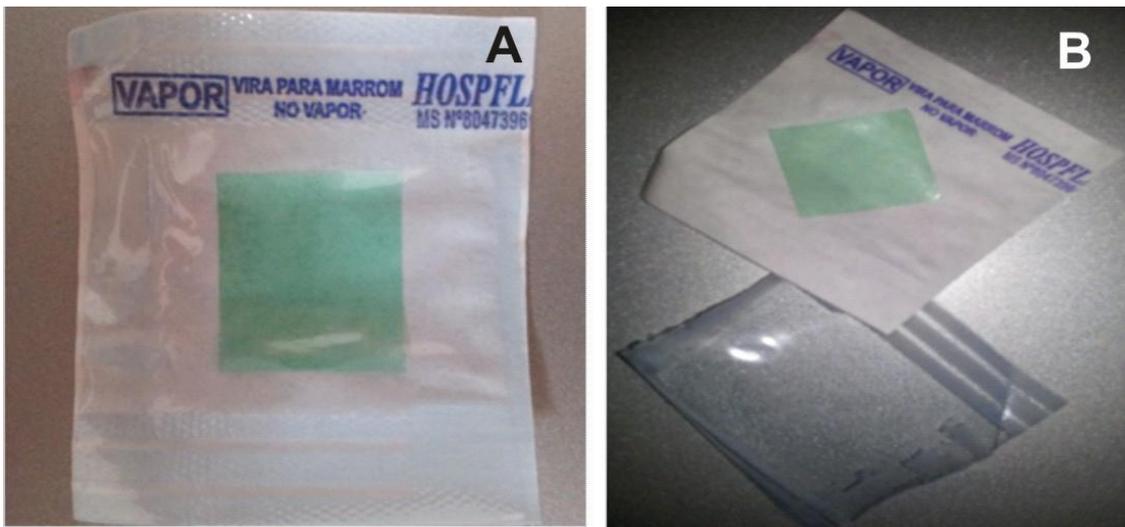
### 5.2.1 Caracterização morfológica e organoléptica

A espessura e a massa dos filmes obtidos a partir da formulação F7 foram em média, respectivamente, de  $62,5 \pm 0,9 \mu\text{m}$  e  $15,0 \pm 0,3\text{mg}$  ( $n=20$ ).

A Figura 11A mostra o filme dentro da embalagem que será dispensada aos usuários do produto, a Figura 11B e o filme após a abertura da embalagem. A embalagem é impermeável a gases atmosféricos e à umidade. Os filmes apresentaram características morfológicas adequadas, a superfície é lisa e uniforme, ver Figura 12. A Figura 13 mostra uma sequência de imagens sobre a administração do filme e a colocação do mesmo na cavidade oral, mais especificamente posicionado no palato. As dimensões dos filmes foram escolhidas para facilitar a manipulação e a aplicação no palato.

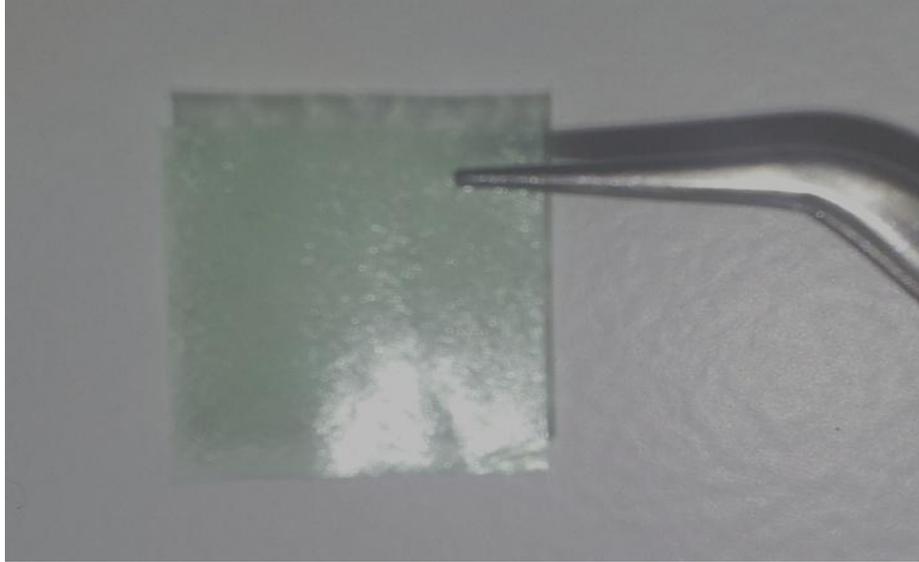
O efeito dos edulcorantes no sabor e no odor será melhor avaliado após a adição de fármacos. No entanto, o sabor conferido pelos edulcorantes é agradável sem, contudo, alterar o fato de que este dispositivo oral é um produto medicamentoso. Por outro lado, os edulcorantes, com exceção do óleo de castor hidrogenado, são eletrólitos e não alteraram a reticulação dos polímeros.

Figura 11 - Filme hidrogelatinoso na embalagem original (A) embalagem lacrada e (B) embalagem aberta.



Fonte: Elaboração própria

Figura 12 - Características morfológicas adequadas dos filmes hidrogelatinosos.



Fonte: Elaboração própria

Figura 13 - Sequência de imagens da aplicação do filme: introdução na cavidade oral e posicionamento do mesmo sob o palato.



Fonte: Elaboração própria

A Figura 14 mostra o resultado do estudo de microscopia eletrônica de varredura. As imagens foram selecionadas para mostrar a morfologia do filme em

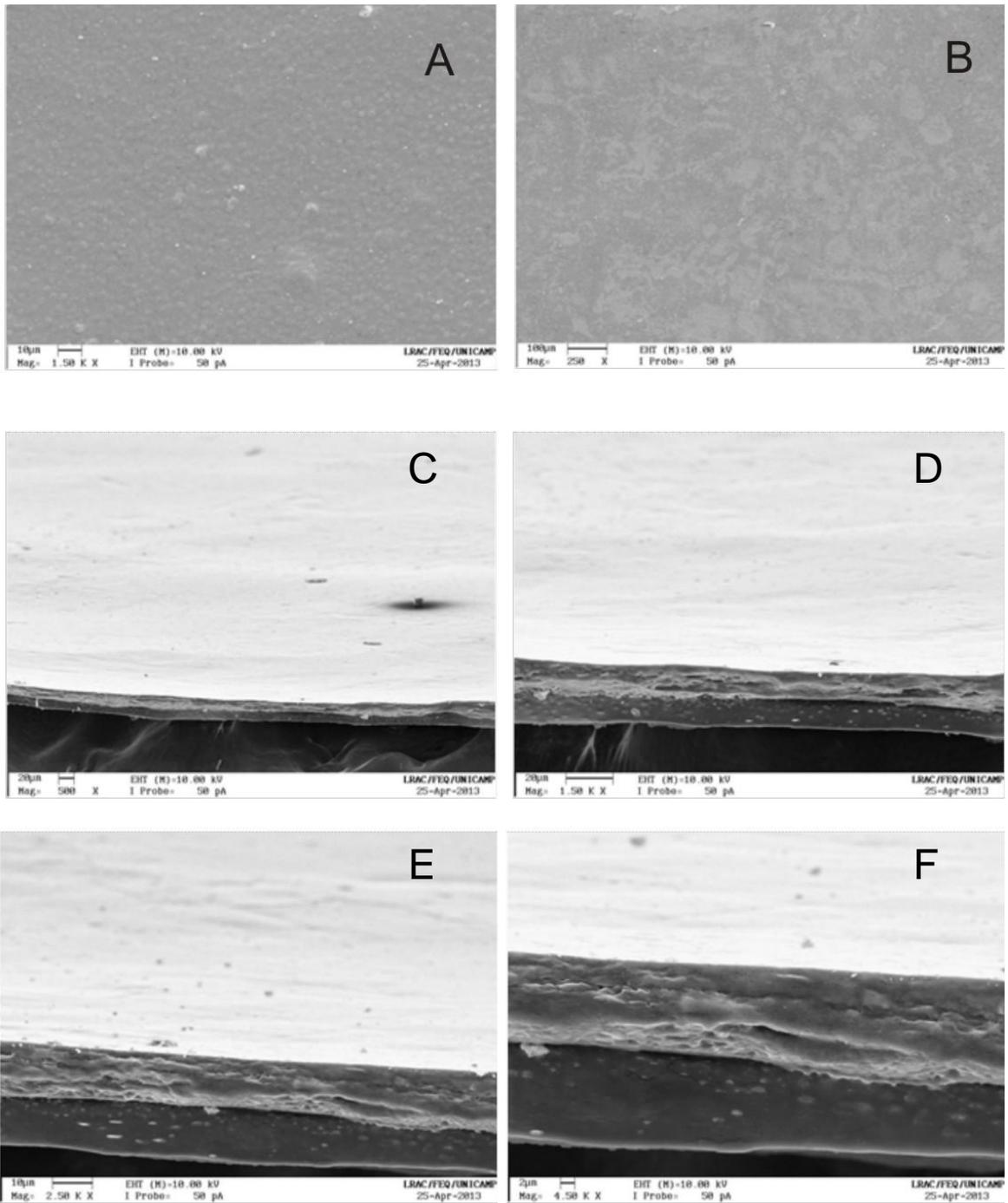
bicamada. Face apical (F7), painel A; Face Basal (F2) painel B. Os painéis de C a F mostram a face lateral do filme em diferentes ampliações, respectivamente: 500, 1500, 2500 e 4500 vezes.

