

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CAMPUS FLORIANÓPOLIS  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
CURSO BACHARELADO EM FARMÁCIA

Luanna Gabriela Völz

**Hidrogéis mucoadesivos de Nistatina para tratamento da mucosite oral**

Florianópolis

2022

Luanna Gabriela Völz

## **Hidrogéis mucoadesivos de Nistatina para tratamento da mucosite oral**

Trabalho Conclusão do Curso de Graduação em Farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Farmácia.  
Orientador: Prof. Marcos Antônio Segatto Silva, Dr.  
Coorientador: Prof. Márcia Azevedo Bastian Manfredi, Me.

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Völz, Luanna Gabriela  
Hidrogéis mucoadesivos de Nistatina para tratamento da  
mucosite oral / Luanna Gabriela Völz ; orientador, Marcos  
Antônio Segatto Silva, coorientador, Márcia Azevedo Bastian  
Manfredi, 2022.  
61 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -  
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências  
da Saúde, Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Polímeros Mucoadesivos. 3. Hidrogeis. 4.  
Mucosite oral. 5. Nistatina. I. Silva, Marcos Antônio  
Segatto. II. Manfredi, Márcia Azevedo Bastian. III.  
Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em  
Farmácia. IV. Título.

Luanna Gabriela Völz

**Hidrogéis mucoadesivos de Nistatina para tratamento da mucosite oral**

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “Bacharel” e aprovado em sua forma final pelo Curso Bacharelado em Farmácia

Florianópolis, 27 de julho de 2022.

---

Prof. Liliete Canes de Souza, Dr. (a)  
Coordenador do Curso

**Banca Examinadora:**

---

Prof.(a) Marcos Antônio Segatto Silva, Dr.(a)  
Orientador(a)  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof.(a) Giovana Carolina Bazzo, Dr.(a)  
Avaliador(a)  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof.(a) Andrey Marcos Pinho da Silva, Me.  
Avaliador(a)  
Universidade Federal do Amazonas

Este trabalho é dedicado aos meus pais e amigos.

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço aos meus pais Helena e Wendolino por sempre me apoiarem em todos os meus sonhos, mesmo quando contrariavam os deles.

Ao meu irmão Jackson e meu sobrinho Juliann por todas as conversas sem sentido, latidos, séries, rolês, músicas e segredos compartilhados. Obrigada por serem meus melhores amigos e me darem a certeza que estarão ao meu lado para sempre, mesmo que de um jeito esquisito às vezes.

Às minhas amigas maravicherys Alana, Beatriz, Giordana, Karina e Letícia por serem minha segunda família, por me acolherem e transformarem a minha vida em algo extraordinário. Obrigada por terem me ensinado mais um pouquinho sobre amor.

À minha amiga quase irmã Julia por ser para mim o que eu mais precisava. Pelos bares, vinhos, conversas, rolês, pizzas de rap10, conselhos e por ser uma mulher e cientista incrível na qual eu me inspiro muito, sempre me aconselhando e puxando minha orelha quando necessário.

À todo o pessoal do Laboratório de Controle de Qualidade e do grupo de estudos do INOVATECMAT, em especial ao professor Segatto e à Márcia, que sempre foram muito prestativos e pacientes. A empolgação de vocês com a área da pesquisa sempre foi muito inspiradora e me encheu de vontade de continuar em frente.

Aos meus hamsters Petúnio, Marvin, Cookie e Amora Cecília que me acompanharam durante toda a graduação, me fazendo companhia e me rendendo muitas risadas e mordidas de amor. Obrigada por me darem a certeza de que qualquer barulho que eu ouvisse a noite era apenas vocês correndo na rodinha e fazendo bagunça e não um monstro invadindo minha casa.

À minha cachorra Lola por simplesmente existir e me fazer sentir que vou explodir de tanto amor.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

## RESUMO

A mucosite oral é um dos principais efeitos colaterais causados pelo tratamento antineoplásico, principalmente em casos de câncer de cabeça e pescoço. O manejo da mucosite oral é de suma importância uma vez que a prevenção da sua ocorrência ou aceleração da resolução permite doses terapêuticas de antineoplásico mais agressivas para o tumor, aumentando a taxa de sobrevida. Dados da literatura já estabeleceram relação positiva entre a mucosite oral e a colonização por *Candida albicans* e um dos principais fármacos utilizados para o tratamento deste fungo é a Nistatina. Atualmente, no mercado brasileiro temos disponível para uso oral somente a Nistatina na forma de suspensão oral, utilizada em bochechos, o qual o fármaco tem uma ação limitada com pouco tempo de contato entre a suspensão e o local afetado, sendo de grande dificuldade de uso pelo paciente devido à dor causada pelo quadro de mucosite oral. Diante disso, se faz necessário o desenvolvimento de uma forma farmacêutica contendo Nistatina para tratamento da mucosite oral que aumente o tempo de ação do fármaco no local afetado, aumentando a eficácia e adesão ao tratamento. Para isso, os polímeros HPMC e Carbopol foram utilizados para formulação de um hidrogel que permaneça aderido à mucosa oral. Foram obtidas um total de 20 formulações (10 hidrogéis base e 10 hidrogéis com Nistatina incorporada) de diferentes concentrações de HPMC e Carbopol, variando o veículo utilizado entre água e solução tampão fosfato. O pH dos hidrogéis variou entre 5,43 e 7,0 no decorrer de 40 dias de armazenamento em geladeira, não influenciando a ionização da Nistatina e também permanecendo dentro da faixa de pH ótima para aplicações na cavidade oral. O teste da espalhabilidade demonstrou que os hidrogéis feitos desenvolvidos com Carbopol obtiveram a maior espalhabilidade, seguido dos hidrogéis de HPMC e por fim os hidrogéis de mistura de Carbopol e HPMC. A utilização do tampão fosfato como veículo favoreceu o aumento da espalhabilidade dos hidrogéis quando comparado com as formulações que levaram água como veículo. A determinação da viscosidade apontou os hidrogéis de HPMC + Carbopol como os mais viscosos, seguido dos hidrogéis de Carbopol e por fim os de HPMC. A incorporação da Nistatina tende a aumentar a viscosidade dessas formulações. Foi possível caracterizar reologicamente apenas os hidrogéis 5, 5N, 6 e 6N, que se enquadram como Fluido Não Newtoniano do tipo pseudoplástico. O teste de bioadesão *in vitro* com utilização de discos de mucina permitiu avaliar a mucoadesão dos hidrogéis, demonstrando uma força de bioadesão extremamente superior para os hidrogéis de HPMC, seguido dos hidrogéis de Carbopol e Carbopol + HPMC com forças de bioadesão menores. O método elaborado para quantificação da Nistatina por UV-Vis mostrou-se como linear e seletivo. Os resultados de quantificação indicam que o fármaco permanece nas formulações sem grandes alterações. Análises posteriores são necessárias, porém os resultados encontrados neste estudo indicam potenciais novas formas farmacêuticas mucoadesivas de Nistatina para tratamento da mucosite oral induzida pela terapia do câncer.

**Palavras chave:** mucosite oral, Nistatina, polímero, hidrogéis, mucoadesão.

## ABSTRACT

Oral mucositis is one of the main side effects against cancer, especially in head and neck cases. The management of oral mucositis is very important since the prevention of its occurrence or resolution allows more effective doses to the tumor, increasing the survival rate. Literature data have already established a positive relationship between oral mucositis and colonization by *Candida albicans* and one of the main drugs used for the treatment of this fungus is Nystatin. Currently, for oral use, on the market we have available Only Nystatin in the form of an oral suspension, used in mouthwash, which can be very difficult to use by the patient because of pain due to oral mucositis. Therefore, it's necessary to develop a pharmaceutical form for the treatment of oral mucositis that increases the time of action of the drug at the site, increasing the effectiveness and adherence to treatment. For this, HPMC and Carbopol polymers were used to formulate a hydrogel that remains adhered to the oral mucosa. A total of 20 formulations were obtained (10 base hydrogels and 10 hydrogels with incorporated Nystatin) with different concentrations of HPMC and Carbopol, varying the vehicle used between water and phosphate buffer solution. The pH of the hydrogels varied between 5.43 and 7.0 during 40 days of storage in a refrigerator, not influencing the ionization of Nystatin and also remaining within the optimal pH range for applications in the oral cavity. The spreadability test showed that the hydrogels made with Carbopol had the highest spreadability, followed by the HPMC hydrogels and finally the Carbopol and HPMC mixture hydrogels. The use of phosphate buffer as a vehicle caused an increase in the spreadability of hydrogels when compared to formulations that took water as a vehicle. The viscosity determination indicated the HPMC + Carbopol hydrogels as the most viscous, followed by the Carbopol hydrogels and finally the HPMC ones. The incorporation of Nystatin tends to increase the viscosity of these formulations. It was possible to rheologically characterize only the 5, 5N, 6 and 6N hydrogels, which are classified as Non-Newtonian Fluid of the pseudoplastic type. The in vitro bioadhesion test using mucin discs allowed the evaluation of the mucoadhesion of the hydrogels, demonstrating an extremely superior bioadhesion strength for the HPMC hydrogels, followed by the Carbopol and Carbopol + HPMC hydrogels with lower bioadhesion forces. The method developed to quantify Nystatin by UV-Vis proved to be linear and selective for Nystatin. The quantification results indicate that the drug remains in the formulation without major changes. Further analyzes are suggested, however such results found in this study indicate potential new mucoadhesive pharmaceutical forms of nystatin for the treatment of oral mucositis.

**Keywords:** oral mucositis, nystatin, polymer, hydrogels, mucoadhesion.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química da Nistatina.....	16
Figura 2 - Representação esquemática do método utilizado para medição da mucoadesão empregando texturômetro.....	27
Figura 3 - Estrutura molecular das subunidades de Carbopol.....	28
Figura 4 - Mecanismo de formação do gel de Carbopol.....	29
Figura 5 - Estrutura molecular das subunidades do HPMC.....	30
Figura 6 - Hidrogéis base (1 a 10) e hidrogéis de Nistatina (1N a 10N).....	32
Figura 7 - Representação gráfica da variação de pH das formulações com Nistatina (A) e sem Nistatina (B) em 40 dias de armazenamento a temperatura de 2 a 8°C.....	34
Figura 8 - Resultados da Determinação da Espalhabilidade. (A) Formulações de hidrogel de polímeros mucoadesivos base.....	36
Figura 9 - Resultados da Determinação da Espalhabilidade para formulações de hidrogel de polímeros mucoadesivos contendo Nistatina.....	37
Figura 10 - Representação gráfica da viscosidade aparente (cP) em função do gradiente de velocidade (RPM) para os hidrogéis base. Spindle utilizado: LV4.....	40
Figura 11 - Representação gráfica da viscosidade aparente (cP) em função do gradiente de velocidade (RPM) para os hidrogéis com Nistatina. Spindle utilizado: LV4.....	40
Figura 12 - Comportamento reológico das formulações 5, 5N, 6 e 6N. Spindle: SSC-34.....	42
Figura 13 - Espectro no infravermelho para a matéria prima (Nistatina) utilizada.....	43
Figura 14 – Espectro de IV obtido de amostra da formulação 1N (linha azul), contendo o polímero Carbopol (linha verde) e o fármaco Nistatina (linha rosa).....	45
Figura 15 – Espectro de IV obtido de amostra da formulação 5N (linha azul), contendo o polímero HPMC (linha amarela) e o fármaco Nistatina (linha rosa).....	45
Figura 16 - Espectro de IV obtido de amostra da formulação 9N (linha azul), contendo o polímero Carbopol (linha verde), o polímero HPMC (linha amarela) e o fármaco Nistatina (linha rosa).....	46
Figura 17 - Força de bioadesão in vitro (N) quando aplicado uma força de 0,1N sob o sistema.....	47
Figura 18 - Representação gráfica da força de mucoadesão do sistema (N) em função da força aplicada sob o sistema (N).....	50

Figura 19 - Avaliação da linearidade do método proposto para quantificação da Nistatina por UV. ....	51
Figura 20 - Representação gráfica da análise de seletividade para o método de quantificação da Nistatina por UV.....	52

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição dos hidrogéis, com e sem Nistatina (N). PP - propilparabeno; MP - metilparabeno; PG – propilenoglicol.....	21
Tabela 2 - Valores de pH dos hidrogéis e variações de pH em comparação ao Dia 1. ....	33
Tabela 3 - Principais bandas de frequências de absorção das vibrações de ligação da Nistatina e da Nistatina utilizada como matéria prima para as formulações. ....	44
Tabela 4 - Absorvância dos demais componentes dos hidrogéis em comprimento de onda de 279 nm (característico da Nistatina). ....	53
Tabela 5 - Quantificação da Nistatina por método UV-Vis. ....	54

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
1.1	OBJETIVOS .....	18
<b>1.1.1</b>	<b>Objetivo Geral.....</b>	<b>18</b>
<b>1.1.2</b>	<b>Objetivos Específicos .....</b>	<b>18</b>
<b>2</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>20</b>
2.1	<i>SCREENING</i> DE POLÍMEROS .....	20
2.2	PREPARAÇÃO DOS HIDROGÉIS MUCOADESIVOS .....	20
<b>2.2.1</b>	<b>Carbopol em água.....</b>	<b>22</b>
<b>2.2.2</b>	<b>Carbopol em tampão fosfato .....</b>	<b>22</b>
<b>2.2.3</b>	<b>HPMC em água.....</b>	<b>22</b>
<b>2.2.4</b>	<b>HPMC em tampão fosfato.....</b>	<b>23</b>
2.3	AVALIAÇÃO DOS HIDROGÉIS .....	24
<b>2.3.1</b>	<b>Caracterização sensorial .....</b>	<b>24</b>
<b>2.3.2</b>	<b>Determinação do pH.....</b>	<b>24</b>
<b>2.3.3</b>	<b>Determinação da espalhabilidade .....</b>	<b>24</b>
<b>2.3.4</b>	<b>Determinação da viscosidade.....</b>	<b>25</b>
<b>2.3.5</b>	<b>Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR)....</b>	<b>25</b>
<b>2.3.6</b>	<b>Teste de bioadesão <i>in vitro</i> .....</b>	<b>26</b>
<b>2.3.7</b>	<b>Validação do método de Quantificação da Nistatina por UV.....</b>	<b>27</b>
2.3.7.1	<i>Linearidade</i> .....	27
2.3.7.2	<i>Seletividade</i> .....	27
<b>2.3.8</b>	<b>Quantificação da Nistatina por UV.....</b>	<b>28</b>
<b>3</b>	<b>DESENVOLVIMENTO.....</b>	<b>28</b>
3.1	<i>SCREENING</i> DE POLÍMEROS .....	28
<b>3.1.1</b>	<b>Carbopol® .....</b>	<b>28</b>
<b>3.1.2</b>	<b>HPMC (Hidroxipropil metilcelulose).....</b>	<b>30</b>