A superfície apical do filme (F7), painel A, é depositada sobre a superfície da placa de vidro. A porosidade do vidro deixa a superfície do filme mais áspera ao toque manual. A superfície basal do filme (F2), painel B, apresenta superfície lisa e manchada, as manchas não são visíveis macroscopicamente, podem ser devido à mistura dos polímeros (CMC:HPMCK4M:QT).

Nas imagens dos cortes transversais (C-F) a divisão entre as camadas é perfeitamente visível. A posição da imagem é a forma como o filme será colocado na cavidade oral. A parte superior, mais clara, contendo a mistura de polímeros (F7) ficará aderida ao epitélio do palato e a parte inferior contendo apenas CMC é a superfície basal. Na cavidade oral a face basal deverá sofrer um rápido processo de erosão, permitindo uma liberação mais rápida do fármaco contido nesta fase.

As imagens obtidas através de MEV confirmam as características observadas macroscopicamente, confirmando o objetivo de obter filmes em bicamada. Desta forma, os dispositivos orais na forma de filmes bicamada poderão ser testados para veiculação de fármacos.

Figura 14 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura da face superior do filme (painel A), face inferior do filme (painel B) e cortes transversais em diferentes ampliações.



Fonte: Elaboração própria

### 5.2.2 Avaliação da Mucoadesão

A Tabela 8 mostra os resultados da força de fratura necessária para separar as superfícies do filme dos discos de mucina após contato de 3, 5 e 15 minutos. As medidas foram realizadas no TA-XT Plus Analyzer. Todas as medidas foram analisadas estatisticamente usando análise de variância ANOVA, seguida de Tukey, comparando a média aritmética  $\pm$  desvio padrão com limite de 5%. Os resultados apresentados na Tabela 8 ilustram as forças de adesão (Fmax).

Tabela 8 - Desempenho de mucoadesão das amostras F2 e F7 para diferentes tempos de contato.

Formulação	Força de adesão (N)		
	Tempo de Contato (min)		
	3(min)	5(min)	15(min)
<b>F2</b>	0,10 $\pm$ 0,12	1,06 $\pm$ 0,15	0,87 $\pm$ 0,25
<b>F7</b>	2,22 $\pm$ 0,28	3,63 $\pm$ 0,21	2,18 $\pm$ 0,17
<b>F7 + fármaco</b>	2,12 $\pm$ 1,20	3,03 $\pm$ 2,19	2,19 $\pm$ 1,21

Fonte: Elaboração própria

Na comparação entre os grupos, a F7 apresenta maior força de mucoadesão em todos os tempos ( $p < 0,05$ ), Anoda Tukey. O resultado era esperado uma vez que esta formulação reúne as propriedades adesivas da quitosana (+) com a mucina (-) e a interpenetração das cadeias dos polímeros no epitélio. Não há diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as formulações F7 e F7 + fármacos. No entanto, uma redução da força de adesão da F7+fármaco pode ser observada. O fenômeno está ligado ao menor número de carga elétrica de superfície, devido ao maior número de eletrólitos oriundos dos fármacos presentes na formulação. Esta hipótese deverá ser confirmada através de análise do Potencial Zeta das formulações hidrogelatinosas e dos filmes dispersos em água.

### 5.2.3 Avaliação das propriedades mecânicas de resistência à perfuração e tração.

Os resultados da avaliação da resistência mecânica dos filmes hidrogelatinosos à perfuração e tração (alongação), bem como o tempo de

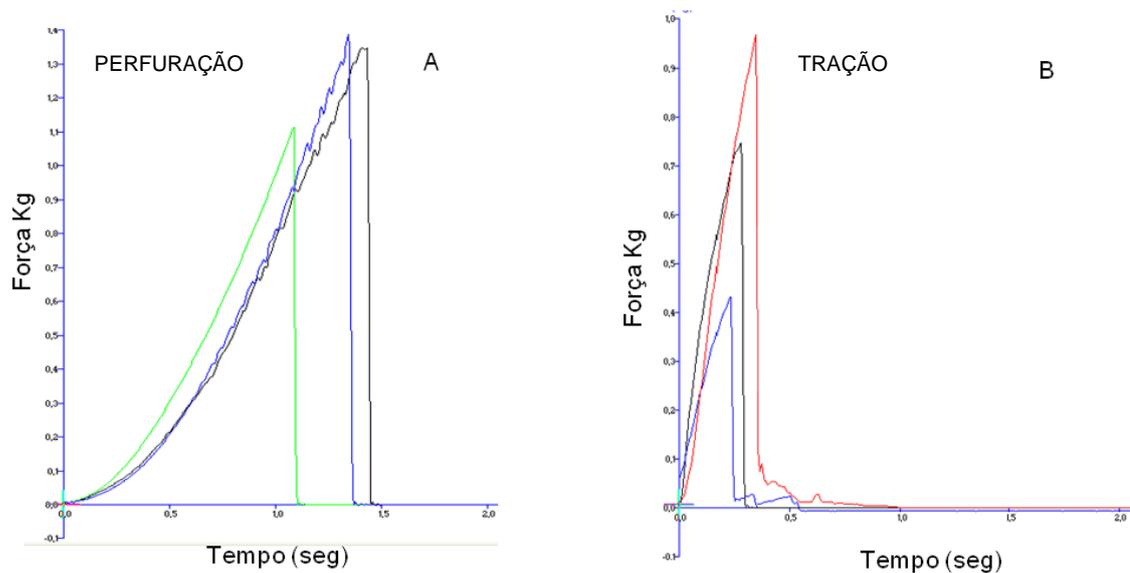
resistência a cada medida de força em função do tempo, representado pela área sob a curva (ASC), são apresentados na Tabela 9 e Figuras de 15 a 17.

Tabela 9 - Resistência mecânica (Kg  $\pm$  DP) dos filmes hidrogelatinosos à tração e perfuração e tempo de resistência (seg  $\pm$  DP) em função da força (Kg) aplicada (ASC), n=3

Filmes	Perfuração		Tração	
	Força (Kg)	ASC (Kg.seg <sup>-1</sup> )	Força (Kg)	ASC (Kg.seg <sup>-1</sup> )
<b>CMC (F2)</b>	1,28 $\pm$ 0,14	0,62 $\pm$ 0,14	0,71 $\pm$ 0,26	0,13 $\pm$ 0,06
<b>HPMC K4M (F4)</b>	1,24 $\pm$ 0,12	0,60 $\pm$ 0,09	1,71 $\pm$ 0,15	1,17 $\pm$ 0,17
<b>CMC:HPMC:QT (F7)</b>	0,64 $\pm$ 0,24	0,29 $\pm$ 0,12	1,21 $\pm$ 0,19	0,77 $\pm$ 0,39

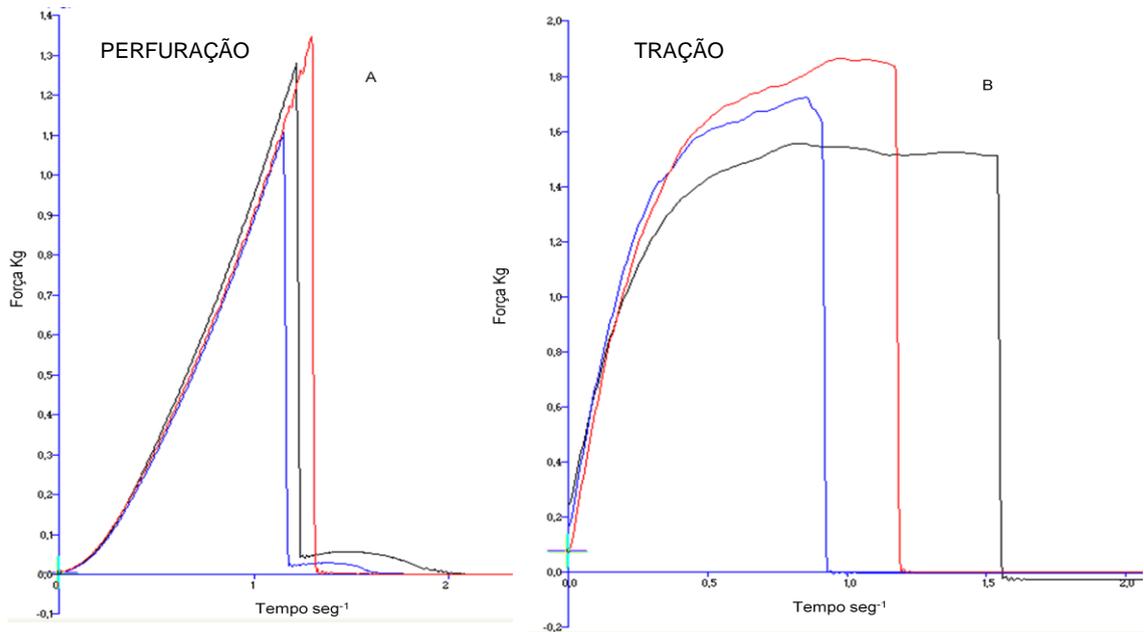
Fonte: Elaboração própria

Figura 15 - Resultados das forças de perfuração (A) e tração (B) do filme de CMC (F2).