3.2	AVALIAÇÃO DOS HIDROGÉIS .....	31
3.2.1	Caracterização sensorial .....	31
3.2.2	Determinação do pH.....	32
3.2.3	Determinação da Espalhabilidade.....	35
3.2.4	Determinação da viscosidade e análise do comportamento reológico .....	39
3.2.5	FT-IR .....	43
3.2.6	Teste de Bioadesão <i>in vitro</i> .....	46
3.2.7	Validação do Método de Quantificação da Nistatina por UV .....	50
3.2.7.1	<i>Linearidade</i> .....	50
3.2.7.2	<i>Seletividade</i> .....	51
3.2.8	Quantificação da Nistatina por UV-Visível.....	53
4	CONCLUSÃO.....	55
	REFERÊNCIAS.....	57



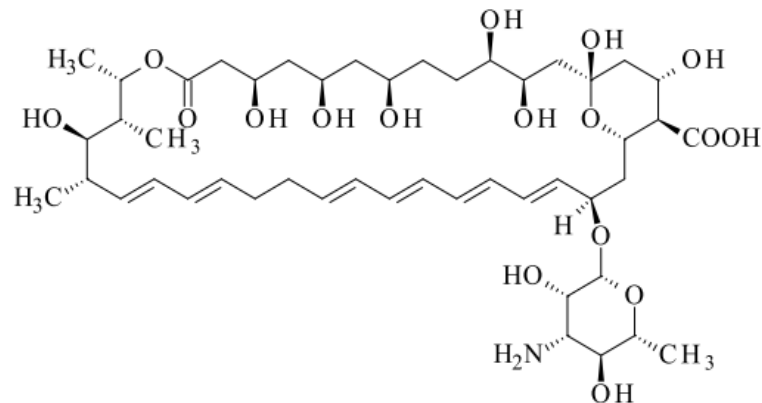
## 1 INTRODUÇÃO

A mucosite oral refere-se ao processo inflamatório que envolve as membranas da mucosa da cavidade oral e do trato gastrointestinal, sendo um dos efeitos colaterais mais significativos em pacientes oncológicos tratados com quimioterapia ou radioterapia (EILERS e MILLION, 2011). Dentre as manifestações clínicas, temos lesões erosivas e/ou ulcerativas, que podem causar eritema, edema e hemorragia (CURRA et al., 2018). Queixas comuns de pacientes com mucosite oral incluem desde desconfortos leves até dor intensa, alteração do paladar, dificuldade para falar ou engolir, boca seca, sangramentos, além da presença de feridas na boca (EILERS e MILLION, 2011). Para mais, o quadro tende a prolongar o tempo de internação hospitalar, influenciar o estado nutricional do paciente, aumentar o risco de infecções e aumentar a prescrição de medicamentos de suporte. Sendo assim, o manejo da mucosite é de extrema relevância para pacientes em tratamento oncológico já que a prevenção da sua ocorrência ou aceleração da resolução permitiria doses terapêuticas mais agressivas para o tumor e o aumento da taxa de sobrevida (GHOLIZADEH et al., 2016; EILERS e MILLION, 2011).

Além disso, a mucosite oral pode também servir como porta de entrada para patógenos atingirem a circulação sistêmica (LACERDA et al., 2015). Nesse contexto, dados da literatura já demonstram uma relação significativa entre a mucosite oral e infecções fúngicas com *Candida albicans*, o que dificulta o tratamento e aumenta a sintomatologia dos pacientes (SAKEER et al., 2010; SIMÕES, CASTRO e CAZAL, 2010).

A Nistatina (Figura 1) é um fármaco antifúngico que tem sido utilizada há anos, demonstrando sua eficácia e segurança, assim como poucos efeitos adversos relevantes e boa ação farmacológica (AGUIAR, 2016; DRUGBANK, 2021). Apresenta eficácia notável contra a *Candida albicans*, sendo também um dos fármacos mais empregados para tratar quadros de mucosite oral (SILVA et al, 2016).

Figura 1 - Estrutura química da Nistatina.



Fonte: Farmacopeia Brasileira, 2019

Para a candidíase oral, a forma farmacêutica empregada é a suspensão oral aquosa de Nistatina, na concentração de 100000 UI/mL (AGUIAR, 2016). O tratamento tem duração de 7 a 14 dias, no qual o paciente é orientado a aplicar 5 mL do medicamento, de 3 a 4 vezes ao dia, realizando bochecho por até 5 minutos com posterior deglutição do produto (GILMAN, HARDMAN, LIMBIRD, 2003). No mercado brasileiro, a suspensão oral aquosa é a única forma farmacêutica encontrada para tratamento de candidíase oral e orofaríngea (AGUIAR, 2016). Esta forma farmacêutica é utilizada em bochechos, o qual o fármaco tem uma ação limitada com pouco tempo de contato entre a suspensão e o local afetado (SILVA et al., 2017). Para mais, pacientes com mucosite oral podem apresentar dor intensa, o que torna o ato de fazer bochechos extremamente difícil, diminuindo a adesão ao tratamento (SILVA et al., 2017).

Recobrimo toda a estrutura que compõem a cavidade oral, temos a mucosa oral (BRUCH; TREISTER, 2010). A presença da umidade na mucosa oral se deve à presença de uma camada de muco, que é secretado por células caliciformes sobre o tecido epitelial e serve como uma proteção adicional à superfície da mucosa (COOK; KHUTORYYANAKIY, 2015). O muco é constituído principalmente por mucina, glicoproteína de estrutura integrada por uma região proteica e por cadeias laterais de oligossacarídeos ligadas ao grupo O que são freqüentemente terminadas em ácido siálico, ácido sulfônico ou L-frutose (GANDHI; ROBINSON, 1994; SALAMAT-MILLER; CHITTCHANG; JOHNSTON, 2005). A cobertura dos oligossacarídeos confere carga negativa à mucina, devido à presença dos grupamentos carboxilatos do ácido siálico e dos ésteres sulfatados em algumas unidades de açúcar (PAULA, GUILHERME, AMARAL, 2019). Estudos realizados por Aguiar e colaboradores (2010) sugerem que o aumento do contato entre o fármaco e a mucosa oral leva a um efeito terapêutico mais pronunciado.



Diante de tais fatos, se faz necessário a formulação de uma forma farmacêutica mais adequada para o tratamento de mucosite oral com Nistatina, de forma a aumentar o tempo de ação do fármaco no local afetado, tornando o tratamento mais eficaz e melhorando a qualidade da vida do paciente. Para isso, podem ser empregados sistemas mucoadesivos orais, em que ocorre interação entre o sistema e o muco presente na cavidade oral, conseqüentemente aumentando o tempo de contato entre o fármaco e a superfície mucosa, favorecendo sua absorção e eficiência terapêutica (LAFFLEUR, 2016; RAJARAM; LAXMAN, 2017).

Há diversas teorias que buscam explicar o processo de mucoadesão. Alguns autores assumem que a mucoadesão ocorre em fases sequenciais, envolvendo cada uma dessas teorias: primeiramente, o material mucoadesivo molha e dilata (teorias da molhabilidade e intumescimento), em seguida são criadas ligações físicas entre muco e sistema mucoadesivo (teorias eletrônicas e de adsorção), e por fim, as cadeias de polímero e mucina (principal constituinte do muco) interpenetram-se (teoria da difusão) e entrelaçam-se, formando ligações não covalentes e covalentes adicionais (teorias eletrônicas e de adsorção) (KHUTORYANSKIY, 2011; SMART, 2005).

As formulações farmacêuticas mucoadesivas podem estar na forma sólida, líquida e semissólida. Dentre estas, as formas semissólidas apresentam vantagens como mucoadesivos, pois possuem melhor espalhabilidade sobre a mucosa além de apresentarem retenção extensa na cavidade oral (AGUIAR, 2016). Diante disso, a forma farmacêutica escolhida para o desenvolvimento do sistema mucoadesivo oral foi o hidrogel, um sistema semissólido constituído por dispersões de pequenas partículas inorgânicas ou de grandes moléculas orgânicas interpenetradas por um líquido (ANSEL & POPOVICH, 200). Particularmente, os hidrogéis consistem geralmente em dois componentes principais: o agente gelificante responsável pela formação da rede polimérica e o veículo aquoso (VLAIA et al., 2017).

Dentre os materiais que podem ser utilizados na formulação de hidrogéis mucoadesivos temos os polímeros, que são macromoléculas arrançadas por meio de ligações químicas entre pequenas unidades repetidas (monômeros) (PAULA, GUILHERME, AMARAL, 2019). De acordo com Villanova, Oréfica e Cunha (2010), há 6 características essenciais que favorecem a mucoadesão/bioadesividade de um polímero: 1. elevada massa molar, pois o aumento da força de adesão eleva-se com aumento do peso molecular; 2. capacidade de dispersão em água, que permite seu intumescimento e expansão, levando a formação de uma rede macromolecular com o muco, melhorando a interpenetração e difusão entre o polímero e a mucosa; 3. presença de grande número de grupos carboxila e/ou hidroxila; 4. habilidade de formar ligações de

hidrogênio; 5. flexibilidade da cadeia polimérica, que permite que as cadeias do polímero se difundam pela superfície mucosa; e, 6. presença de superfície negativamente carregada (embora alguns polímeros catiônicos sejam bioadesivos). Além disso, para que ocorra a interpenetração das cadeias poliméricas desenroladas com a rede glicoproteica do muco, é essencial que o polímero utilizado na formulação apresente uma boa capacidade de intumescimento (PEREIRINHA, 2014). Ainda, é importante salientar que para uso farmacêutico, o polímero utilizado deve ser não tóxico e não irritante (AGUIAR, 2016).

Sendo assim, tendo em vista tudo o que foi citado até aqui, fica evidente que os polímeros mucoadesivos podem tornar-se fortes aliados ao desenvolvimento de novas formas farmacêuticas contendo Nistatina, promovendo uma diminuição na frequência de administração do medicamento, maior tempo de liberação do fármaco, maior tempo de ação local, menos efeitos colaterais sistêmicos e consequente aumento na adesão do paciente ao tratamento.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo Geral

Desenvolver e avaliar hidrogéis de Nistatina para tratamento da mucosite oral a partir de polímeros mucoadesivos.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

- Selecionar polímeros ideais para o desenvolvimento de sistemas mucoadesivos orais;
- Desenvolver formulações utilizando os polímeros selecionados, com base em metodologias já descritas na literatura;
- Pré-validar metodologia de quantificação de Nistatina por UV-Vis quanto à linearidade e seletividade;
- Avaliar os hidrogéis mucoadesivos obtidos:
  - Caracterizar de forma sensorial os hidrogéis obtidos;
  - Verificar a variação de pH das formulações após sua produção;
  - Determinar a espalhabilidade dos hidrogéis obtidos;
  - Analisar o comportamento reológico e viscosidade das formulações obtidas;
  - Analisar possíveis interações entre polímeros e Nistatina nas formulações finais;

- Determinar a força de mucoadesão dos hidrogéis obtidos por meio de texturômetro;
- Quantificar a Nistatina presente nas formulações obtidas através de método UV-Vis.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 SCREENING DE POLÍMEROS

Nesta primeira etapa, os polímeros disponíveis no laboratório de Controle de Qualidade do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Santa Catarina foram analisados quanto a suas propriedades e escolhidos com base em 6 características citadas por Villanova, Oréfice e Cunha (2010) que favorecem a mucoadesão/bioadesividade: 1. elevada massa molar; 2. capacidade de dispersão em água; 3. presença de grande número de grupos carboxila e/ou hidroxila; 4. habilidade de formar ligações de hidrogênio; 5. flexibilidade da cadeia polimérica; e, 6. presença de superfície negativamente carregada (embora alguns polímeros catiônicos sejam bioadesivos). A partir dessas propriedades, foram escolhidos os polímeros Carbopol e Hidropropilmetilcelulose (HPMC) K4M, que são melhor discutidos no item 3.1 – *Screening* de polímeros.

### 2.2 PREPARAÇÃO DOS HIDROGÉIS MUCOADESIVOS

Os hidrogéis foram preparados com diferentes concentrações de polímeros, conforme apresenta a Tabela 1.

Tabela 1 - Composição dos hidrogéis, com e sem Nistatina (N). PP - propilparabeno; MP - metilparabeno; PG – propilenoglicol.

	Nistatina (g)	Carbopol 980 (g)	HPMC K4 (g)	EDTA dissódico (g)	PP (g)	MP (g)	PG (g)	Água qsp (mL)	Tampão Fosfato (mL)
<b>1</b>	-	1	-	0,1	0,50	0,15	5	100	-
<b>1N</b>	1,69	1	-	0,1	0,50	0,15	5	100	-
<b>2</b>	-	2	-	0,1	0,50	0,15	5	100	-
<b>2N</b>	1,69	2	-	0,1	0,50	0,15	5	100	-
<b>3</b>	-	1	-	0,1	0,50	0,15	5	-	100
<b>3N</b>	1,69	1	-	0,1	0,50	0,15	5	-	100
<b>4</b>	-	2	-	0,1	0,50	0,15	5	-	100
<b>4N</b>	1,69	2	-	0,1	0,50	0,15	5	-	100
<b>5</b>	-	-	3	0,1	0,50	0,15	5	100	-
<b>5N</b>	1,69	-	3	0,1	0,50	0,15	5	100	-
<b>6</b>	-	-	3	0,1	0,50	0,15	5	-	100
<b>6N</b>	1,69	-	3	0,1	0,50	0,15	5	-	100
<b>7</b>	-	-	5	0,1	0,50	0,15	5	100	-
<b>7N</b>	1,69	-	5	0,1	0,50	0,15	5	100	-
<b>8</b>	-	-	5	0,1	0,50	0,15	5	-	100
<b>8N</b>	1,69	-	5	0,1	0,50	0,15	5	-	100
<b>9</b>	-	1	3	0,1	0,50	0,15	5	100	-
<b>9N</b>	1,69	1	3	0,1	0,50	0,15	5	100	-
<b>10</b>	-	1	3	0,1	0,50	0,15	5	-	100
<b>10N</b>	1,69	1	3	0,1	0,50	0,15	5	-	100

Fonte: Autora.

Foram utilizadas 6 metodologias diferentes para a obtenção dos hidrogéis, duas envolvendo água ultrapura obtida a partir de sistema gradiente Milli-Q (Millipore, Bedford, USA) como veículo e duas envolvendo solução tampão fosfato (pH 6,5) previamente preparada em laboratório como veículo. Sendo assim, foram obtidos os seguintes sistemas: HPMC em água, HPMC em tampão fosfato, carbopol em água, carbopol em tampão fosfato, carbopol e HPMC em água e, por fim, carbopol e HPMC em tampão fosfato.

A Nistatina foi utilizada nas formulações correspondentes, conforme Tabela 1, em concentrações aproximadas de 100.000 UI/g (5905,9 UI equivalem a 1 mg). A Nistatina foi solubilizada em Propilenoglicol, que atua também como agente plastificante, minimizando o entrelaçamento entre as cadeias e permitindo que estas deslizem umas sobre as outras, possibilitando rápidas alterações na forma da resina polimérica e melhorando a viscosidade (RECHIA, 2010).

O pH final de cada formulação foi ajustado entre 6,0 e 7,0 utilizando solução de Hidróxido de Sódio 2,0 M, com o objetivo de minimizar danos aos tecidos, dor ou qualquer sensação de desconforto (LACERDA *et al.*, 2015).

As formulações obtidas foram armazenadas em frasco opaco ao abrigo da luz e sob refrigeração em geladeira comum (2 a 8°C) para posteriores análises.

### **2.2.1 Carbopol em água**

O hidrogel de carbopol em água foi preparado baseado em metodologia descrita por Rechia (2010). O carbopol foi pesado e transferido para um béquer contendo aproximadamente 60% de água ultrapura utilizada para toda a formulação. A solução foi agitada até a formação de um gel homogêneo. Durante a agitação, foi adicionado o EDTA dissódico, metilparabeno e propilparabeno dispersos previamente em qs de propilenoglicol, e Nistatina dispersa previamente em propilenoglicol foi adicionada nas formulações correspondentes. Por fim, foi adicionada água ultrapura até o alcance da massa de 70 g de cada formulação.

### **2.2.2 Carbopol em tampão fosfato**

Para a formulação de hidrogel de carbopol em tampão fosfato, uma adaptação das metodologias de Rechia (2010) e Cubayachi (2014) foi realizada, utilizando solução tampão fosfato 0,1 M em pH 6,5.

O carbopol foi pesado e transferido para um béquer contendo aproximadamente 60% de solução tampão fosfato (pH 6,5) utilizado para toda a formulação. A solução foi agitada até a formação de um gel homogêneo. Foi adicionado, durante a agitação, o EDTA dissódico, metilparabeno e propilparabeno dispersos previamente em qs de propilenoglicol. Nistatina dispersa previamente em propilenoglicol foi adicionada nas formulações correspondentes. Por fim, foi adicionada solução tampão fosfato (pH 6,5) até o alcance da massa de 70 g de cada formulação.

### **2.2.3 HPMC em água**

Para a formulação de hidrogel contendo apenas o polímero HPMC em água, foi realizada uma adaptação de metodologias descritas anteriormente por Cubayachi (2014) e Quiñones (2008).

O HPMC foi pesado e adicionado gradualmente a cerca de 40% de toda água ultrapura utilizada para formulação, a cerca de 80°C, sob agitação constante, até a formação de um gel

homogêneo. Metilparabeno, propilparabeno e EDTA dissódico foram pesados e dispersos em qs de propilenoglicol e posteriormente incorporados ao sistema, sob agitação. A Nistatina previamente dispersa em propilenoglicol foi adicionada sob agitação nas formulações correspondentes. A quantidade restante de água ultrapura a temperatura ambiente foi adicionada à formulação até o alcance da massa de 70 g.

#### **2.2.4 HPMC em tampão fosfato**

O HPMC foi pesado e adicionado gradualmente a cerca de 40% da solução tampão fosfato (pH 6,5) utilizada para toda a formulação, a cerca de 80°C, sob agitação constante, até a formação de um gel homogêneo. Foi adicionado, durante a agitação, o EDTA dissódico, metilparabeno e propilparabeno dispersos previamente em qs de propilenoglicol. Nistatina dispersa previamente em propilenoglicol foi adicionada nas formulações correspondentes. Por fim, foi adicionado solução tampão fosfato (pH 6,5) até o alcance da massa de 70 g de cada formulação.

#### **4.2.5 Carbopol e HPMC em água**

O HPMC foi pesado e adicionado gradualmente a cerca de 40% de toda a água ultrapura utilizada para a formulação, à cerca de 80°C. Carbopol foi pesado e adicionado ao sistema ainda sob agitação. Metilparabeno, propilparabeno e EDTA dissódico foram pesados e previamente dispersos em qs de propilenoglicol, sendo então adicionados à formulação sob agitação. Nistatina dispersa previamente em propilenoglicol foi adicionada nas formulações correspondentes. A quantidade restante de água ultrapura foi adicionada ao sistema, à temperatura ambiente, até completar a massa total de cada formulação.

#### **4.2.6 Carbopol e HPMC em tampão fosfato**

O HPMC foi pesado e adicionado gradualmente a cerca de 40% da solução tampão fosfato (pH 6,5) utilizada para toda a formulação, sob agitação constante à cerca de 80°C, até a formação de um gel homogêneo. Foi adicionado o EDTA dissódico, metilparabeno e propilparabeno dispersos previamente em qs propilenoglicol. Carbopol foi pesado e adicionado à mistura, ainda sob agitação, até a formação de um gel homogêneo. Nistatina dispersa

previamente em propilenoglicol foi adicionada nas formulações correspondentes. Por fim, foi adicionado solução tampão fosfato (pH 6,5) a temperatura ambiente até o alcance da massa de 70 g de cada formulação.

## 2.3 AVALIAÇÃO DOS HIDROGÉIS

### 2.3.1 Caracterização sensorial

Os ensaios sensoriais são usados para avaliar as características de um produto, detectáveis pelos órgãos dos sentidos (BRASIL, 2008). Atributos como coloração, textura, homogeneidade e odor foram analisados para todas as formulações obtidas.

### 2.3.2 Determinação do pH

A determinação do pH foi realizada através da utilização de pHmetro de bancada digital marca SENSOGLASS, modelo SP 1800, previamente calibrado. A verificação do pH foi realizada em triplicata para cada amostra, sob temperatura de cerca de 22 °C. As medidas dos valores de pH das formulações foram realizadas no momento do ajuste de pH após a finalização de cada preparação e no fim de 15 e 40 dias.

### 2.3.3 Determinação da espalhabilidade

A espalhabilidade foi realizada para determinar a capacidade apresentada por cada formulação em se espalhar quando submetida a uma determinada força. A técnica empregada é baseada no método descrito por Knorst (1991), que consiste em uma placa molde circular de vidro com orifício central de 1,2 cm de diâmetro colocado sobre placa suporte de vidro com pesos pré determinados, posicionado sobre papel milimetrado. A amostra foi colocada no orifício da placa e nivelada com auxílio de uma espátula, a placa molde foi então cuidadosamente retirada e uma placa de vidro de peso pré determinado foi colocada sobre a amostra. Após 1 minuto, foi calculada a superfície abrangida pela amostra através da média do diâmetro em duas posições opostas. Este procedimento foi repetido, acrescentando-se um total de 8 placas, em intervalos de um minuto. A espalhabilidade foi determinada pela Equação 2:



$$E_i = d^2 \cdot \pi / 4 \quad (1)$$

Onde:

$E_i$ : Espalhabilidade da amostra para um determinado peso em milímetro quadrado ( $\text{mm}^2$ );

$D$ : Diâmetro médio em milímetro (mm).

Os gráficos foram gerados a partir do software GraphPad Prism, versão 7 (GraphPad Software Inc., San Diego, California, USA).

### **2.3.4 Determinação da viscosidade**

A viscosidade das formulações foi determinada utilizando viscosímetro rotacional do tipo cilindro concêntrico, da marca Brookfield, modelo LVDV-II Pro acoplado a banho termostaticado (TE-2005 Tecinal). A leitura da viscosidade nesse tipo de aparelho se dá através da rotação, baseado na medição do torque necessário para girar uma haste em uma amostra a uma velocidade específica (COSTA, 2007).

A amostra a ser analisada é inserida em um frasco cilíndrico, posteriormente acoplado ao equipamento. Um cilindro, chamado de Spindle, é colocado concentricamente dentro do frasco que contém a amostra a ser analisada. Em seguida, é exercido um torque no Spindle para colocá-lo em movimento, e a viscosidade foi medida. O tipo de spindle a ser utilizado depende do estado físico do material e da sua viscosidade.

As análises foram realizadas em temperatura de  $37 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$  de forma a simular a temperatura corporal. Foram colhidos dados de viscosidade (cP) e velocidade (rpm) e dados de tensão e taxa de cisalhamento quando possível. O spindle utilizado para coleta da viscosidade em função da velocidade foi o LV4, enquanto que o spindle utilizado para tensão e taxa de cisalhamento foi o SC4-34. Os dados foram analisados e comparados somente entre as amostras que utilizaram o mesmo spindle, para evitar possíveis diferenças que poderiam ser causadas pela medição realizada em spindle diferente.

Os gráficos foram gerados a partir do software GraphPad Prism, versão 7 (GraphPad Software Inc., San Diego, California, USA).

### **2.3.5 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR)**

A espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier - FTIR (Fourier transform infrared) é utilizada para checar a compatibilidade e interações entre matérias primas e produtos finais (BAVISKAR et al., 2013).

A caracterização por espectroscopia de absorção na região do infravermelho foi realizada utilizando espectrômetro FT-IR/NIR Frontier (PerkinElmer), equipado com acessório de amostragem Universal ATR. Para cada amostra foram adquiridas 64 varreduras na faixa espectral de 4000–600  $\text{cm}^{-1}$ . Foram realizadas varreduras para a Nistatina e para os polímeros HPMC e carbopol, bem como para cada produto final de hidrogel.

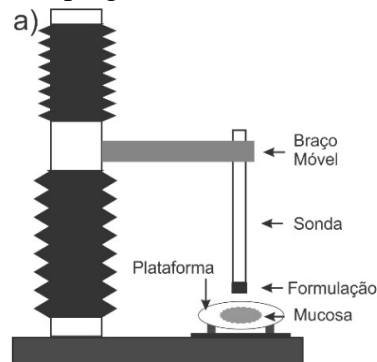
### 2.3.6 Teste de bioadesão *in vitro*

Os ensaios de mucoadesão são importantes para quantificar a eficácia da formulação em aderir ao muco. A bioadesão dos hidrogéis foi avaliada por meio do texturômetro modelo TA. HD plus da marca Stable Micro Systems, localizado na Central de Análises do Departamento de Engenharia Química da UFSC. O equipamento utilizado mede a força necessária para destacar o sistema mantido em contato com um modelo de membrana, tal como um disco composto por mucina (CARVALHO et al., 2010).

O disco de mucina foi preparado a partir da compressão de 250 mg de mucina crua utilizando máquina compressora da marca Specac, a partir de prensa de anel com matriz de 13 mm de diâmetro e uma força de compressão de 10 toneladas, aplicada por 30 segundos.

Os discos obtidos foram embebidos em solução aquosa 5% de mucina (m/v) por 30 segundos e aderidos horizontalmente com fita adesiva dupla face na extremidade inferior da sonda, sendo utilizados 4 discos por amostra de forma a preencher todo o espaço possível da extremidade inferior da sonda (35 mm de diâmetro). O excesso de solução de mucina foi removido dos discos com papel absorvente. As amostras de cada formulação foram colocadas sob uma superfície plana de modo a formar uma camada de gel de espessura de 1,0 mm. Uma força de 0,1 N foi aplicada por 30 segundos para assegurar o contato íntimo entre o disco de mucina e a amostra. Posteriormente, a sonda foi movida para cima a uma velocidade constante de 1,0  $\text{mm s}^{-1}$  e a força necessária para retirar os discos de mucina da superfície de cada formulação foi determinada a partir do gráfico de força pelo tempo. A Figura 2 apresenta de forma esquemática a metodologia empregada.

Figura 2 - Representação esquemática do método utilizado para medição da mucoadesão empregando texturômetro.



Fonte: PAULA, GUILHERME, AMARAL (2019).

### 2.3.7 Validação do método de Quantificação da Nistatina por UV

#### 2.3.7.1 Linearidade

Foram preparadas soluções com concentrações de 0,0647 g/L, 0,05176 g/L, 0,03882 g/L, 0,02588 g/L, 0,01941 g/L, 0,01294 g/L e 0,00647 g/L de Nistatina, utilizando como solvente uma solução de ácido acético glacial e metanol 1:5. A absorvância da solução foi medida no comprimento de onda de 279 nm, correspondente à Nistatina. Coeficiente de determinação ( $R^2$ ) acima de 0,990 foi considerado linear, conforme RDC 166 de 2017 da ANVISA.

#### 2.3.7.2 Seletividade

A seletividade do método foi avaliada através da comparação dos espectros de absorção obtidos na região de 200 a 400 nm da solução contendo cada um dos componentes utilizados para a formulação dos hidrogéis contendo quantidade equivalente dos componentes presentes no produto final, a fim de verificar se algum desses componentes absorvem próximo ao comprimento de onda característico da Nistatina (279 nm). Sendo assim, foram preparadas soluções de Carbopol, HPMC K4M, EDTA dissódico, Propilparabeno, Metilparabeno e Propilenoglicol.

### 2.3.8 Quantificação da Nistatina por UV

O método de quantificação da Nistatina foi feito com base em metodologia descrita por Aguiar *et al.* (2010) e validado previamente, conforme itens anteriores.

As amostras de cada hidrogel obtido foram diluídas 560 vezes, utilizando como solvente uma solução de ácido acético glacial e metanol 1:5. A absorvância foi medida no comprimento de onda de 279 nm, correspondente à Nistatina. Os resultados de absorvância obtidos foram substituídos na fórmula encontrada para o ensaio da linearidade do método, descrito anteriormente, para encontrar a concentração de Nistatina em g/L para cada hidrogel formulado.

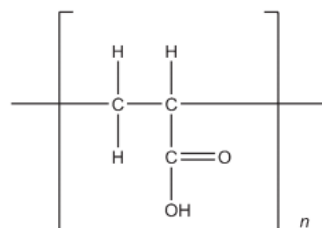
## 3 DESENVOLVIMENTO

### 3.1 SCREENING DE POLÍMEROS

#### 3.1.1 Carbopol®

O Carbopol (Figura 3) é um polímero sintético derivado do ácido acrílico reticulado com alilsacarose ou alilpentaeritritol, de alto peso molecular. Sua principal aplicação é como gelificante na preparação de géis, incrementadores da viscosidade em líquidos e como aglutinante em comprimidos e pellets (VILLANOVA, ORÉFICE & CUNHA, 2010). É uma molécula carregada negativamente que estabelece ligações mucoadesivas através de processos físico químicos, em que a formação de interações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio e forças de Van der Waals são influenciadas pelo pH e força iônica (PEREIRINHA, 2014).

Figura 3 - Estrutura molecular das subunidades de Carbopol.

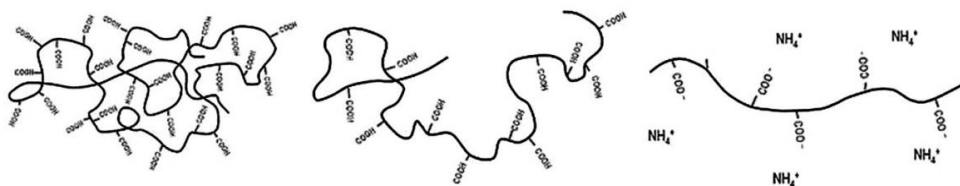


Fonte: ROWE *et al.* (2003).