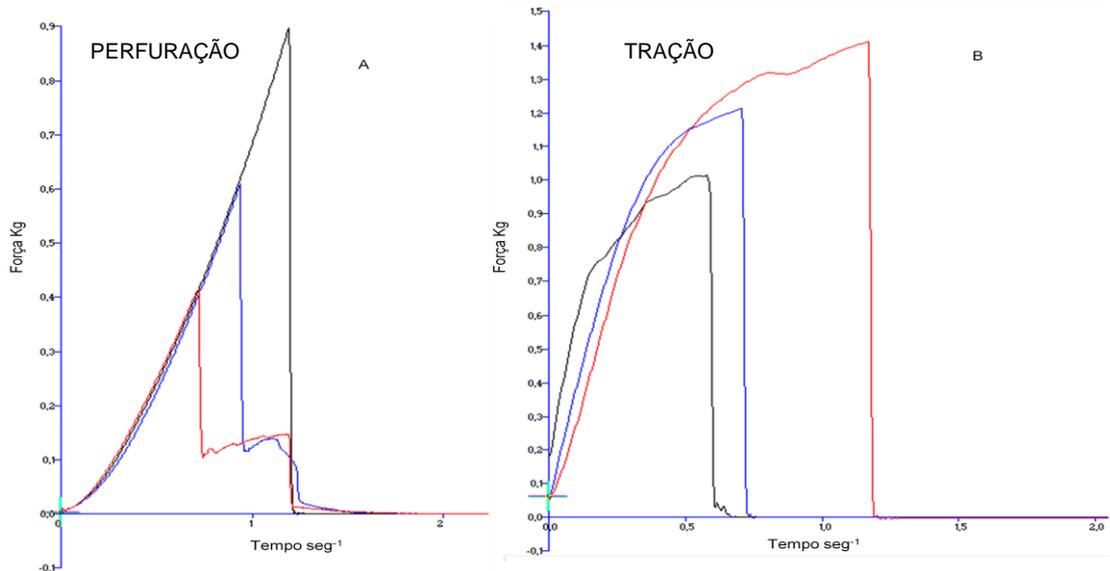
Fonte: Elaboração própria

Figura 16 - Resultados das forças de perfuração (A) e tração (B) do filme de HPMC (F4).



Fonte: Elaboração própria

Figura 17 - Resultados das forças de perfuração (A) e tração (B) do filme da mistura CMC: HPMC: QT (F7).



Fonte: Elaboração própria

As medidas de resistência mecânica à tração e perfuração representam a carga (Kg) que os filmes obtidos das formulações F2, F4 e F7 são capazes de

suportar. Os resultados devem ser analisados em função da espessura média dos filmes  $0,0625 \pm 0,0029$  mm e massa (15 mg) de cada filme com área de 20x20 mm. A avaliação das forças de tração e perfuração é importante para avaliar a capacidade do filme aos processos de corte nas proporções pré-determinadas, embalagem, remoção do filme da embalagem e facilidade manipulação pelo usuário.

Os resultados das medidas isoladas das formulações F2 e F4, Tabela 9 e Figuras 15 e 16 mostram que os filmes obtidos com HPMC (F4) são mais resistentes á tração que os filmes obtidos com CMC (F2). No entanto, a diferença nas forças necessárias para romper o filme (perfuração) é irrelevante,  $1,28 \pm 0,14$  Kg e  $1,24 \pm 0,12$  Kg, respectivamente, para F2 e F4. Isoladamente estes filmes suportam mais de 1,0 Kg de pressão sobre uma película de  $0,0625 \pm 0,0029$  mm.

Ao analisar as mesmas medidas de resistência, Tabela 9 e Figura 17 para a mistura CMC:HPMC:QT (F7) a força necessária para romper o filme (perfuração) reduz em aproximadamente 50% ( $0,64 \pm 0,24$  Kg). A variação na resistência à tração ( $1,21 \pm 0,19$  Kg) é maior que aquela apresentada pela F2 ( $0,71 \pm 0,26$  Kg) e menor que aquela apresentada pela formulação F4 ( $1,71 \pm 0,15$  Kg).

A área sob a curva (ASC) apresentada na Tabela 9 representa o tempo em que os filmes suportam a carga máxima de pressão ( $\text{Kg}\cdot\text{seg}^{-1}$ ). Os resultados mostram que o tempo de resistência à perfuração é semelhante para as formulações F2 e F4 e cerca de 50% menor para a formulação F7. Em relação à resistência à tração os resultados encontrados são significativamente diferentes. A formulação F4 apresenta um tempo de resistência ao rompimento do filme cerca de 90% maior que a F2. Em relação à F7 o tempo de resistência ao rompimento do filme é cerca de 35% menor que a F2, e cerca de 85% maior que a F1.

As diferenças observadas na resistência (Kg) e no tempo de resistência á força máxima ( $\text{Kg}\cdot\text{seg}^{-1}$ ) podem ser devidas à adição da quitosana e/ou a proporção da mistura. O efeito da mistura F2: F4 que poderia indicar mais precisamente a influência da quitosana não foi avaliado. No entanto, avaliamos que a resistência á tração e perfuração são suficientes para os propósitos deste estudo.

#### 5.2.4 Avaliação da citotoxicidade

Os resultados dos estudos de citotoxicidade estão representado na Tabela 10 e na Figura 18. Os resultados mostram a vitalidade das células MCF-7 no meio de cultura celular contendo as amostras controle, A, B e C, respectivamente, filmes monocamada (F2), bicamada (F2+F7), bicamada (F2+F7) adicionado de fármacos (lidocaína, benzidamina e N-acetilcisteína).

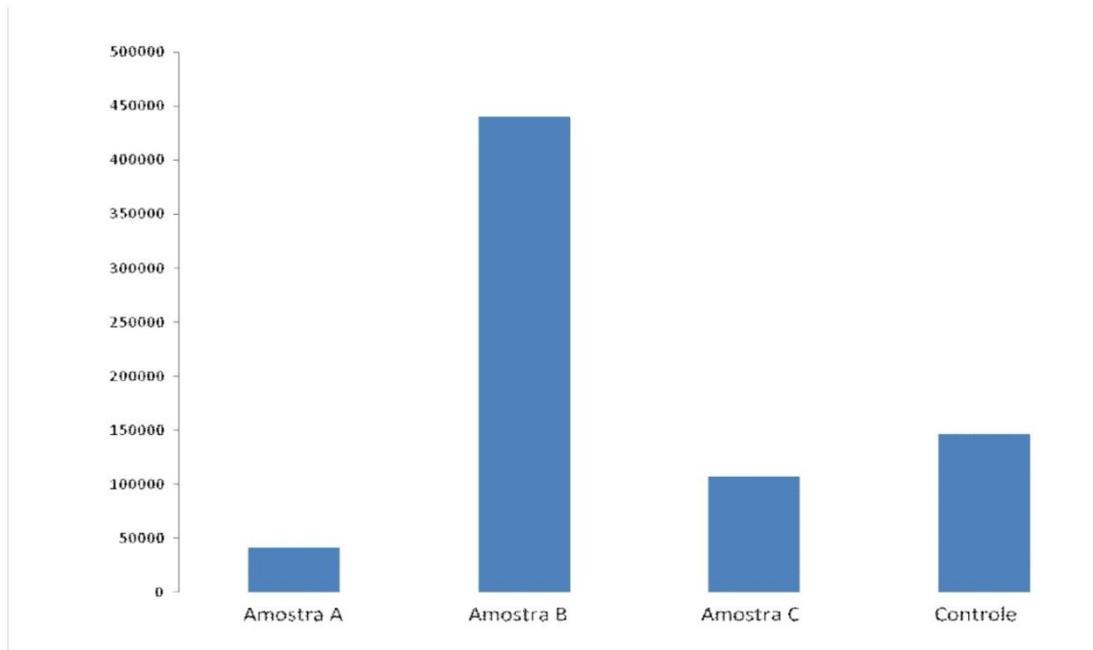
Os valores representam o número de células viáveis por área da região de cultivo. Amostra A (F2), Amostra B (F7), Amostra C ( F7 + fármacos) e Controle. Embora a diferença no crescimento seja numericamente demonstrada, um tratamento estatístico deverá ser realizado para analisar o grau de significância da diferença apresentada entre os grupos.

Tabela 10 - Resultados do estudo de viabilidade celular.