É fornecido na sua forma pulverizada que quando disperso em água, sofre umectação e forma uma dispersão aquosa de resina/água com pH entre 2,8 e 3,2. Neste estado pré-dissolvido a molécula de carbopol está extremamente enovelada e sua capacidade espessante é limitada.

Para aumentar a viscosidade deste sistema, é necessária a desenovelção da molécula a partir da neutralização com bases inorgânicas, como o hidróxido de sódio ou bases orgânicas de baixo peso molecular, como a trietanolamina (Figura 4). Sendo assim, sua viscosidade depende do pH, apresentando viscosidade aceitável e transparência na faixa de pH de 4,5 a 11,0, sendo que a viscosidade e transparência máxima é atingida em pH 7,0 (FERREIRA, 2000; QUEIROZ, 2008). Para mais, a adição de propilenoglicol ou glicerina aumenta a viscosidade do gel (IGLESIAS, 2020).

Figura 4 - Mecanismo de formação do gel de Carbopol.



Fonte: ANUROVA, BAKHRUSHINA, DEMINA (2015).

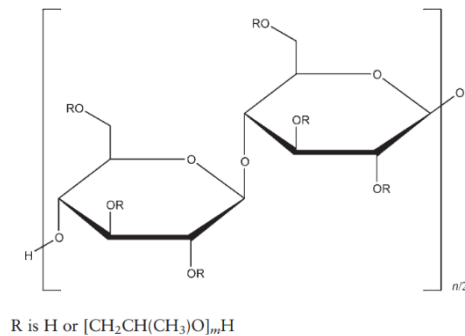
No estado hidratado, as cadeias do carbopol tornam-se flexíveis, o que lhes confere pouca ou quase nenhuma abrasividade sobre os tecidos, diminuindo o dano devido à fricção, adquirindo assim um caráter biocompatível (PEREIRINHA, 2014). Além disso, possui boa estabilidade frente a variações de temperatura e por isso é bastante utilizado em formas farmacêuticas bioadesivas para pele, mucosa bucal e gastrointestinal (ISLAM et al., 2004). Para mais, Merlin e colaboradores (2004) afirmam que o uso tópico de géis a base de carbopol é vantajoso pois os sistemas apresentam bom comportamento reológico e permanecem por maior tempo no local administrado. Segundo Iglesias (2020), formulações aquosas de carbopol exibem comportamento elasto-viscoplástico, em que os efeitos elásticos são dominantes quando a microestrutura está totalmente estruturada, enquanto os efeitos viscosos dominam após o escoamento.

Por fim, o Carbopol apresenta todas as 6 características necessárias para enquadrar-se como um bom polímero mucoadesivo, conforme citado por Villanova, Oréface e Cunha (2010): o alto peso molecular, a capacidade de intumescimento e expansão quando disperso em água, presença de grande número de grupamentos carboxila e hidroxila, habilidade de formar ligações de hidrogênio, cadeia polimérica flexível e presença de cargas negativas na molécula.

### 3.1.2 HPMC (Hidroxipropil metilcelulose)

O hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) (Figura 5), de nome comercial Methocel®, resulta da mistura de éteres celulósicos alquílicos e hidroxialquílicos, caracterizando-se como agente formador de filmes, suspensor e promotor da viscosidade (FIGUEIRAS, CARVALHO, VEIGA, 2007).

Figura 5 - Estrutura molecular das subunidades do HPMC.



Fonte: ROWE *et al.* (2003).

É um polímero sem carga (não iônico), encontrado na forma de um pó fibroso ou granular branco ou branco-cremoso, solúvel em água e com viscosidade constante em ampla faixa de pH (4,0 a 9,0), sendo estável em uma faixa de pH de 3,0 a 11,0 (VLAIA *et al.*, 2017; ANUROVA, BAKHRUSHINA, DEMINA, 2015).

Sua principal aplicação é como incrementador da viscosidade em preparações oftálmicas, além de ser o principal polímero utilizado em matrizes para liberação controlada de fármacos (VILLANOVA, ORÉFICE & CUNHA, 2010). Além disso, por ter grande disponibilidade na natureza, ser atóxico e de baixo custo, o HPMC é um dos principais polímeros utilizados como matéria-prima para a preparação de hidrogéis farmacêuticos (VLAIA *et al.*, 2017).

O HPMC é comercializado em diferentes graus de viscosidade que são identificados por um número anexo indicando a viscosidade aparente, em mPa.s, de uma solução aquosa a 2% (p/p) a 20°C. O HPMC K4M, por exemplo, apresenta uma viscosidade nominal de 4000 mPa.s nestas condições (VLAIA *et al.*, 2017). Isso acontece devido a variação na concentração de grupos metoxi, que podem variar entre 16,5% e 30%, e grupos hidroxipropoxi, que pode variar de 4 a 32%. O HPMC do tipo K apresentam entre 19 e 24% de grupos metoxi e 4 a 12% de grupos hidroxipropoxi (IGLESIAS, 2020).

Seu comportamento reológico quando em solução aquosa varia conforme a temperatura: quanto maior a temperatura, maior a viscosidade do sistema (VLAIA et al., 2017). Além disso, esse polímero não sofre influência significativa do pH do meio na solubilidade e viscosidade da camada gélica formada (OLIVEIRA, 2010).

Dentre as características presentes no HPMC que favorecem a mucoadesão, conforme citado por Villanova, Oréfice e Cunha (2010), estão: elevada massa molecular, capacidade de intumescer quando disperso em água, presença de grande número de grupamentos hidroxila e cadeia polimérica flexível.

## 3.2 AVALIAÇÃO DOS HIDROGÉIS

### 3.2.1 Caracterização sensorial

Todos os hidrogéis base (formulações 1 a 10) apresentaram coloração branca ou translúcida. As formulações contendo HPMC (5 a 8) ou mistura de Carbopol + HPMC (9 e 10) apresentaram-se mais brilhosas enquanto que as formulações contendo Carbopol (1 a 4) apresentaram-se mais opacas.

Todos os hidrogéis com Nistatina incorporada (1N a 10N) apresentaram coloração amarela, justamente devido à presença do fármaco. Assim como os hidrogéis base, as formulações com HPMC (5N a 8N) e formulações contendo Carbopol + HPMC (9N e 10N) apresentaram-se mais brilhosas quando comparadas com as formulações contendo Carbopol (1N a 4N).

Todas as formulações apresentaram adesão à espátula durante o seu manuseio e relativamente boa consistência, sendo as formulações de Carbopol as mais consistentes, seguidas das de Carbopol + HPMC e por fim as de HPMC, apresentando consistência relativamente baixa.

Não foi notada nenhuma diferença visual ou de consistência entre a utilização da água ou da solução tampão de fosfato como veículo. Todos os hidrogéis obtidos podem ser visualizados na Figura 6.

Figura 6 - Hidrogéis base (1 a 10) e hidrogéis de Nistatina (1N a 10N).



Fonte: Autora.

### 3.2.2 Determinação do pH

A Tabela 2 reúne os resultados obtidos na determinação do pH nos dias 1, 15 e 40 após a produção das formulações. Todas as formulações foram armazenadas em temperaturas de 2 a 8°C. É válido salientar que as medidas foram obtidas em temperatura de aproximadamente 25°C. Todos os hidrogéis tiveram seu pH corrigido entre 6,0 e 7,0 no dia da sua produção (Dia 1), variando entre 5,43 e 7,0 no decorrer dos 40 dias.



Tabela 2 - Valores de pH dos hidrogéis e variações de pH em comparação ao Dia 1.

Formulações	pH				
	Dia 1	Dia 15	Variação (comparado com Dia 1)	Dia 40	Variação (comparado com Dia 1)
<b>1</b>	6,51	6,22	- 0,29	6,02	- 0,49
<b>1N</b>	6,22	6,025	- 0,195	6,1	- 0,12
<b>2</b>	6,32	5,99	- 0,33	5,97	- 0,35
<b>2N</b>	6,35	5,97	- 0,38	6,01	- 0,34
<b>3</b>	6,35	6,07	- 0,28	6,06	- 0,29
<b>3N</b>	6,4	5,71	- 0,69	5,77	- 0,63
<b>4</b>	6,41	6,09	- 0,32	6,09	- 0,32
<b>4N</b>	6,43	6,02	- 0,41	5,97	- 0,46
<b>5</b>	6,35	6,47	+ 0,12	6,34	- 0,01
<b>5N</b>	7	6,62	- 0,38	6,45	- 0,55
<b>6</b>	6,58	6,62	+ 0,04	6,53	- 0,05
<b>6N</b>	6,5	6,46	- 0,04	6,07	- 0,43
<b>7</b>	6,6	6,84	+ 0,24	6,67	+ 0,07
<b>7N</b>	6,4	6,1	- 0,3	5,91	- 0,49
<b>8</b>	6,6	6,49	- 0,11	6,41	- 0,19
<b>8N</b>	6,51	6,58	+ 0,07	6,24	- 0,27
<b>9</b>	6,22	5,97	- 0,25	5,79	- 0,43
<b>9N</b>	6,15	5,43	- 0,72	5,59	- 0,56
<b>10</b>	6,26	5,84	- 0,42	5,73	- 0,53
<b>10N</b>	6,2	5,68	- 0,52	5,55	- 0,65

Fonte: Autora.

A ANOVA fator duplo indicou uma diferença significativa no pH dos hidrogéis no decorrer do tempo de armazenamento. O teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, revelou que essa diferença significativa foi vista para quase todos os hidrogéis formulados, exceto 6, 6N, 8 e 8N no dia 15 e 5, 6 e 7 no dia 40 de armazenamento. Estes dados trazem evidências de que hidrogéis de HPMC manipulados com tampão fosfato como veículo tendem a suportar melhor o pH no decorrer do tempo. Apesar da diferença significativa na variação do pH no decorrer dos dias, todos os valores ficaram dentro da faixa de pKa da Nistatina (3,62 e 9,11), não influenciando a ionização do fármaco. Os intervalos de valores de pH recomendados para estabilizar as suspensões de Nistatina sem interferir na eficácia antifúngica deste fármaco são de 5,0 a 7,0 (HAMILTON-MILLER, 1973 apud DANTAS, CAMPOS & MARTINS, 2018), e todas as formulações obtidas permaneceram nesta faixa de pH mesmo após 40 dias de

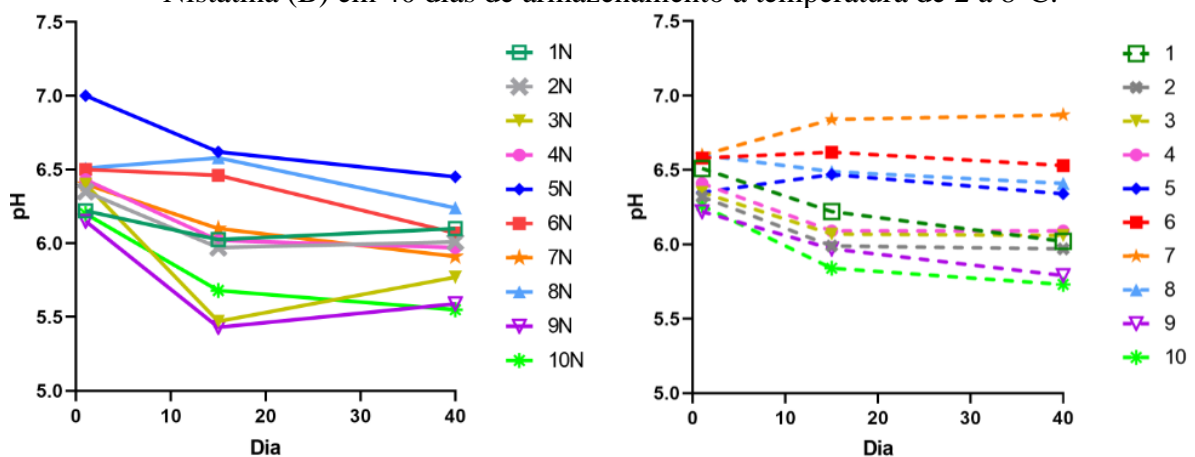
armazenamento. Contudo, algumas formulações ficaram com pH relativamente abaixo da faixa de pH ótima para aplicação de formulações na cavidade oral (6,0 a 7,0) com o decorrer do tempo de armazenamento, podendo causar alguma sensação de desconforto ao paciente. Contudo, isso pode ser contornado com um ajuste do pH mais próximo de 7,0 no momento da produção da formulação. Apesar disso, não é possível afirmar que um ajuste destas formulações para um pH mais próximo de 7,0 no momento da manipulação resultaria nos mesmos comportamentos reológicos, de espalhabilidade e de bioadesão *in vitro* encontrados neste trabalho, portanto este poderia ser um critério para exclusão dessas formulações neste momento.

Também é importante levar em consideração que pHs abaixo de 5,5 são considerados críticos para a dissolução do esmalte dental. Mesmo diante de tais fatos, algumas das soluções orais de Nistatina disponíveis no mercado brasileiro apresentam pHs abaixo de 5,5 (DANTAS, CAMPOS & MARTINS, 2018). Nenhuma das formulações obtidas contendo Nistatina apresentou pH abaixo de 5,5 durante os 40 dias de armazenamento, o que é importante principalmente em pacientes oncológicos, uma vez que o uso constante desta modalidade terapêutica somados ao estado de imunossupressão, hipossalivação e terapia oncológica tem maior predisposição à atividade cariogênica local (DANTAS, CAMPOS & MARTINS, 2018).

Com exceção das formulações que levam Carbopol em água como veículo (1N e 2N), as formulações com Nistatina incorporada suportaram menos o pH quando comparadas com as formulações controle (sem Nistatina), após 40 dias de armazenamento, conforme pode ser visualizado na Tabela 2 e na Figura 9.

A utilização de solução tampão fosfato como veículo ao invés de água pareceu não influenciar na variação de pH das formulações.

Figura 7 - Representação gráfica da variação de pH das formulações com Nistatina (A) e sem Nistatina (B) em 40 dias de armazenamento a temperatura de 2 a 8°C.