<b>Número de células por mm<sup>3</sup></b>				
	Amostra A (F2)	Amostra B (F7)	Amostra C (F7 + Fármaco)	Controle
	35110,2	252794,1	91286,7	101117,6
	43536,7	455029,4	101117,6	141845,6
	42132,3	415705,9	109544,1	106735,3
	25279,4	276669,1	77242,6	126397,1
	46345,5	544911,8	95500,5	169933,8
	60389,7	404470,6	89882,3	140441,2
	39323,5	499970,6	115161,8	141845,6
	35110,2	464860,3	130610,3	181169,1
	47750,4	515419,1	146058,8	213470,6
	33705,8	575808,8	116566,2	143250,5
<b>Média</b>	40868,3	440564,0	107297,1	146620,6
<b>DesvPad</b>	9604,2	10057,3	20653,3	33946,9
<b>ErroPad</b>	3039,3	33.878,9	6535,9	10742,7

Fonte: Elaboração própria

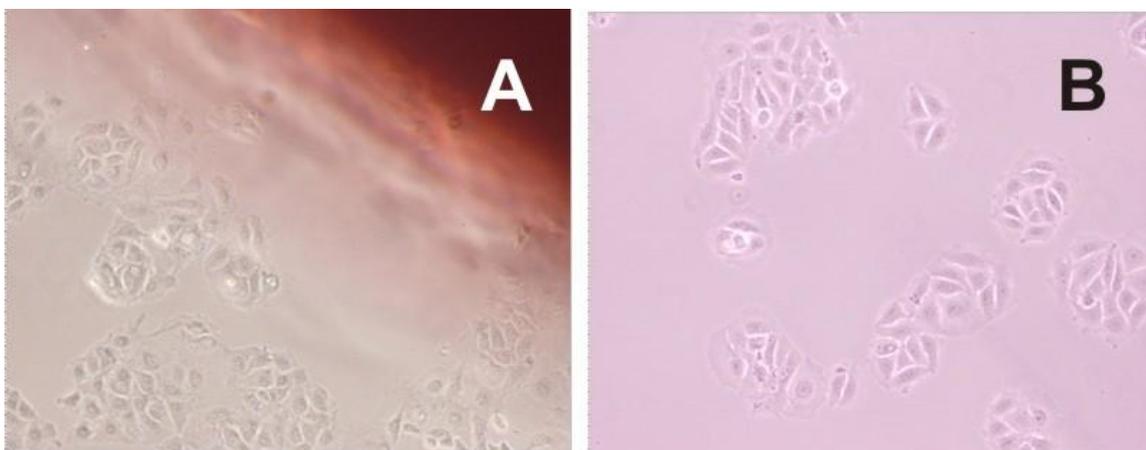
Figura 18 - Resultado do estudo de viabilidade celular na presença dos filmes hidrogelatinosos mucoadesivos para as formulações F2 (Amostra A); F 7 (Amostra B) e F7 + fármaco (Amostra C).



Fonte: Elaboração própria

A Figura 19 é a imagem da superfície do meio de cultura de células MCF-7. Na lateral superior direita da imagem é possível observar as margens do filme da amostra C (F7). Na periferia do filme é possível enxergar camadas do processo de erosão do polímero e liberação gradual do corante. Na área mais próxima do filme a população de células é menor. No entanto, as células ligeiramente mais afastadas estão em processo de divisão formando colônias de células, o que mostra que o dispositivo oral na forma de filme hidrogelatinoso não apresenta citotoxicidade.

Figura 19 – Resultados obtidos na cultura de células com filme, (A) Amostra C { F7 + fármaco} e cultura de células controle (B)

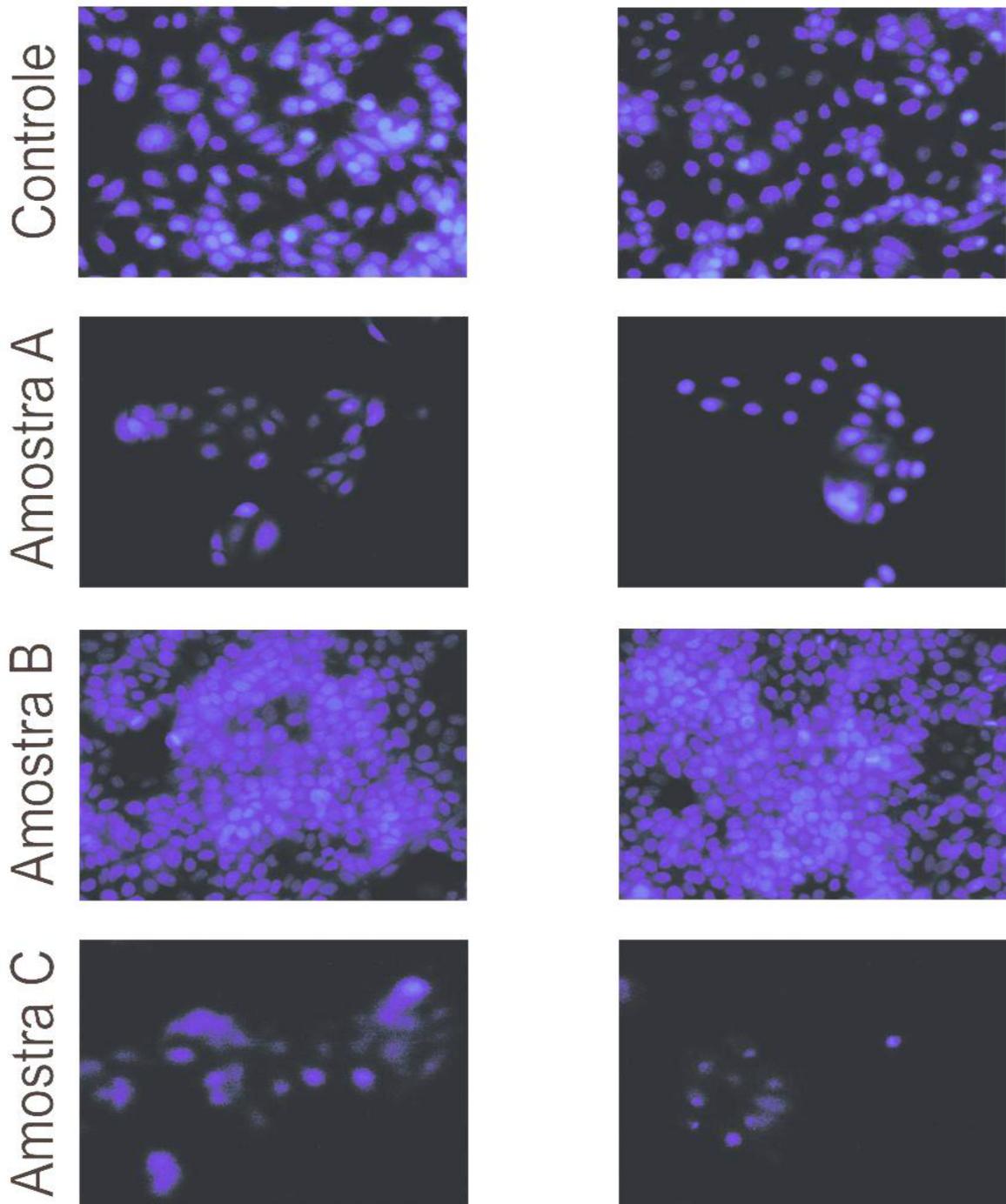


Fonte: Elaboração própria.

A prancha de viabilidade celular (Figura 19) observada sob luz ultra-violeta representa melhor a viabilidade celular das células MCF7 na presença das amostras A, B e C em relação ao controle. O resultado garante que o produto não apresenta citotoxicidade e pode ser utilizado em seres humanos sem prejuízos para a saúde. Destes resultados é preciso destacar a amostra B, cuja proliferação celular é significativamente superior às demais, incluindo o controle.

Figura 20 – Resultados obtidos no estudo de viabilidade celular de células da linhagem MCF7 na presença das amostras A (F2), B (F2 +F7), C (F2+F7+ fármacos) em relação ao controle

## Teste de viabilidade celular



Fonte: Elaboração própria

#### 5.2.5 Avaliação piloto “*in vivo*” sobre a erosão do filme otimizado sem fármacos.

A avaliação piloto foi realizada “*in vivo*” em um grupo composto por 18 pacientes, homens e mulheres na idade adulta, portadores de neoplasias de cabeça e pescoço assistidos no Setor de Odontologia do CHS com protocolos quimioterápicos, radioterápicos ou combinação de ambos, os quais foram abordados aleatoriamente e concordaram livremente em fazer parte do experimento.

O FHM sem fármacos foi colocado na cavidade oral, sob o palato, pelo próprio experimentador conforme mostrado na Figura 13. O protocolo de estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde – Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, Anexo I.

As imagens Figura 18 realizadas com intervalos de 30 minutos mostram a sequência de eventos que ocorre com o FHM na cavidade oral.

Figura 21- Sequência de imagens do estudo piloto realizado in vivo com o FHM sem a presença de fármacos.