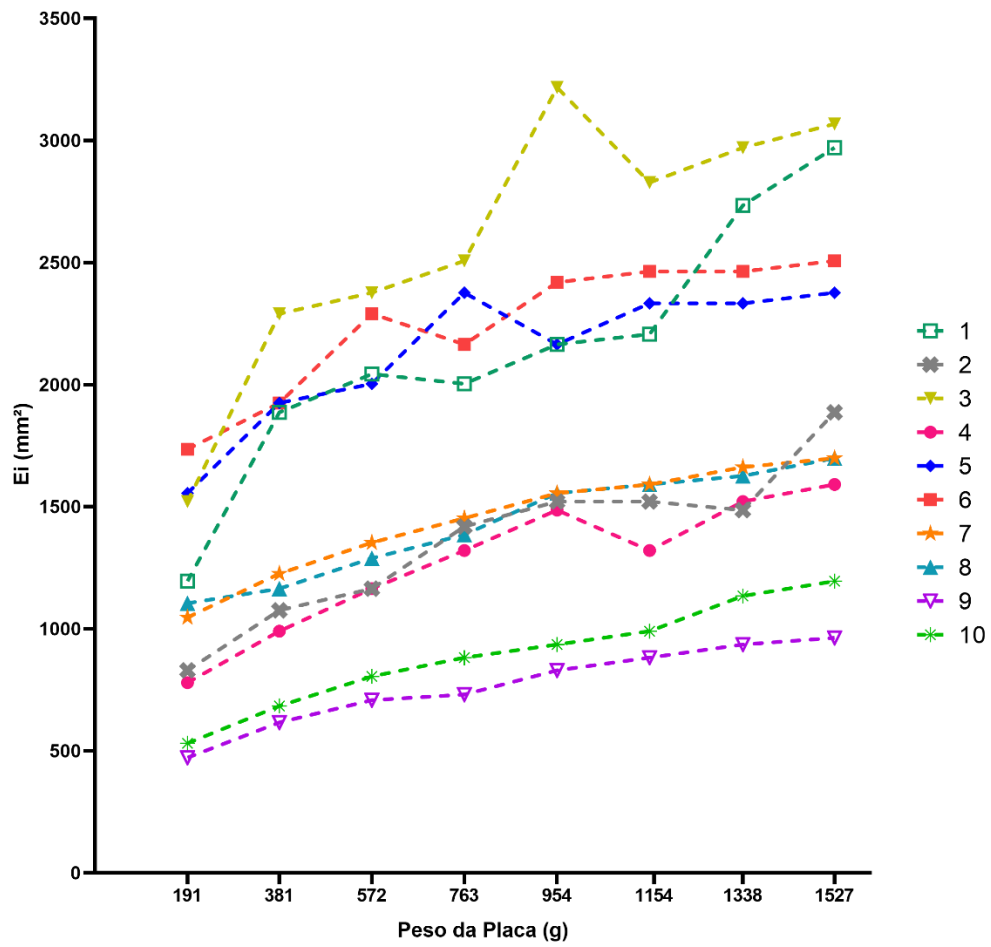
Fonte: Autora.

Alterações no valor de pH podem ocorrer em função de impurezas, hidrólise, decomposição e erro no processo de manipulação da forma farmacêutica. Essas instabilidades podem ocorrer também devido ao tempo de estocagem e/ou condições inadequadas de armazenamento (FERREIRA, 2000; ANSEL, 2000). A hidrólise, por sua vez, pode ser evitada com o uso de quelantes, como por exemplo o EDTA dissódico utilizado na formulação dos hidrogéis. Tendo em vista que o pH é um dos fatores que alteram a estabilidade do produto final, podendo influenciar diretamente na eficácia do tratamento, faz-se necessário estudos adicionais em relação a esta variável de acordo com o tempo de armazenamento.

### **3.2.3 Determinação da Espalhabilidade**

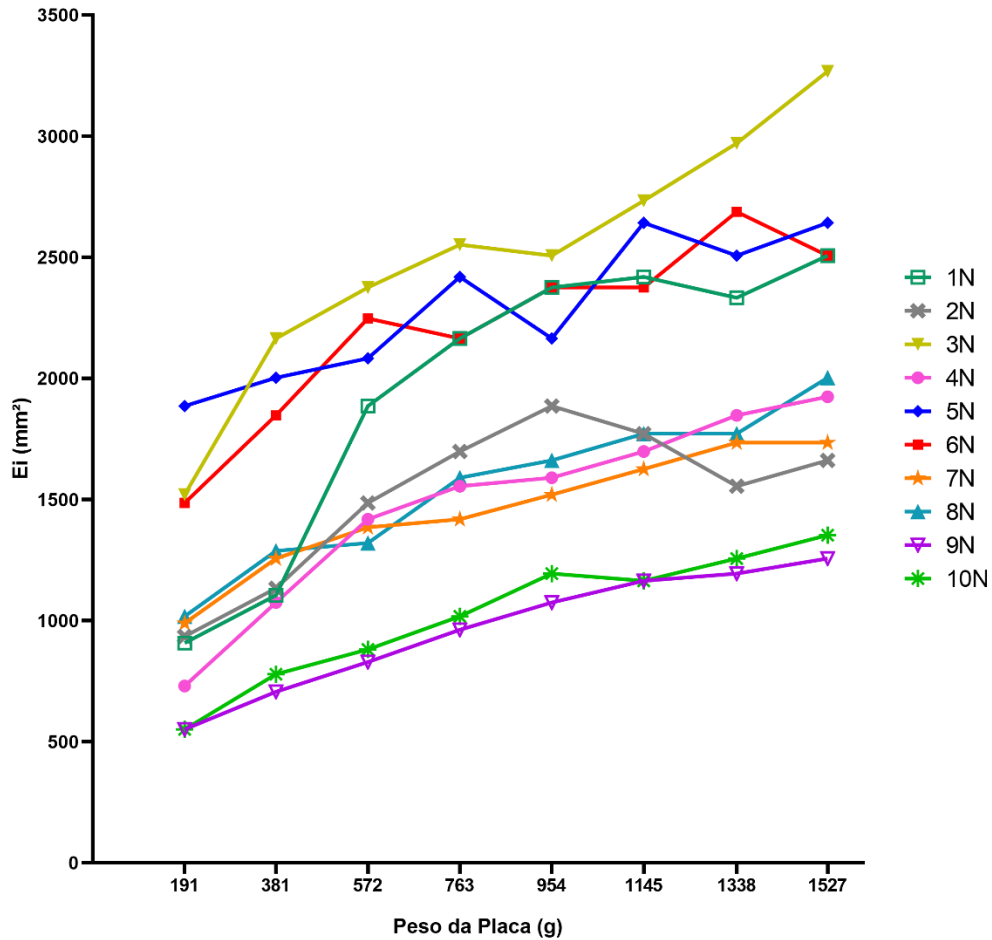
A espalhabilidade é a capacidade do sistema de se espalhar sobre a superfície a qual é administrada quando submetido a uma determinada força. As Figuras 8 e 9 demonstram a espalhabilidade ( $\text{mm}^2$ ) em função do peso aplicado (g) para cada sistema mucoadesivo oral obtido.

Figura 8 - Resultados da Determinação da Espalhabilidade. (A) Formulações de hidrogel de polímeros mucoadesivos base.



Fonte: Autora.

Figura 9 - Resultados da Determinação da Espalhabilidade para formulações de hidrogel de polímeros mucoadesivos contendo Nistatina.



Fonte: Autora.

De forma geral, a espalhabilidade dos hidrogéis não parece ter sofrido alterações muito importantes com a incorporação da Nistatina nas formulações, uma vez que os hidrogéis base (1 a 10) apresentaram espalhabilidades relativamente semelhantes, embora levemente maiores, quando comparados com os hidrogéis contendo Nistatina (1N a 10N).

A formulação 3, que contém 1% de Carbopol em tampão fosfato como veículo na formulação foi a que apresentou a maior espalhabilidade dentre os sistemas formulados. A formulação 1 é idêntica à formulação 3, exceto pelo veículo utilizado, que neste caso foi a água - esta seria a única justificativa possível para a diminuição da espalhabilidade da formulação 1 quando comparada à 3. Nas formulações correspondentes as quais foram incorporadas a Nistatina (1N e 3N), este comportamento também foi observado.

A formulação 9 foi a que apresentou a menor espalhabilidade dentre os sistemas formulados. Esta formulação contém uma mistura de 1% de Carbopol e 3% de HPMC em água

como veículo. A formulação 10, também formada por mistura de 1% de Carbopol e 3% de HPMC, porém em tampão fosfato, apresenta uma espalhabilidade levemente maior em comparação com a formulação 9. Nos sistemas 9N e 10N este comportamento também foi observado. Isso novamente traz a evidência de que a utilização de tampão fosfato como veículo aumenta a espalhabilidade das formulações.

Ao compararmos a fórmula 5 (HPMC 3% em água como veículo) e 6 (HPMC 3% em tampão fosfato como veículo), vemos que novamente a fórmula contendo o tampão fosfato como veículo apresenta maior espalhabilidade do que a fórmula contendo água. Apesar da incorporação da Nistatina tornar a espalhabilidade das fórmulas 5N e 6N bastante semelhantes, ainda temos a evidência de que o tampão fosfato aumenta a espalhabilidade de hidrogéis.

A espalhabilidade dos hidrogéis base, em ordem decrescente, ficou da seguinte maneira, com as formulações 2, 4, 7 e 8 no mesmo *ranking* devido ao perfil de espalhabilidade semelhante: 1% Carbopol em tampão fosfato > 1% Carbopol em água > 3% HPMC em tampão fosfato > 3% HPMC em água > 2% de Carbopol em água, 7 5% HPMC em água, 8 5% HPMC em tampão fosfato, 2% Carbopol em tampão fosfato > 1% Carbopol + 3% HPMC em tampão fosfato > 1% Carbopol + 3% HPMC em água.

A incorporação da Nistatina nas formulações provocou algumas alterações nos valores de espalhabilidade e conseqüentemente na ordem decrescente de espalhabilidade das formulações, ficando da seguinte maneira: 1% Carbopol em tampão fosfato > 3% HPMC em tampão fosfato > 3% HPMC em água > 1% Carbopol em água > 2% de Carbopol em água, 5% HPMC em água, 5% HPMC em tampão fosfato, 2% Carbopol em tampão fosfato > 1% Carbopol + 3% HPMC em tampão fosfato > 1% Carbopol + 3% HPMC em água.

Com isso, vemos que a espalhabilidade dos hidrogéis depende do polímero utilizado na formulação, da concentração do polímero, do fármaco que será incorporado e do veículo a ser utilizado. De forma geral, o carbopol apresentou maior espalhabilidade, seguido do HPMC e por fim o Carbopol + HPMC. As formulações que levaram tampão fosfato como veículo no lugar da água apresentaram maior espalhabilidade.

Segundo Borella et al. (2010), as formulações com as melhores características reológicas podem ser utilizadas de maneira mais agradável, uma vez que a espalhabilidade permite a utilização da formulação em menor quantidade, levando a uma redução do consumo da preparação ao mesmo tempo em que mantém a efetividade terapêutica.

Levando em consideração a Teoria do Intumescimento, a espalhabilidade seria um fator importante para garantir o contato íntimo com a mucosa e conseqüentemente garantir uma

mucoadesão adequada. Essa teoria assume que a capacidade de expansão do polímero, nomeadamente o seu coeficiente de expansão sobre o tecido biológico, prevê a intensidade da ligação mucoadesiva (PEREIRINHA, 2016). Sendo assim, quanto maior a espalhabilidade do sistema, melhor tende a ser as suas propriedades mucoadesivas. Dentre as formulações obtidas, as formulações 1N, 3N, 5N e 6N apresentaram a maior espalhabilidade, o que tende a favorecer a mucoadesão destas formulações e reduzir o consumo da preparação, mantendo a efetividade terapêutica.

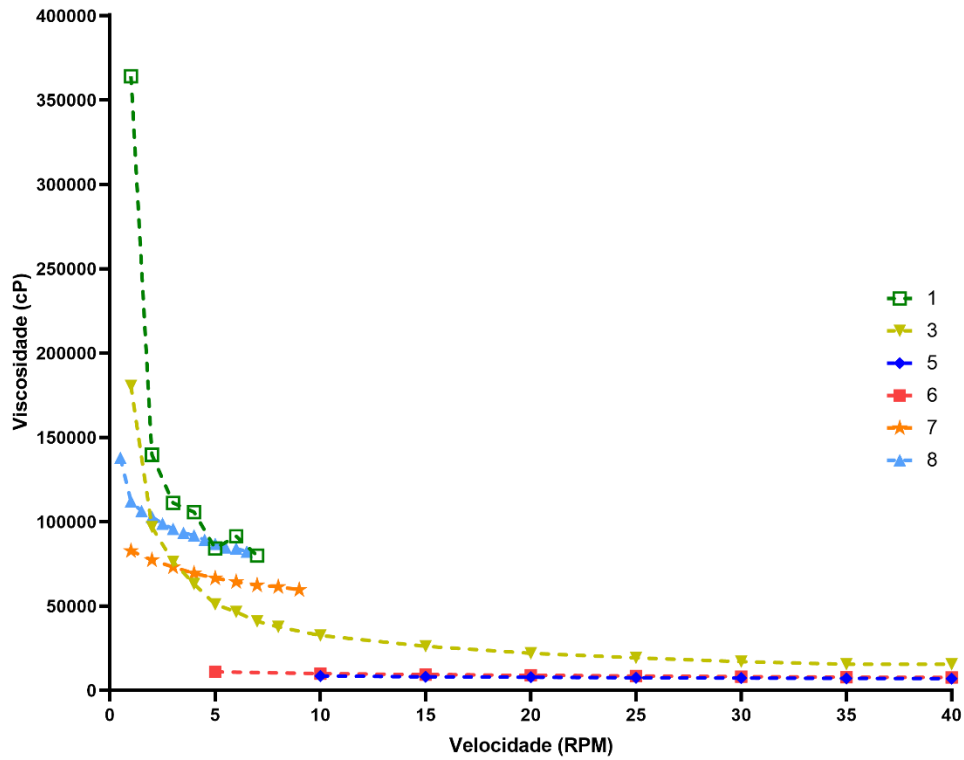
### **3.2.4 Determinação da viscosidade e análise do comportamento reológico**

A viscosidade é a medida da resistência de um sistema ao fluxo ou ao movimento quando submetido a uma tensão. É uma medida que se torna aparente pela existência entre diferentes camadas do fluido, presumindo que cada camada se move a uma velocidade progressivamente menor quando submetida a uma força tangencial, sendo que a força necessária para provocar esse movimento é chamada de cisalhamento (AULTON & TAYLOR, 2016). Quanto maior a viscosidade, maior a força requerida para induzir o fluxo.

O ideal seria a medição de todas as amostras com o mesmo spindle, obtendo dados de tensão e taxa de cisalhamento além da viscosidade para um estudo mais profundo acerca do comportamento reológico dos hidrogéis obtidos. Sendo assim, os dados obtidos com relação a estas variáveis foram os conseguidos com equipamentos e spindles presentes no próprio Laboratório de Controle de Qualidade.