Fonte: Elaboração própria

Deste estudo podemos deduzir que o filme permanece no palato durante todo o tempo de observação, na mesma posição em que foi colocado no início do estudo

de observação. Esta característica é resultado da força de adesão do filme sobre a mucosa. A descoloração do FHM em função do tempo de permanência na boca permite projetar um processo de difusão gradual para fármacos, quando estes forem adicionados aos filmes. O corante (E114) utilizado, devido a sua solubilidade em água, não mancha a mucosa nem os elementos dentais do indivíduo. O estudo foi realizado com 18 pacientes que assinaram termo de livre consentimento para participar do experimento e o resultado não apresentou diferenças significativas.

As imagens mostram que os objetivos primários deste projeto foram alcançados e dão o suporte e a segurança necessária para o início do estudo experimental, *in vivo*, com os grupos controle FHM (sem fármacos) e em tratamento (com fármaco) que será realizado na próxima etapa deste projeto.

Este estudo foi motivado pelas poucas opções disponíveis para o tratamento efetivo da mucosite oral, especialmente aquelas causadas por quimioterapia e radioterapia. A mucosite é uma doença de etiopatogenia complexa, cujo grau de comprometimento é reflexo dos cuidados na prevenção e eficácia do tratamento.

O tratamento da mucosite oral tem sido predominantemente sintomático, e pouco tem sido reportado sobre prevenção desta grave condição patológica, que compromete a continuidade do tratamento quimioterápico e radioterápico e a qualidade de vida dos pacientes portadores de doenças cancerígenas.

A prevenção e o tratamento da mucosite oral é predominantemente tópico. Alguns cuidados com as formas farmacêuticas preconizadas para esta finalidade devem ser observados. Dentre as ações terapêuticas esperadas destacam-se os efeitos anestésico, bactericida e bacteriostático. Outros valores que devem ser agregados às formulações farmacêuticas são o estímulo à reepitelização, aumento do fluxo salivar, comodidade posológica, formas farmacêuticas sólidas porém flexíveis para evitar agravamento das lesões e aumento da adesão ao tratamento.

Nesta perspectiva de produto com alto valor agregado, os dispositivos orais na forma de filme hidrogelatinoso mucoadesivo podem ser uma alternativa promissora na prevenção e tratamento da mucosite oral e vaginal.

No desenvolvimento deste tipo de produto, estudos de pré-formulação devem ser cuidadosamente conduzidos e direcionados aos objetivos a serem alcançados. O processo de fabricação deve ser o mais simples possível a fim de possibilitar um aumento de escala de produção.

O produto final bem como as etapas intermediárias do processo de fabricação deve ser facilmente controlado através de métodos físico-químicos e biológicos que assegurem reprodutibilidade lote a lote.

Ao seguir esta linha de raciocínio, a preocupação foi inicialmente a escolha de polímeros que apresentassem as características desejadas para obtenção de filmes hidrogelatinosos mucoadesivos e possibilitassem um controle na liberação de fármacos. Os filmes deveriam ser estruturas sólidas, de pequena espessura, flexíveis para permitir manuseio e acomodação por moldagem na cavidade oral.

Para veiculação dos fármacos foi planejado usar anestésico (cloridrato de lidocaína), analgésico e antiinflamatório não estereoidal (benzidamina) e um mucolítico (n-acetilcisteína). O mucolítico foi incorporado á formulação com o objetivo de reduzir a viscosidade da saliva, a qual é muito aumentada durante o tratamento quimio/radioterápico.

Como o anestésico deveria ser liberado mais rapidamente que os demais compostos o dispositivo oral foi planejado na forma de bicamada sendo a camada basal composta de CMC ultrapurificada (F2) e a camada apical (mucoadesiva) e mais resistente à erosão composta de CMC ultrapurificada, HPMC K4M, QT de baixa massa molar.

Os resultados dos estudos com os hidrogéis mostraram o comportamento de fluxo de cada polímero bem como da mistura e as concentrações de cada polímero no hidrogel adequadas para a formação de um dispositivo oral na forma de filme bicamada, hidrogelatinoso e mucoadesivo.

O efeito da concentração destes polímeros sobre a liberação dos fármacos será avaliado posteriormente. No entanto, a mucoadesão e a resistência mecânica medidas *in vitro* foram plenamente satisfatória para alcançar o produto desejado.

Estudo piloto realizado "*in vivo*" demonstrou que o dispositivo oral adere á superfície do epitélio e que a erosão da camada apical foi visualmente gradual.

Tanto o objetivo geral como os objetivos específicos desta proposta de estudo foram alcançados. No entanto, os estudos continuarão para: i) avaliar o Potencial Zeta e a sua correlação com as forças de mucoadesão; ii) incorporação dos fármacos e avaliação das propriedades mecânicas; iii) estudo dos fenômenos de transferência de massa através do perfil de liberação dos fármacos; iv) avaliação *in vivo* da eficácia terapêutica.

## 6 CONCLUSÃO

Os resultados dos estudos com os hidrogéis mostraram o comportamento de fluxo de cada polímero bem como da mistura e as concentrações mais adequadas de cada polímero no hidrogel para a formação de um dispositivo oral na forma de filme bicamada, hidrogelatinoso e mucoadesivo. Considerando os cuidados adotados para escolha dos polímeros e o rigor da técnica de preparação dos hidrogéis, o processo de preparação destes dispositivos orais podem ser facilmente ajustados para um aumento de escala na produção

O hidrogel da mistura de CMC:HPMC:QT (F7) foi o que reuniu as melhores propriedades de cada um dos polímeros, bem como propiciou ações sinérgicas entre os mesmos. A decisão de trabalhar com a mistura polimérica foi tomada após resultados insatisfatórios obtidos com os filmes de cada um dos polímeros isolados. A proporção dos polímeros na Formulação F7 foi estabelecida para destacar as propriedades biofarmacotécnicas de cada polímero e garantir um comportamento de fluxo adequado para formação do filme.

Os edulcorantes garantiram características morfológicas e organolépticas satisfatórias.

Em relação à mucoadesão, foi feita uma comparação entre as formulações, onde a F7 apresentou maior força de mucoadesão em todos os tempos ( $p < 0,05$ ). O resultado era esperado uma vez que esta formulação reúne as propriedades adesivas da quitosana (+) com a mucina (-) e a interpenetração das cadeias dos polímeros no epitélio. Não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as formulações F7 e F7 + fármacos.

O resultado da avaliação de citotoxicidade garante que o dispositivo oral na forma de filme hidrogelatinoso não apresenta citotoxicidade, e pode ser utilizado em seres humanos sem prejuízos para a saúde. Destes resultados é preciso destacar a amostra B (F7), cuja proliferação celular foi superior às demais amostras e ao controle.

Avaliação piloto “*in vivo*” sobre a erosão do filme sem fármacos permanece no palato durante todo o tempo de observação, na mesma posição em que foi colocado no início do estudo de observação. Esta característica é resultado da força de adesão do filme sobre a mucosa. A descolaração do FHM em função do tempo de

permanência na boca permite projetar um processo de difusão gradual para fármacos, quando estes forem adicionados aos filmes.

Os objetivos primários deste projeto foram alcançados e dão o suporte e a segurança necessária para o início do estudo experimental, *in vivo*, com os grupos controle FHM (sem fármacos) e em tratamento (com fármaco) que será realizado na próxima etapa deste projeto.

A prevenção e o tratamento da mucosite oral é predominantemente tópico. Alguns cuidados com as formas farmacêuticas, do tipo filme hidrogelatinoso preconizadas para esta finalidade devem ser observados. Dentre as ações terapêuticas esperadas destacam-se os efeitos anestésico, bactericida e bacteriostático. Outros valores que devem ser agregados às formulações farmacêuticas são o estímulo á reepitelização, o aumento do fluxo salivar, a comodidade posológica, formas farmacêuticas sólidas porém flexíveis para evitar agravamento das lesões, e aumento da adesão ao tratamento. Nesta perspectiva de produto com alto valor agregado, os dispositivos orais na forma de filme hidrogelatinoso mucoadesivo podem ser uma alternativa promissora na prevenção e tratamento da mucosite oral.