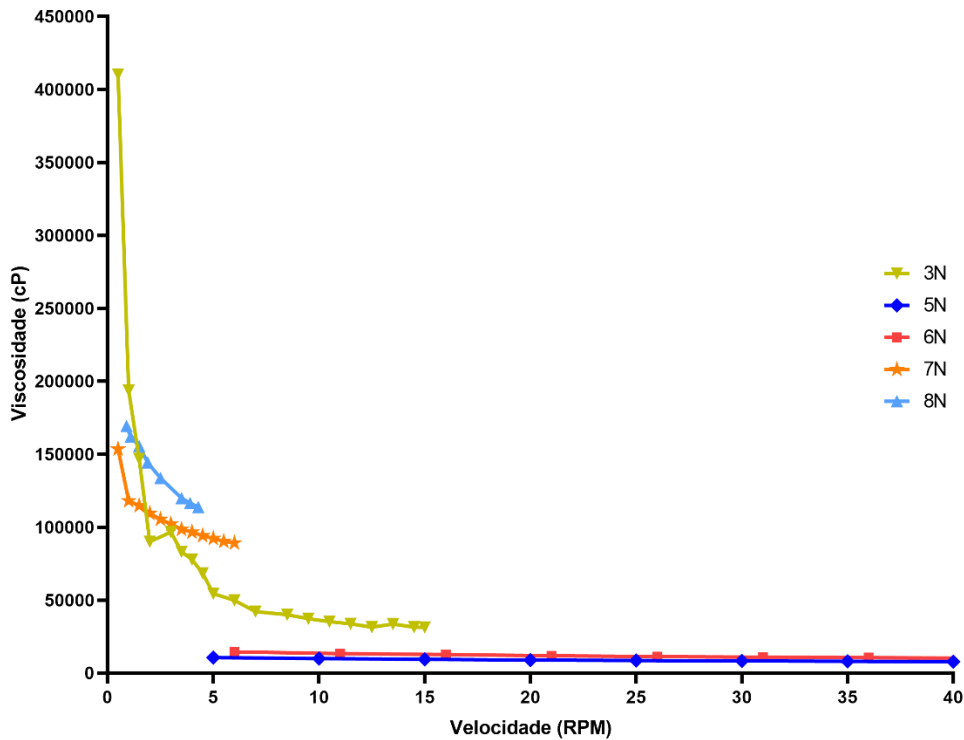
Foi possível medir a viscosidade aparente somente das amostras 1, 3, 5, 6, 7 e 8 (Figura 10) e 3N, 5N, 6N, 7N e 8N (Figura 11). O restante das amostras excedeu o valor máximo de viscosidade lido pelo viscosímetro e spindles disponíveis em laboratório. Ainda, foi possível medir apenas a viscosidade aparente (cP) em função do gradiente de velocidade (RPM) dessas amostras devido as suas altas viscosidades e spindles disponíveis.

Figura 10 - Representação gráfica da viscosidade aparente (cP) em função do gradiente de velocidade (RPM) para os hidrogéis base. Spindle utilizado: LV4.



Fonte: Autora.

Figura 11 - Representação gráfica da viscosidade aparente (cP) em função do gradiente de velocidade (RPM) para os hidrogéis com Nistatina. Spindle utilizado: LV4



Fonte: Autora.



As formulações 3, 7 e 8 apresentaram viscosidade menor quando comparadas com as formulações 3N, 7N e 8N as quais tiveram a incorporação da Nistatina. Para mais, foi possível medir a viscosidade da formulação 1 (hidrogel base) porém a medição não foi possível para a formulação 1N. Isso sugere que a incorporação da Nistatina a esses sistemas aumenta a viscosidade aparente dos mesmos. O mesmo não foi visualizado para as formulações 5, 5N, 6 e 6N.

Em ordem decrescente de viscosidade dos hidrogéis base, temos: 1% Carbopol em água > 1% Carbopol em tampão fosfato > 5% HPMC em tampão fosfato > 5% HPMC em água > 3% HPMC em água e 3% de HPMC em tampão fosfato. Isso demonstra que o tipo de polímero utilizado e a sua concentração interferem na viscosidade do produto, sendo que o Carbopol confere maior viscosidade às formulações quando comparado com HPMC. Dados semelhantes foram encontrados por Ikeda (2020), em que as formulações de Carbopol e também as misturas de Carbopol e HPMC apresentaram maiores viscosidades. Isso também explica o porquê de não ter sido possível a medição da viscosidade das formulações 2, 4, 9 e 10, que se tratavam de maiores concentrações de Carbopol ou de misturas de Carbopol + HPMC e, conseqüentemente, apresentavam maiores viscosidades. Referindo-se à sistemas mucoadesivos orais, Carvalho (2010) cita que uma maior viscosidade é interessante, uma vez que a forma farmacêutica permanece por um tempo maior no local de aplicação.

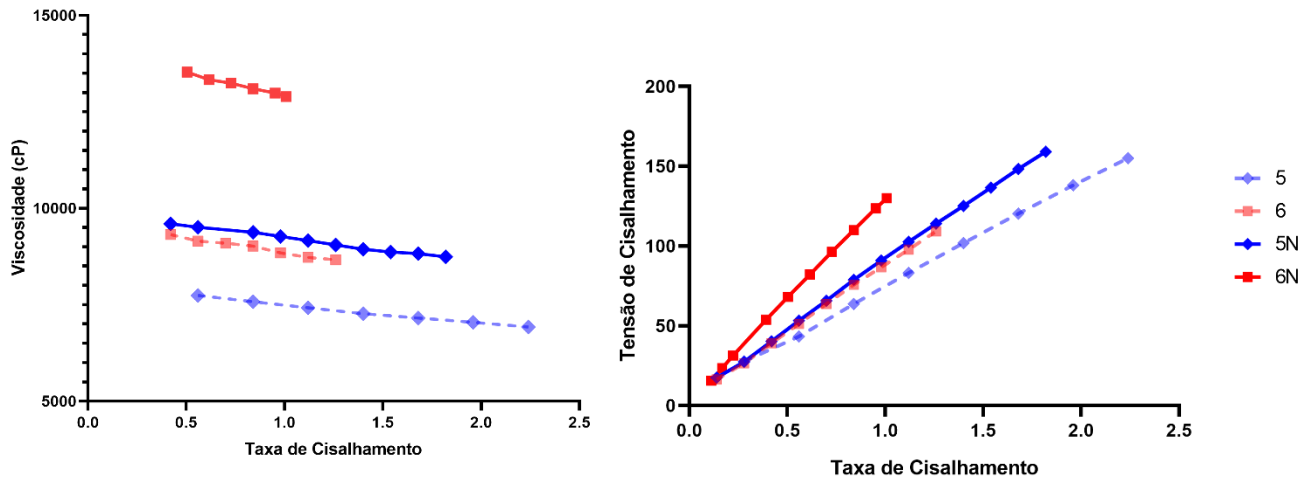
A maior viscosidade do Carbopol se deve a formação de uma rede polimérica altamente reticulada e densa quando comparada a polímeros lineares e o aumento da concentração de carbopol utilizada induz redes poliméricas mais fortes, aumentando o atrito interno a ser superado para atingir o estado de fluxo. O HPMC, por sua vez, realiza ligações de hidrogênio juntamente com o Carbopol, formando complexos inter poliméricos. Este aumento do número de ligações de hidrogênio provoca um maior atrito interno dos hidrogéis e, portanto, viscosidades mais altas (CHEN et al., 2018; KHUTORYANSKIY, 2007).

As amostras 1, 3, 3N, 7, 7N, 8 e 8N têm diminuição da viscosidade aparente (cP) com o aumento da velocidade de rotação (rpm). Para a classificação reológica em Fluido Newtoniano ou Não Newtoniano, seriam necessárias ainda medidas de tensão e taxa de cisalhamento que, conforme citado anteriormente, não foram obtidas devido aos spindles e viscosímetro disponíveis em laboratório.

As amostras 5, 5N, 6 e 6N apresentaram viscosidade aparente (cP) constante, independente da velocidade de rotação (rpm). Para mais, dada a baixa viscosidade dessas formulações, foi possível obter dados de taxa e tensão de cisalhamento com o equipamento

disponível em laboratório. A Figura 12 é uma representação gráfica do comportamento reológico dessas formulações.

Figura 12 - Comportamento reológico das formulações 5, 5N, 6 e 6N.  
Spindle: SSC-34.



Fonte: Autora.

As formulações 5, 5N, 6 e 6N apresentam uma diminuição da viscosidade e um aumento da tensão de cisalhamento conforme o aumento da taxa de cisalhamento. Esse comportamento caracteriza essas formulações como um Fluido Não Newtoniano do tipo pseudoplástico. Os sistemas pseudoplásticos apresentam diminuição da viscosidade apenas após o ponto limite de fluidez, que não foi alcançado para as formulações obtidas com o spindle disponível. Segundo Fagundes (2015), os fluidos pseudoplásticos formados por polímeros apresentam, em geral, características de fluido newtoniano ao serem submetidos à muito baixas ou muito altas taxas de cisalhamento, o que pôde ser visualizado no gráfico de tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento das formulações 5, 5N, 6 e 6N.

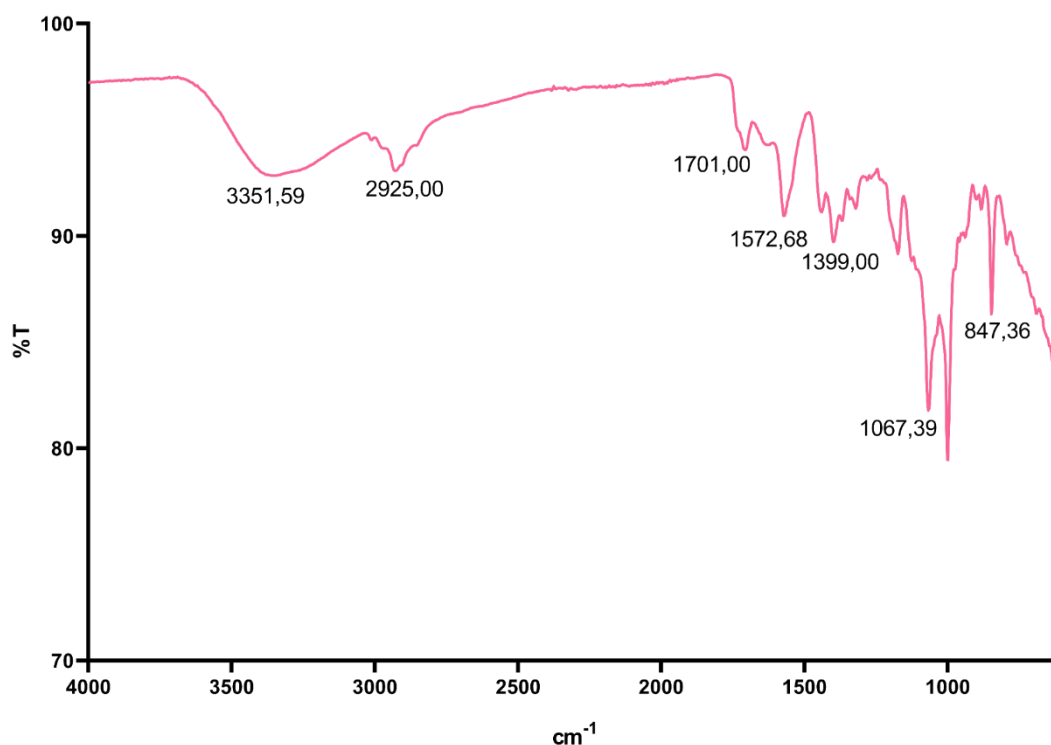
Em geral, os géis possuem comportamento reológico do tipo pseudoplástico e tixotrópico, ou seja, deformam-se durante a aplicação (viscosidade diminui com o aumento do cisalhamento) tornando-se mais fluidos, o que também facilita o espalhamento, e por fim recuperam a viscosidade inicial no momento em que se encerra a aplicação, evitando que o produto escorra. Este fenômeno tende a aumentar o prazo de validade da forma farmacêutica, uma vez que durante o período no qual o produto permanece em repouso, este apresenta viscosidade constante, o que dificulta a separação dos constituintes da formulação (QUEIROZ, 2008).

### 3.2.5 FT-IR

A espectroscopia de infravermelho tem se apresentado como uma ótima alternativa para identificar interações fracas entre polímeros, principalmente através da observação do deslocamento de bandas características de certos grupos funcionais, como por exemplo hidroxilas, carbonilas e nitrilas (KANIS, 1998).

O espectro de absorção da Nistatina (Figura 13) exibiu banda larga entre 3500 e 3250  $\text{cm}^{-1}$ , característica da vibração do estiramento das ligações H-O e H-N (MARTÍN-VILLENA et al., 2013). Além disso, os resultados encontrados para a matéria prima utilizada corroboram também com dados anteriores encontrados por Konell (2014) para a Nistatina, conforme pode ser visualizado no Tabela 3.

Figura 13 - Espectro no infravermelho para a matéria prima (Nistatina) utilizada.



Fonte: Autora.

Considerando os estiramentos característicos do fármaco descritos por Konell (2014) e encontrados neste estudo (Tabela 3), foi realizada a comparação dos espectros obtidos para a Nistatina com os obtidos para as formulações dos hidrogéis 1N (Figura 14), 5N (Figura 15) e 9N (Figura 16) a fim de verificar possível interação entre a Nistatina e os polímeros utilizados.

Tabela 3 - Principais bandas de frequências de absorção das vibrações de ligação da Nistatina e da Nistatina utilizada como matéria prima para as formulações.

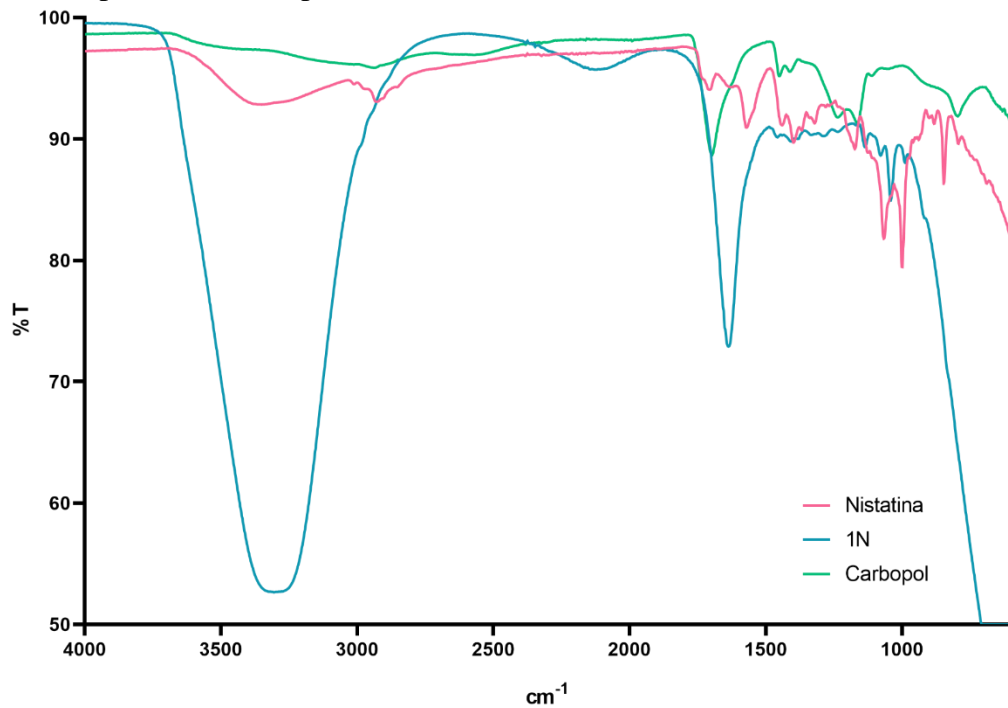
Frequência (cm <sup>-1</sup> ) (KONNEL, 2014)	Frequência (cm <sup>-1</sup> )	Modo Vibracional
847,54	847,36	Duplas ligações CH=CH
1063,37	1067,39	Estiramento simétrico de CH <sub>3</sub>
1397,29	1399,00	Deformação simétrica de CH <sub>3</sub>
1574,73	1572,68	Íon Carboxilato
1703,60	1701,00	Lactona
2924,44	2925,00	Estiramento assimétrico de CH <sub>2</sub>
3379,04	3351,59	Estiramento NH OH

Fonte: Autora e Konell (2014).