## REFERÊNCIAS

- AFRAMIAN, DJ., LALLA, RJ., PETERSON, DE. Management of dental patients taking common hemostasis-altering medications. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**. United States, v.103 (suppl.), p.S45, Nov. 2007.
- AHUJA, A., R. K. KHAR, *et al.* Mucoadhesive drug delivery system. **Drug Development and Industrial Pharmacy**. England v.23, n.5, p.489-517. 1997.
- ALBUQUERQUE, IEDA LESSA DE SOUZA; CAMARGO, TERESA CALDAS. Prevenção e tratamento da mucosite oral induzida por radioterapia: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Cancerologia**. Brasil , v.53(2): 195-209, 2007.
- ALHALAWEH, A., A. VILINSKA, *et al.* Surface thermodynamics of mucoadhesive dry powder formulation of zolmitriptan. **AAPS PharmSciTech**. United States ,v.12, n.4, p.1186-1192. 2011.
- ALLEN, A., A. J. LEONARD, *et al.* The mucus barrier. Its role in gastroduodenal mucosal protection. **Journal of Clinical Gastroenterology**. United States v.10 Suppl 1, p.S93-8. 1988.
- ALUR, H. H., T. P. JOHNSTON, *et al.* **Encyclopedia of Pharmaceutical Technology**. J. Superbrick, J.C. Boylan (Eds.), Peptides and Proteins: Buccal Absorption: Marcel Dekker Inc. New York, v.20. 2001
- ANDERS, R. E H. P. MERKLE. Evaluation of laminated muco-adhesive patches for buccal drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**. England ,v.49, n.3, p.231-240. 1989.
- ANDREW L FINN, WD CHARLIE HILL, *et al.* Absorption and tolerability of fentanyl buccal soluble film (FBSF) in patients with cancer in the presence of oral mucositis. **Journal of Pain Research**. New Zealand, v.4, p.245-251. 2011.
- ANDREWS, G. P., T. P. LAVERTY, *et al.* Mucoadhesive polymeric platforms for controlled drug delivery. **European Journal Pharmacy and Biopharmacy**. Germany, v.71, n.3, Mar, p.505-18. 2009.
- ANTUNES, R.C.P; RIBEIRO, A.P.V; MENDES FILHO, G. Abordagem multidisciplinar preventiva das complicações orais da radioterapia e quimioterapia. **Prática Hospitalar**. Brasil, ano VI, n.33, Mai./Jun. 2004.
- AUNGST, B. J. Absorption enhancers: applications and advances. **AAPS J**. United States, v.14, n.1, p.10-8. 2012.
- BARASCH A, ELAD S, ALTMAN A, DAMATO K, EPSTEIN J. Antimicrobials, mucosal coating agents, anesthetics, analgesics, and nutritional supplements for alimentary tract mucositis. **Support Care Cancer**. Germany, 2006; 14: 528-532

BARCLAY, L., Morphine mouthwash relieves pain of oral mucositis. **Cancer cell.** United States, v.95, p.2230-2236. 2002.

BENSADOUN, R.J. Low level LASER therapy (LLLT): a new paradigm in the management of cancer therapy-induced mucositis. **Indian J. Med Res.**, India, v. 124, p. 375-378, oct./2006.

BENSADOUN RJ,SCHUBERT MM,LALLA RV,KEEFE D. Amifostine in the management of radiation-induced and chemo-induced mucositis. **Support Care Cancer.** Germany, 2006 Jun; 14(6):566-72.

BERGER AM; KILROY TJ. Oral complications. in DeVita, VT, Hellman S, Rosenberg AS, editors. **Cancer: Principles and practice of oncology.** 5th ed. Philadelphia: J B Lippincott; 1997. pp 2714-2725.

BERNKOP-SCHNURCH, A. Mucoadhesive polymers: strategies, achievements and future challenges. **Advanced Drug Delivery Reviews.** Netherlands, v.57, n.11, p.1553– 1555. 2005.

BIRUDARAJ, R., R. MAHALINGAM, *et al* .Advances in buccal drug delivery. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems.** United States, v.22, n.3, p.295-330. 2005.

BONAN, P. R. F. et al. Aspectos clínicos, biológicos, histopatológicos e tratamentos propostos para a mucosite oral induzida por radioterapia: revisão da literatura. **Revista Brasileira de Cancerologia.** Brasil, v.51, n.3, p.235-242, 2005.

BORENFREUD, E. E J. A. PUERNER. Toxicity determined in vitro by morphological alterations and neutral red absorption. **Toxicology Letters.** Netherlands, v.24, n.2-3, p.119-124. 1985.

BRUSCHI, M. L. E O. DE FREITAS.Oral bioadhesive drug delivery systems. **Drug Development and Industrial Pharmacy.** England, v.31, n.3, p.293-310. 2005.

CAMPISI, G., C. PADERNI, *et al* . Human buccal mucosa as an innovative site of drug delivery. **Current Pharmaceutical Design,** United Arab Emirates, v.16, n.6, p.641-52. 2010.

CARDOSO, M.F.A. *et al* .Prevenção e controle das seqüelas bucais em pacientes irradiados por tumores de cabeça e pescoço. **Radiol Brás.** Brasil, 38(2): 107-115,2005.

CHATURVEDI, M., M. KUMAR, *et al* . A review on mucoadhesive polymer used in nasal drug delivery system. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research.** India, v.2, n.4, p.215-22. 2010.

CHIAPPELLI, F. The molecular immunology of mucositis: implications for evidence-based research in alternative and complementary alliative treatments. **Evid. Based Complement. Alternat. Med.**, Oxford, v.2, n.4, p.489–494, 2005.

CHOI, W. I., J. H. LEE, *et al.* Efficient skin permeation of soluble proteins via flexible and functional nano-carrier. **Journal Control Release**. Netherlands, v.157, n.2, p.272-8. 2012

DANGI, A. A. e P. B. ZALODIYA. Formulation and evaluation of carvedilol melt-in-mouth tablet using mucoadhesive polymer and PEG-6-stearate as hydrophilic waxy binder. **International Journal of Pharmaceutical Investigation**. India, v.2, n.4, p.183-188. 2012.

DAVAA, E. e J. S. PARK. Formulation parameters influencing the physicochemical characteristics of rosiglitazone-loaded cationic lipid emulsion. **Archives of Pharmacal Research**. Korea (South), v.35, n.7, p.1205-1213. 2012.

DE ALMEIDA PDEL, V., A. M. GREGIO, *et al.* Saliva composition and functions: a comprehensive review. **The Journal of Contemporary Dental Practice**. India, v.9, n.3, p.72-80. 2008.

DE VRIES, M. E., H. E. BODDE, *et al.* Hydrogels for buccal drug delivery: properties relevant for muco-adhesion. **Journal of Biomedical Materials Research**. United States, v.22, n.11, p.1023-1032. 1988.

DIKICIER, E. E M. SEN. Effects of Conformation and Molecular Weight on The Surface Energy and Mucoadhesion Properties of Calcium Alginate Gels. Hacettepe **Journal of Biology and Chemistry**. England, v.34, n.4, p.371-378. 2011.

DODD, MJ., MIASKOWSKI, C., GREENSPAN, D., MACPHAIL, L., SHIH, AS., SHIBA, G., Radiation-induced mucositis: A randomized clinical trial of micronized sucralfate versus salt and soda mouthwashes. **Cancer Investigation**. England, v.21, p. 21-33. 2005

EDGAR, W. M. Saliva: its secretion, composition and functions. **British Dental Journal**. England, v.172, n.8, Apr 25, p.305-12. 1992.

ELIASSON, L. E A. CARLEN. An update on minor salivary gland secretions. **European Journal of Oral Sciences**. England, v.118, n.5, 2010, p.435-442.

ELTING, LS., COOKSLEY, C., CHAMBERS, MS., CANTOR, SB., MANZULLO, E., RUBENSTEIN, EB. The burdens of cancer therapy. Clinical and economics outcomes of chemotherapy-induced mucositis. **Cancer**. England, v.98, p.1531-1539. 2003

ELTING, LS., COOKSLEY, C., CHAMBERS, MS, GARDEN, AS. Risk, outcomes, and costs of radiation-induced oral mucositis among patients with head-and-neck malignancies. **International Journal of Radiation, Oncology, Biology and Physics**. United States, v.68, p.1110-1120. 2007.

ELTING, L.S.; KEEFE, D.M.; SONIS, S.T.; GARDEN, A.S.; SPIJKERVET, F.K.; BARASH, A.; TISHLER, R.B.; CANTY, T.P.; KUDRIMOTI, M.K.; VERALONCH, M. Burden of illness Head and Neck writiing commitee. Patientreported measuremenst of oral mucositis in heade and neck cancer patients treated with radiotherapy with or

without chemotherapy demonstration of increased frequency, severity, resistance to palliation, and impact on quality of life. **Cancer**. England, v. 113, n. 10, p. 2704-2713, 2008.

EPSTEIN, J.B.; SCHUBERT, M.M. Oropharyngeal mucositis in cancer therapy. **Review of Pathogenesis, Diagnosis and Management Oncology**. v. 17, p. 1779-1792, 2003.

FEFELOVA, N. A., Z. S. NURKEEVA, *et al*. Mucoadhesive interactions of amphiphilic cationic copolymers based on [2(methacryloyloxy)ethyl]trimethylammonium chloride. **International Journal of Pharmaceutics**. Netherlands, v.339, n.1-2, p.25-32. 2007.

FIGUEIRAS, A., A. A. PAIS, *et al*. A comprehensive development strategy in buccal drug delivery. **AAPS PharmSciTech**. United States, v.11, n.4, p.1703-1712. 2008

FRANZÉN, N., E. BJÖRK, *et al*. Changes in the mucoadhesion of powder formulations after drug application investigated with a simplified method. **Journal of Pharmaceutical Science**. Netherlands, v.97, p.3855-3864. 2008.

GAMBIRAZI, L. M. **Laser de baixa potencia na prevenção de mucosite em pacientes submetidos à quimioterapia com fluorouracil e ácido folínico**. USP, 2007. d65. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em odontologia. Área de concentração: diagnóstico oral. Faculdade de Odontologia de São Paulo, Universidade de São Paulo, 2007.

GARG H, and HALES C, Chemistry and Biology of Hyaluronan (ed), **Elsevier**. 2004.

GIBALDI, M. e D. PERRIER. Route of administration and drug disposition. **Drug Metabolism Reviews**. Germany, v.3, n.2, p.185-99. 1974.

GIBSON R.J., BOWEN, J.M., CUMMINS, A.G., LOGAN, R., HEALEY, T. KEEF, D.M. Ultrastructural change occur early within the oral mucosa following cancer chemotherapy (abstract A-373) **Support Care cancer**. Germany, v.12, p.389. 2004.

GREENBLATT, D. J. Presystemic extraction: mechanisms and consequences. **Journal of Clinical Pharmacology**. New Zealand, v.33, n.7, p.650-6. 1993.

GOMES, D. Q. de C. *et al*. Mucosite oral radioinduzida: etiologia, características clínico-histopatológicas, complicações e tratamento. **Odontologia. Clín-Científ**. Brazil, v.8, n.3, p.203-207, jul/set, 2009.

GUO, J. H. Investigating the surface properties and bioadhesion of buccal patches. **Journal of Pharmacy Pharmacology**. Canada, v.46, n.8, p.647-50. 1994.

GUO, J. H. e K. M. COOKLOCK. The effects of backing materials and multilayered systems on the characteristics of bioadhesive buccal patches. **Journal of Pharmacy Pharmacology**. Canada, v.48, n.3, p.255-7. 1996.

HAGERSTROM, H., M. PAULSSON, *et al*. Evaluation of mucoadhesion for two polyelectrolyte gels in simulated physiological conditions using a rheological method.

**European Journal Pharmaceutical Science.** Netherlands, v.9, n.3, p.301-309. 2000.

HARRIS, D. E J. R. ROBINSON. Drug delivery via the mucous membranes of the oral cavity. **Journal of Phamaceutical Science.** India, v.81, n.1, p.1-10. 1992.

HEEMSTRA, L. B., B. C. FINNIN, *et al.* The buccal mucosa as an alternative route for the systemic delivery of risperidone. **Journal of Phamaceutical Science.** India, v.99, n.11, p.4589-4592. 2010.

HUANG, FS., KEMP, CJ., WILLIAMS, JL., ERWIN, CR., WARNER, BW. Role of epidermal growth factor and its receptor in chemotherapy-induced intestinal injury. **American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology.** United States, v.282, p. G432-442. 2002.

INGRACI, M.B. L. et al. Protocolo de abordagem terapêutica para mucositeradioinduzida. *Rev. Bras. Patol. Oral.*; Brazil, v.3, n.4, p.208-210, 2004.

JOHANSSON, M. E. V. Fast Renewal of the Distal Colonic Mucus Layers by the Surface Goblet Cells as Measured by In Vivo Labeling of Mucin Glycoproteins. **PloS One:** Denning, P.W. 7: 1-9 p. 2012.

JUNE, E.; MILLION, R. Prevention and Management of oral mucositis in patients with cancer. **Seminars in Oncology Nursing.** United States v. 23, n. 3, p. 201-212, 2007.

KANTO, J. e U. KLOTZ. Pharmacokinetic implications for the clinical use of atropine, scopolamine and glycopyrrolate. **Acta Anaesthesiology.** Scandinavia, v.32, n.2, Feb, p.69-78. 1988.

KEEFE, DM., SCHUBERT, MM., ELTING, LS. Update clinical practice guidelines for the prevention and treatment of mucositis. **Cancer.** England, v.109, p.820-831. 2007

KERSS, S., A. ALLEN, *et al.* A simple method for measuring thickness of the mucus gel layer adherent to rat, frog and human gastric mucosa: influence of feeding, prostaglandin, N-acetylcysteine and other agents. **Clinical Science.** United States v.63, n.2, Aug, p.187-95. 1982.

KOSTLER, W. J. et al. Oral mucositis complicating chemotherapy and/or radiotherapy: options for prevention and treatment. **CA Cancer J. Clin.** Japan, v.51, n.5, p.290-315, 2001.

LALLA RV, SONIS ST, PETERSON DE. Management of oral mucositis in patients who have cancer. **Dent Clin North Am.** v.52, p.61-77. 2008.

LEE, J. W., J. H. PARK, *et al.* Bioadhesive-based dosage forms: the next generation. **Journal of Phamaceutical Science.** India, v.89, n.7, p.850-866. 2000.

LEHR, C. M., H. E. BODDE, *et al.* A Surface-Energy Analysis of Mucoadhesion .2. Prediction of Mucoadhesive Performance by Spreading Coefficients. **European Journal of Pharmaceutical Science.** England, v.1, n.1, p.19-30. 1993.

LIPKIN, M. Proliferation and differentiation of gastrointestinal cells in normal and disease state, in *Physiology of the gastrointestinal tract*. **Raven Press**. New York, v.1. 1981

LLABOT, J. M., S. D. PALMA, *et al.* Design of novel antifungal mucoadhesive films Part I. Pre-formulation studies. **Int J Pharm**. Netherlands, v.330, n.1-2, Feb 7, p.54-60. 2007.

LOGAN RM, GIBSON, RJ., SONIS ST., KEEFE, DM., Nuclear factor-kappa B (nf-kappaB) and cyclooxygenase-2 (COX-2) expression in the oral mucosa following cancer chemotherapy. **Oral oncology**. England, v.43, p.395-401. 2007.

LU, M.-Y. F. e T. L. REILAND. Compositions and method for the sublingual or buccal administration therapeutic agents. **U. Patent**. United States, 5,487,898 1996.

MAINARDES, R. M., M. C. Urban, *et al.* Colloidal carriers for ophthalmic drug delivery. **Current Drug Targets**. Netherlands, v.6, n.3, p.363-371. 2005

MATTHEWS RH., ERCAL, N. Prevention of mucositis in irradiated head and neck cancer patients. **Journal Experimental Therapeutic Oncology**. United States, v.1, p.135-138. 1996.

MAURÍCIO, A. R. **Utilização do laser de baixa intensidade, infravermelho, na prevenção e tratamento da mucosite oral em pacientes pediátricos com leucemia linfoblástica aguda**. São Paulo: USP, 2007. 58p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Odontologia, Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, 2007.

MEDEIROS, E.B.; CARVALHO, D.S.S.; *et al.* Manifestações bucais em crianças submetidas a tratamento antineoplásico no centro oncológico do hospital universitário Oswaldo Cruz. **JBP – J Brás Odontopediatr Odontol Bebê**. Brazil, v. 5, n. 28, p. 476-483, 2002.

MCGUIRE DB, JOHNSON J, MIGLIORATI C. Promulgation of guidelines for mucositis management: educating health care professionals and patients. **Support Care Cancer**. Germany, 2006 Jun; 14(6): 541-57.

MC INNES, F., N. CLEAR, *et al.* Evaluation of the clearance of a sublingual buprenorphine spray in the beagle dog using gamma scintigraphy. **Pharmaceutical Research**. India, v.25, n.4, p.869-874. 2008.

MOSSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**. Netherlands, v.65, n.1-2, p.55-63. 1983.

NAPPINNAI M., CHANDANBALA R., *et al.* Formulation and Evaluation of Nitrendipine Buccal Films, **Indian J Pharm Sci**. India, v.70, n.5, p.631-635. 2008.

NICOLAU-GALITIS, O. et al. Herpes simplex vírus-1 (HSV-1) infection in radiation-induced oral mucositis. **Support Care Cancer**. Germany, v.14, n.7, p.753-762, 2006.

NICOLAZZO, J. A., B. L. REED, *et al.* Enhancing the buccal mucosal uptake and retention of triamcinolone acetonide. **Journal of Controlled Release**. Netherlands, v.105, n.3, 20, p.240-8. 2005.

PARULEKAR, W. Scoring oral mucositis. **Oral Oncol**. England, v.34, n.1, p.63-71, 1998

PATHER, S. I., M. J. RATHBONE, *et al.* Current status and the future of buccal drug delivery systems. **Expert Opinion Drug Delivery**. England, v.5, p.531-542. 2008.

PEH, K. K. e C. F. WONG. Polymeric Films as Vehicle for Buccal Delivery: Swelling, Mechanical, and Bioadhesive Properties. **J Pharm Pharmaceut Sci**. India, v.2, n.2, p.53-61. 1999.

PETERSON, D.E. Research advances in oral mucositis. **Curr Opin Oncol**. United States, v.11, p. 261-266, 1999.

PETERSON DE, JONES JB, PETIT. Randomized, placebo-controlled trial of Saforis for prevention and treatment of oral mucositis in breast cancer. **Memorandum RM-Rand Corporation**. United States, 2nd

PETERSON, D.E.; KEEFE, D.M.; HUTCHINS, R.D. Alimentary tract mucositis in cancer patients: impact of terminology and assessment on research and clinical practice. **Support Care Cancer**. Germany, v. 14, p. 499-504, 2006.