Todas as formulações levam água em sua composição, o que ficou evidente nos espectros obtidos para os produtos finais (1N, 5N e 9N) apresentando banda larga próxima às frequências de 3300 cm<sup>-1</sup> (estiramento O-H) e também bandas entre 2300 e 1900 cm<sup>-1</sup> (estiramento O-H secundário). Devido a isso, a banda larga entre 3500 e 3250 cm<sup>-1</sup> característica da Nistatina não pôde ser visualizada uma vez que houve sobreposição de bandas. Além dessa, outras bandas também foram sobrepostas, impedindo a visualização das bandas características da Nistatina, como por exemplo nas frequências de 1572,68 cm<sup>-1</sup> (íon carboxilato), 1399 cm<sup>-1</sup> (deformação simétrica de CH<sub>3</sub>) e 847,36 cm<sup>-1</sup> (duplas ligações CH=CH).

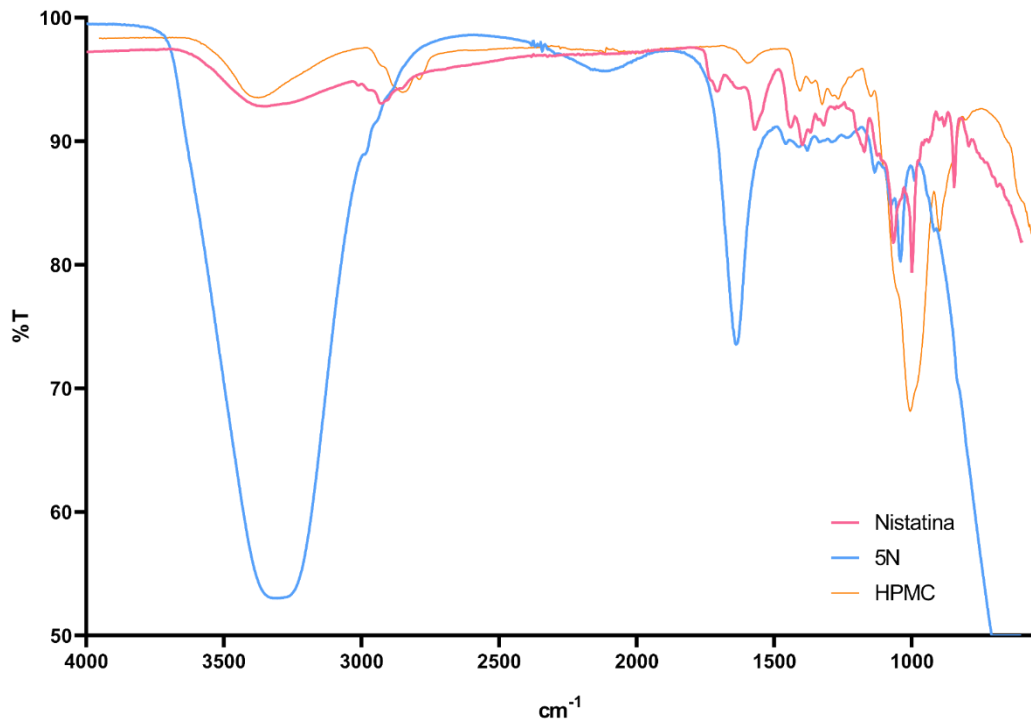
Também houve alteração de alguns estiramentos. Na formulação 1N (Figura 16), por exemplo, a banda característica do estiramento simétrico de CH<sub>3</sub> presente na Nistatina (1067,39 cm<sup>-1</sup>) parece ter sofrido uma diminuição de intensidade além de um deslocamento leve para a esquerda. Segundo Konell (2014), interações entre fármaco e polímero podem acarretar no deslocamento e desaparecimento de alguns estiramentos. O mesmo não foi observado para as formulações contendo apenas HPMC (como por exemplo, a Figura 15, que representa o espectro de absorção do hidrogel 5N) ou mistura de carbopol e HPMC (como por exemplo a formulação 9N, na Figura 16), em que a banda característica do estiramento simétrico de CH<sub>2</sub> presente na Nistatina utilizada (1067,39 cm<sup>-1</sup>) parece apenas ter sofrido sobreposição pelas bandas características dos polímeros HPMC e/ou carbopol.

Figura 14 – Espectro de IV obtido de amostra da formulação 1N (linha azul), contendo o polímero Carbopol (linha verde) e o fármaco Nistatina (linha rosa).



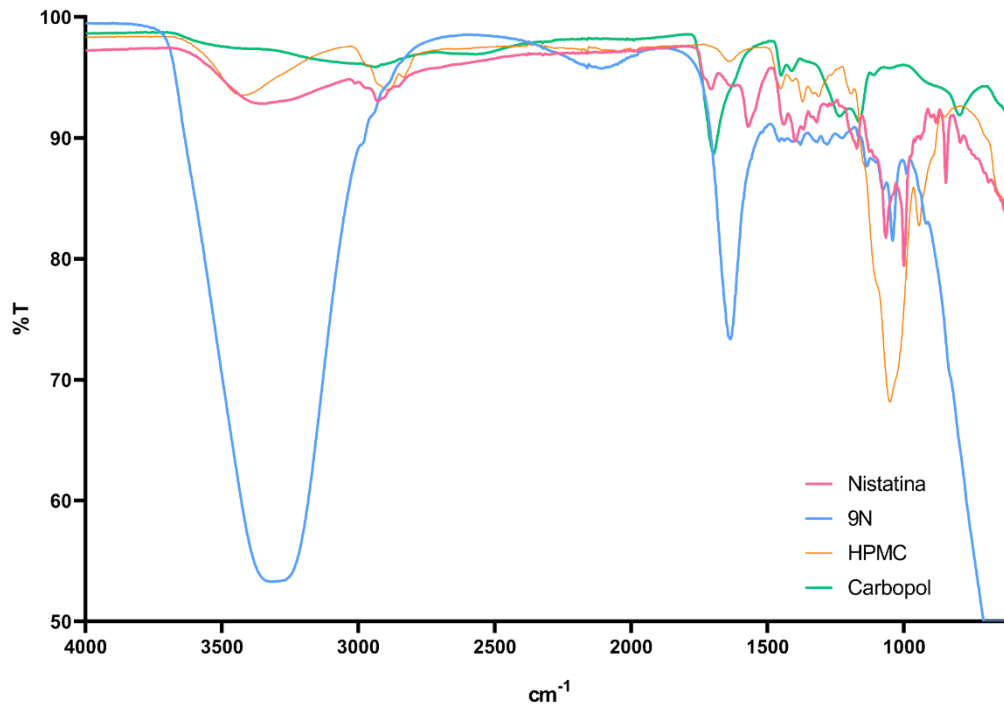
Fonte: Autora.

Figura 15 – Espectro de IV obtido de amostra da formulação 5N (linha azul), contendo o polímero HPMC (linha amarela) e o fármaco Nistatina (linha rosa).



Fonte: Autora.

Figura 16 - Espectro de IV obtido de amostra da formulação 9N (linha azul), contendo o polímero Carbopol (linha verde), o polímero HPMC (linha amarela) e o fármaco Nistatina (linha rosa).

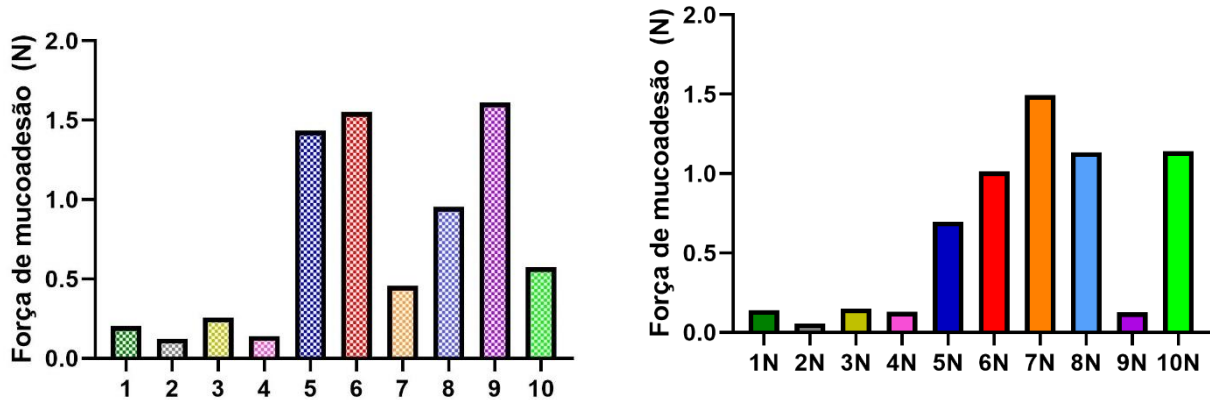


### 3.2.6 Teste de Bioadesão *in vitro*

A mucoadesão é uma propriedade importante de alguns polímeros pois podem aumentar o tempo de residência de fármacos no local de ação ou absorção (THIRAWONG *et al.*, 2008). Segundo Carvalho e colaboradores (2010), o teste de bioadesão *in vitro* é de suma importância para o desenvolvimento de sistemas mucoadesivos uma vez que simula a interação entre a formulação e a superfície da mucosa. Conforme descrito na metodologia, a força de bioadesão das formulações foi medida através de texturômetro, determinando a força necessária para o rompimento da interação entre a formulação mucoadesiva e o modelo de mucosa.

A Figura 17 é uma demonstração gráfica da força de bioadesão das formulações com e sem Nistatina. Foi aplicada uma força de 0,1 N sob o sistema e a força necessária para romper a ligação entre o modelo de mucosa e o hidrogel foi medida em Newton. Aguiar e colaboradores (2016) considerou formulações acima de 0,5 N como mucoadesivas quando aplicado força de 0,1 N sob o sistema. Tendo isso em vista, as formulações base (sem Nistatina) 5, 6, 8, 9 e 10 e as formulações com Nistatina 5N, 6N, 7N, 8N e 10N podem ser consideradas mucoadesivas.

Figura 17 - Força de bioadesão *in vitro* (N) quando aplicado uma força de 0.1N sob o sistema.



- 1: Carbopol 1% em água
- 2: Carbopol 2% em água
- 3: Carbopol 1% em tampão fosfato
- 4: Carbopol 2% em tampão fosfato
- 5: HPMC 3% em água
- 6: HPMC 3% em tampão fosfato
- 7: HPMC 5% em água
- 8: HPMC 5% em tampão fosfato
- 9: Carbopol 1% + HPMC 3% em água
- 10: Carbopol 1% + HPMC 3% em tampão fosfato

Fonte: Autora.

As formulações que levam apenas o polímero carbopol na sua composição (1 a 4 e 1N a 4N) apresentaram bioadesão *in vitro* muito inferior quando comparadas com as demais formulações, não chegando nem mesmo a uma força de mucoadesão de 0,3 N. Enquanto isso, os hidrogéis com apenas o HPMC na composição (5 a 8 e 5N a 8N) apresentaram força de mucoadesão superior, que pode ser explicado devido o maior peso molecular dos monômeros de HPMC quando comparados com os de Carbopol, sendo o alto peso molecular uma das características citadas por Villanova, Oréfica e Cunha (2010) para o favorecimento da força de mucoadesão, uma vez que a elevada massa molar aumenta a força de adesão. Além disso, tem-se também a capacidade de intumescer quando disperso em água, a presença de grande número de grupamentos hidroxila e a cadeia polimérica flexível contribuindo para a força de mucoadesão elevada deste polímero.

Uma hipótese que poderia explicar a menor força de mucoadesão do Carbopol quando comparado com o HPMC K4M seria o fato do primeiro ser carregado positivamente enquanto o segundo não apresenta carga alguma. Sendo assim, enquanto o HPMC interage com a mucina por meio de ligações de hidrogênio e/ou van der Waals, seguindo a teoria de mucoadesão da

adsorção, o Carbopol, carregado positivamente, interage com a mucina por meio de ligações eletrostáticas, seguindo a teoria eletrônica de mucoadesão (REGINATO, 2014). Segundo Da Silva e colaboradores (2007), a atração entre a mucina e o polímero mucoadesivo via ligações de hidrogênio e/ou van der Waals resulta em forças atrativas significativamente maiores do que as forças descritas pela teoria eletrônica. Para mais, a mucina apresenta carga negativa, assim como o carbopol, ocorrendo repulsão elétrica entre esses dois materiais, ao passo que o HPMC é aniônico, não tendo esse tipo de força desfavorecendo a bioadesão do sistema.

Dados anteriores encontrados por Ikeda (2020) demonstram que um hidrogel base produzido com 1% de Carbopol + 1% de HPMC K-100 em água como veículo apresenta uma força de mucoadesão de 0,9 N quando submetido às mesmas condições as quais foram realizados os testes de bioadesão *in vitro* presentes neste trabalho. A formulação 9N apresenta em sua composição 1% de Carbopol + 3% de HPMC K4M em água como veículo, apresentando uma força de mucoadesão *in vitro* muito inferior quando comparado com a formulação semelhante preparada pela autora, mesmo apresentando HPMC K4M em maior concentração. Isso ocorre porque o HPMC K-100 apresenta uma viscosidade nominal de 100 mPa.s a 20°C, enquanto que o HPMC K4M apresenta viscosidade nominal de 4000 mPa.s (VLAIA, 2017), trazendo em evidência a contribuição da viscosidade para a bioadesão *in vitro* de um sistema mucoadesivo.

O aumento da concentração de carbopol acarretou na diminuição da força de bioadesão tanto nos hidrogéis base quanto nos hidrogéis com Nistatina incorporada. Nos hidrogéis base, o aumento da concentração de HPMC também causou diminuição da força de bioadesão. Isso ocorre porque o aumento da concentração de polímero nas formulações acarreta na diminuição da espalhabilidade, evidenciando a espalhabilidade como um fator importante para o favorecimento da mucoadesão, conforme citado por Borella e colaboradores (2010).