PINHO AP, MISORELLI JC, MONTELLI R, LONGATO SE. Mucosite no paciente em tratamento de câncer. **Science in Health**. Brazil, 1(3): 145-60. set-dez 2010.

PLISZCZAK, D., C. BORDES, *et al.* Mucoadhesion evaluation of polysaccharide gels for vaginal application by using rheological and indentation measurements. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. Netherlands, v.92, p.168-174. 2012.

RAMOS, F.M.M. *et al.* O papel do cirurgião-dentista na radioterapia de cabeça e pescoço. **Odontologia. Clín.-Científ**. Brazil, 4920: 89-94, Mai/ago. 2005.

RAMPINI, M.P. et al. Utilização da terapia com laser de baixa potência para prevenção de mucosite oral: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Cancerologia**. Brazil, 55(1): 59-68, 2009.

ROSEN LS, ABDI E, DAVIS ID, GUTHEIL J, SCHNELL FM, ZALCBERG J, CESANO A, GAYKO U, CHEN MG, CLARKE S. Palifermin reduces the incidence of oral mucositis in patients with metastatic colorectal cancer treated with fluorouracil-based chemotherapy. **Journal of Clinical Oncology**. England, v.24, p. 5194-5200. 2006

ROSENTHAL, David. I.; TROTTI, Andrea. Strategies for managing radiation-induced mucositis in head and neck cancer. **Semin Radiat Oncol**. United States, 19:29-34, 2009.

SAHNI J., Raj S., *et al.* Design and In Vitro Characterization of Buccoadhesive Drug Delivery System of Insulin. **Indian J Pharm Sci.** India, v.70, n.1, p.61-65. 2008.

SAKATA, O. e H. ONISHI. In vivo absorption study of ritodrine hydrochloride in the buccal administration to rats. **Drug Development and Industrial Pharmacy.** England, 2010.

SALAMAT-MILLER, N., M. CHITTCHANG, *et al.* The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews.** Netherlands, v.57, n.11, p.1666-1691. 2005.

SAROSIEK, J., J. BILSKI, *et al.* Role of salivary epidermal growth factor in the maintenance of physicochemical characteristics of oral and gastric mucosal mucus coat. **Biochemical and Biophysical Research Communications.** United States, v.152, n.3, p.1421-7. 1988.

SATHEESH KUMAR PS., BALAN, A., SANKAR, A., BOSE, T. Radiation induced oral mucositis. **Indian Journal of Palliative Care.** India, v.15, p.95-102, 2009.

SCULLY, C.; SONIS, S.; DIZ, P. D. Oral mucositis. **Oral Dis.** Denmark, v.12, n.3, p.229-241, 2006.

SHIN, S. C., J. P. BUM, *et al.* Enhanced bioavailability by buccal administration of triamcinolone acetonide from the bioadhesive gels in rabbits. **International Journal of Pharmaceutics.** India, v.209, n.1-2, Nov 19, p.37-43. 2000.

SHINKAR, D. M., A. S. DHAKE, *et al.* Drug delivery from the oral cavity: a focus on mucoadhesive buccal drug delivery systems. **PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology.** United States, v.66, n.5, p.466-500. 2004.

SHOJAEI, A. H. Buccal mucosa as a route for systemic drug delivery: a review. **Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science.** France; Paris, v.1, n.1, Jan-Apr, p.15-30. 1998.

SILVA, M.C. *et al.* Protocolo clínico e estratégias adotadas no Projeto Vida (câncer bucal) da Universidade Estadual de Maringá. **Rev. Brás. Odontol.** Brazil; Rio de Janeiro, v.65, n.1, p.135-141. 2008

SLOMIANY, B. L., V. L. MURTY, *et al.* Role of associated and covalently bound lipids in salivary mucin hydrophobicity: effect of proteolysis and disulfide bridge reduction. **Biochemical and Biophysical Research Communications.** United States, v.151, n.3, Mar 30, p.1046-53. 1988.

SONIS ST, ELTING LS, KEEFE D, *et al.* Perspectives on cancer therapy-induced mucosal injury: pathogenesis, measurement, epidemiology, and consequences for patients. **Cancer.** England, 2004; 100( 9 suppl): 1995-2025.

SONIS ST,PETERSON DE,MCGUIRE DB,WILLIAMS DA, eds. Mucosal injury in cancer patients:new strategies for research and treatment. **J Natl Cancer Inst Monogr**. United States, 2001;(29): 1-54.

SONIS S,ELTING L,KEEFE D. Burden of illness and economic impact of mucosal injury (MUI) in solid tumour - a multinational prospective observational study design. MASCC abstract. **Support Care Cancer**. Germany, 2006; 14: 633. Abstract 16-101.

SPIELBERGER R,STIFF P,BENSINGER W, *et al*.Palifermin for oral mucositis after intensivetherapy for hematologic cancers. **N Engl J Med**. England, 2004 Dec; 351(25): 2590-8.

STOKMAN MA, SPIJKERVET FKL, BURLAGE FR, DIJKSTRA PU, MANSON WL, DE VRIES EGE, ROODENBURG, JLN. Oral mucositis and selective elimination of oral flora in head and neck cancer patients receiving radiotherapy: a double-blind randomised clinical trial. **British Journal of Cancer**. England, v.88, p.1012 – 1016. 2006

STRÖM, G., M. FREDRIKSSON, *et al*.Contact angles, work of adhesion, and interfacial tensions at a dissolving hydrocarbon surface. **Journal of Colloid and Interface Science**. United States, v.119, n.2, p.352-261. 1987.

SUDHAKAR, Y., K. KUOTSU, *et al*.Buccal bioadhesive drug delivery--a promising option for orally less efficient drugs. **J Control Release**. Netherlands, v.114, n.1, Aug 10, p.15-40. 2006.

TACHAPRUTINUN, A., P. PAN-IN, *et al*. Mucosa-plate for direct evaluation of mucoadhesion of drug carriers. **International Journal of Phamaceutics**. India, v.441, n.1-2, p.801-808. 2013.

TEUBL, B. J., M. ABSENGER, *et al*.The oral cavity as a biological barrier system: Design of an advanced buccal in vitro permeability model. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. Netherlands, 2013.

THU, H. E., M. H. ZULFAKAR, *et al*.Alginate based bilayer hydrocolloid films as potential slow-release modern wound dressing. **Int J Pharm**, India, v.434, n.1-2, p.375-383. 2012.

VAN OSS, C. Hydrophobicity of biosurfaces-origin, quantitative determination and interaction energies. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. Netherlands, v.5, n.3-4, p.91-110. 1995.

VAN OSS, C., R. GOOD, *et al*.The role of van derWaals forces and hydrogen bonds. **Journal of Colloid and Interface Science**. United States, v.111, n.2, p.378-390. 1986.

VERA-LLONCH, M., OSTER, G., FORD, CM., LU, J., SONIS,S. Oral mucositis and outcome of allogenic hematopoietic stem-cell transplantation in patients with hematologic malignancies. **Support Care Cancer**. Germany, v.15, p.491-496. 2007.

VERDUGO, P. Mucin exocytosis. **The American Review of Respiratory Disease**. United States, v.144, n.3 Pt 2, p.S33-7. 1991.

VERDUGO, P., M. AITKEN, *et al.* Molecular mechanism of product storage and release in mucin secretion. II. The role of extracellular Ca<sup>++</sup>. **Biorheology**. Netherlands, v.24, n.6, p.625-633. 1987.

VERDUGO, P., I. DEYRUP-OLSEN, *et al.* Molecular mechanism of mucin secretion: I. The role of intragranular charge shielding. **Journal of Dental Research**. Iran, v.66, n.2, p.506-508. 1987.

VONBÜLTZINGSLÖWEN I, BRENNAN MT, SPIJKERVET FK, LOGAN R, STRINGER A, RABER-DURLACHER JE, KEEFE D. Growth factors and cytokines in the prevention and treatment of oral and gastrointestinal mucositis. **Support Care Cancer**. Germany, v.14, p.519-27. 2006.

XAVIER, G.S. **Levantamento dos medicamentos prescritos pelo setor de Odontologia para prevenção de mucosite em pacientes portadores de neoplasias de cabeça e pescoço em tratamento radioterápico durante o ano de 2006**. Monografia apresentada à FUNDAP para conclusão do curso de aprimoramento em Odontologia para pacientes com necessidades especiais. Brazil, 2006.

WU, A. M., G. CSAKO, *et al.* Structure, biosynthesis, and function of salivary mucins. **Molecular and Cellular Biochemistry**. Netherlands, v.137, n.1, Aug 17, p.39-55. 1994.

YANG, X. e J. R. ROBINSON. **Bioadhesion in Mucosal Drug Delivery**. London: **Academic Press Limited**, v.1. 1998. 257 p. (Biorelated Polymers and Gels Controlled release and Applications in Biomedical Engineering).

## ANEXO A - Aprovação do Projeto de Pesquisa e Emendas