A incorporação da Nistatina causou diminuição da força de bioadesão *in vitro* de 7 dos 10 hidrogéis base formulados e aumento da viscosidade dos demais hidrogéis, conforme apresentado anteriormente. Estes dados vão contra o sugerido por Carvalho (2010), que cita que uma maior viscosidade acarretaria em maior tempo de permanência da formulação no local de aplicação. Apesar disso, é importante lembrar que a espalhabilidade também é uma variável que interfere na mucoadesão e que viscosidades muito elevadas ocasionam em espalhabilidades menores e, conseqüentemente, na diminuição da mucoadesão.

As formulações contendo mistura de HPMC e Carbopol (9 e 10) apresentaram boa força de bioadesão *in vitro* e a incorporação da Nistatina provocou alteração nesta variável: a

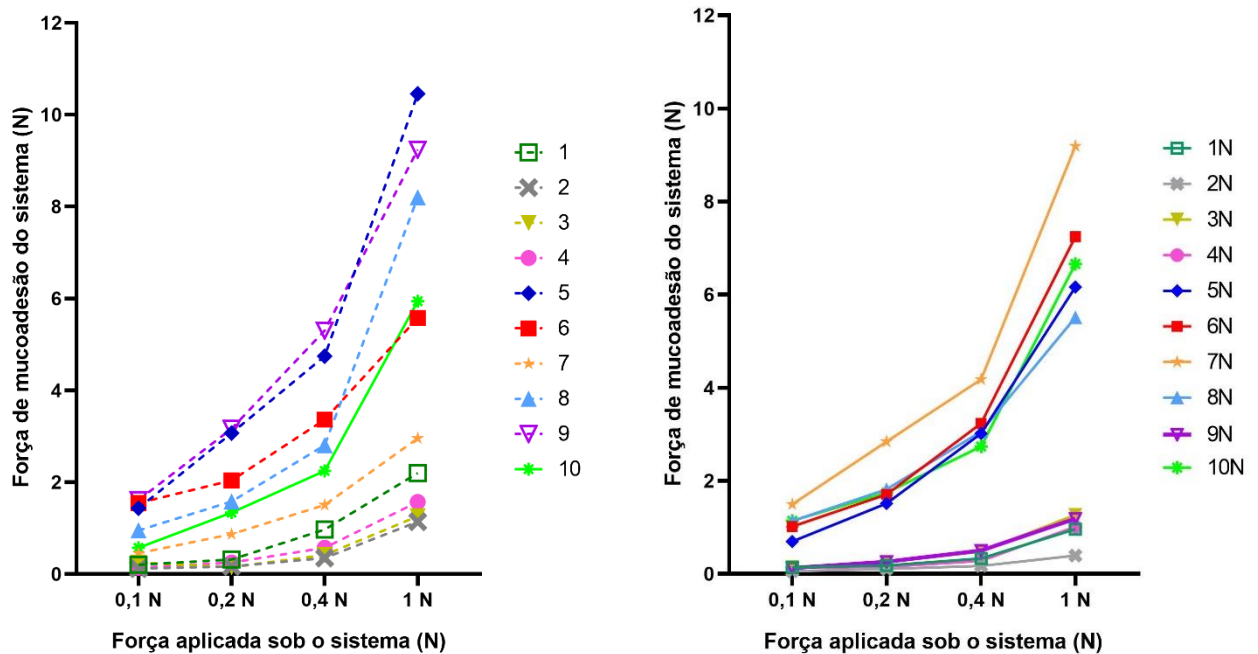


formulação 10N (tampão fosfato como veículo) aumentou sua capacidade de mucoadesão enquanto a formulação 9N (água como veículo), perdeu a capacidade de mucoadesão, ficando abaixo de 0,5 N. Nas formulações contendo apenas carbopol (1 a 4 e 1N a 4N), o uso de tampão fosfato como veículo não surtiu grandes efeitos na bioadesão *in vitro* quando comparado com as formulações que levaram água como veículo. Não é possível afirmar se o veículo utilizado nas formulações contendo apenas HPMC como polímero provoca algum efeito na bioadesão *in vitro* desses sistemas uma vez que na concentração de 3% de HPMC o uso de tampão fosfato parece aumentar a bioadesão *in vitro* enquanto que na concentração de 5% de HPMC este mesmo veículo parece exercer um efeito aleatório: no hidrogel base ele aparente melhorar a capacidade de bioadesão quando comparado com a água como veículo, porém após a incorporação da Nistatina ele apresenta menor capacidade de bioadesão do que a água como veículo.

De forma geral, considerando uma força de 0,1 N aplicada sob o sistema (ou força de aplicação), os hidrogéis contendo o polímero HPMC apresentaram força de bioadesão superior, seguidos dos hidrogéis contendo mistura de HPMC e Carbopol e por fim, com baixa força de bioadesão, os hidrogéis contendo apenas Carbopol em sua composição. Sendo assim, em ordem decrescente de capacidade de mucoadesão temos: HPMC 5% em água > HPMC 5% em tampão fosfato  $\approx$  carbopol 1% + HPMC 3% em tampão fosfato > HPMC 3% em tampão fosfato > HPMC 3% em água > carbopol 1% em tampão fosfato  $\approx$  carbopol 1% em água  $\approx$  carbopol 2% em tampão fosfato  $\approx$  carbopol 1% + HPMC 3% em tampão fosfato > carbopol 2% em água.

A Figura 18 é uma representação gráfica da força de mucoadesão de cada formulação em função da força aplicada sob o sistema, ou seja, da força que seria utilizada pelo paciente na aplicação da formulação. Conforme pode ser visualizado, a força de mucoadesão das formulações tende a aumentar de forma proporcional à força aplicada sob o sistema.

Figura 18 - Representação gráfica da força de mucoadesão do sistema (N) em função da força aplicada sob o sistema (N).



Fonte: Autora.

### 3.2.7 Validação do Método de Quantificação da Nistatina por UV

A Farmacopeia Brasileira (2019) prevê o doseamento da Nistatina por ensaio microbiológico, um método que pode apresentar baixa precisão devido às diversas etapas que o compõem, sendo também um método considerado de maior custo (AGUIAR et al., 2010). Para mais, Konell (2014) ainda afirma que o ensaio microbiológico para quantificação do teor de Nistatina é bastante limitado pois é realizado sob ponto de vista apenas microbiológico, estando relacionado somente à potência do fármaco.

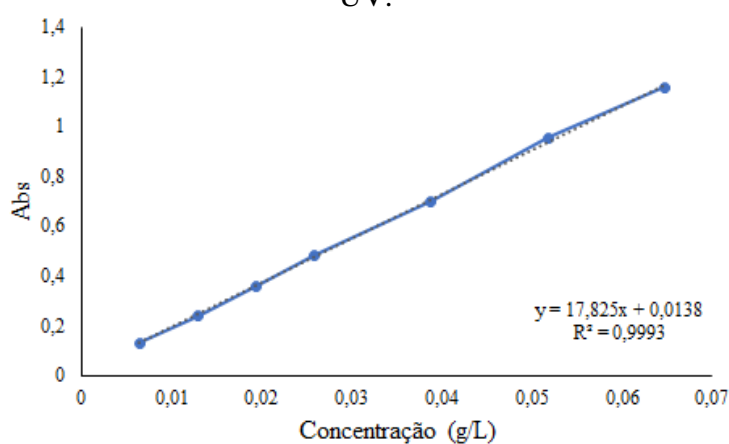
Sendo assim, neste trabalho foi preferido validar parcialmente um método de Quantificação da Nistatina por UV, usando como base uma metodologia já descrita anteriormente por Aguiar e colaboradores (2010). Para validar a metodologia, ensaios de linearidade e seletividade foram realizados.

#### 3.2.7.1 Linearidade

A linearidade de um método deve ser demonstrada por meio da sua capacidade de obter respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração de um analito em uma amostra (BRASIL, 2017).

A representação gráfica da avaliação da linearidade do método proposto é demonstrada na Figura 19, obtendo uma equação da reta de  $y = 17,825x + 0,0138$  e um coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,9993, sendo considerado um método linear conforme a RDC 166 de 2017 da ANVISA.

Figura 19 - Avaliação da linearidade do método proposto para quantificação da Nistatina por UV.



Fonte: Autora.

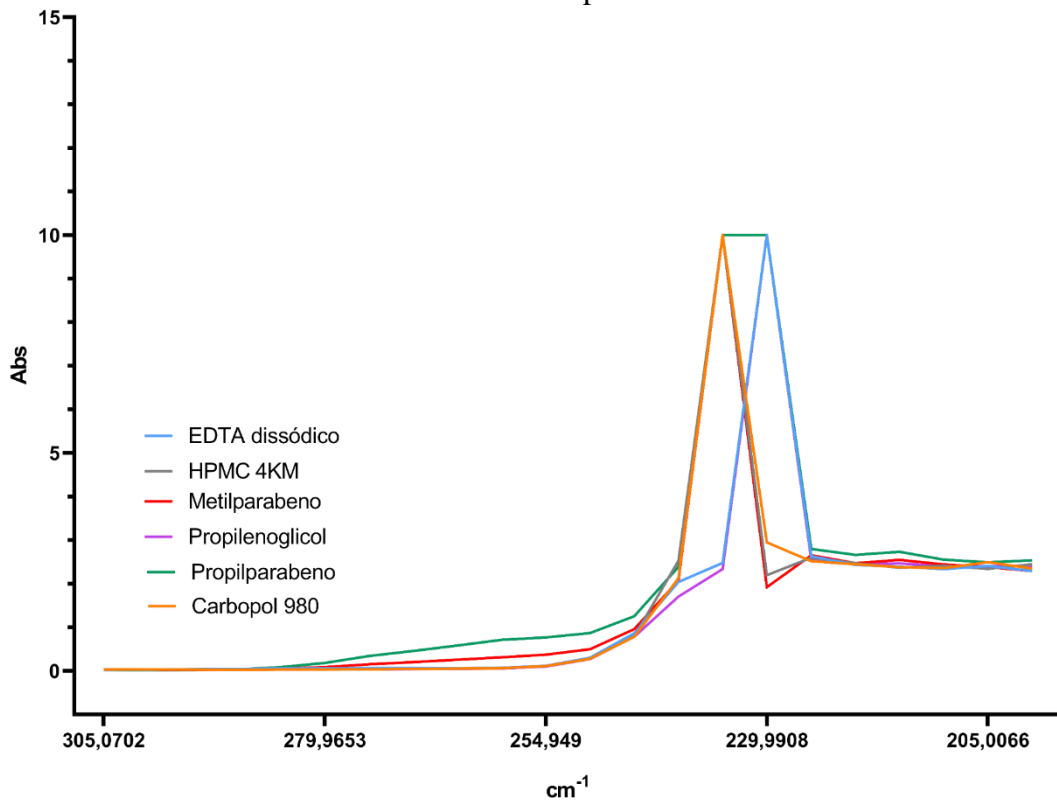
### 3.2.7.2 Seletividade

A seletividade do método analítico deve ser demonstrada por meio da sua capacidade de identificar o analito de interesse na presença de outros componentes que podem estar presentes na amostra, como por exemplo diluentes e componentes do produto final (BRASIL, 2017). Diante disto, a seletividade do método foi avaliada levando em consideração todos os componentes das formulações obtidas: Carbopol 980, HPMC 4KM, EDTA dissódico, propilparabeno, metilparabeno e propilenoglicol.

A Figura 20 é uma representação gráfica da absorvância (Abs) versus comprimento de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) para cada um dos compostos presentes nas formulações dos hidrogéis obtidos, em uma faixa de comprimento de onda de 200 a 400 nm. É possível visualizar que a maioria dos componentes apresentam picos de absorção em torno do comprimento de onda de 235 nm permanecendo distantes do pico de absorção característico da Nistatina, que seria de 279 nm.

Isso sugere que os demais componentes presentes nas formulações de hidrogéis não interferem nos valores de Abs encontrados para a Nistatina.

Figura 20 - Representação gráfica da análise de seletividade para o método de quantificação da Nistatina por UV.



Fonte: Autora.

Corroborando com a informação de que nenhum dos componentes presentes nos hidrogéis altera a absorvância da Nistatina no comprimento de onda de 279 nm, a Tabela 4 traz o valor de absorvância no comprimento de onda de 279 nm para cada um dos componentes presentes nas formulações de hidrogéis. É possível visualizar, novamente, que nenhum dos componentes absorve de forma significativa no comprimento de onda característico da Nistatina.

Tabela 4 - Absorvância dos demais componentes dos hidrogéis em comprimento de onda de 279 nm (característico da Nistatina).

<b>Abs no comprimento de onda de 279 nm</b>	
Carbopol 980	0,0483
HPMC 4KM	0,0428
EDTA dissódico	0,0544
Propilparabeno	0,1918
Metilparabeno	0,0569
Propilenoglicol	0,0301

Fonte: Autora.

Segundo a RDC 166 de 2017 da ANVISA, “para métodos quantitativos e ensaios limite, a seletividade deve ser demonstrada por meio da comprovação de que a resposta analítica se deve exclusivamente ao analito, sem interferência do diluente, da matriz, de impurezas ou de produtos de degradação”. Sendo assim, o método aqui proposto para a quantificação da Nistatina por UV é considerado seletivo.

### 3.2.8 Quantificação da Nistatina por UV-Visível

Durante o processo de desenvolvimento farmacêutico, tanto na produção quanto no controle de qualidade, a quantificação do fármaco na amostra é requerida (KONELL, 2014).

Amostras de cada hidrogel foram diluídas aproximadamente 560 vezes para que os valores de absorvância lidos pelo aparelho fossem entre 0,030 e 1,000, uma vez que valores fora desta faixa podem expressar medidas errôneas. Os resultados de Abs obtidos foram substituídos na fórmula encontrada para o ensaio da linearidade do método (Equação 2), tendo assim os resultados de concentração da Nistatina em g/L e UI/g para cada formulação de hidrogel. As medidas foram realizadas em triplicata e os resultados estão presentes na Tabela 5.

$$y = 17,825x + 0,0138 \quad (2)$$

Tabela 5 - Quantificação da Nistatina por método UV-Vis.

<b>Formulação</b>	<b>Concentração média (g/L) ± DP</b>	<b>Concentração média (UI/g) ± DP</b>
1N	22,4367 ± 0,0432	132497,0 ± 275,6
2N	19,9825 ± 0,0808	118014,9 ± 477,4
3N	21,7575 ± 0,0262	128497,8 ± 154,6
4N	22,8939 ± 0,0377	135242,6 ± 280,2
5N	20,4737 ± 0,0570	120915,7 ± 336,4
6N	23,2180 ± 0,0672	137123,5 ± 397,2
7N	20,5174 ± 0,0422	121173,5 ± 249,5
8N	22,8913 ± 0,0262	135193,8 ± 154,9
9N	15,7900 ± 0,0188	93254,4 ± 110,8
10N	24,4750 ± 0,0687	144546,7 ± 405,5

Fonte: Autora.

Segundo Aguiar e colaboradores (2016), para a candidíase oral, a forma farmacêutica empregada é a suspensão oral aquosa de Nistatina na concentração de 100000 UI/mL. Levando em consideração que 1 mg da Nistatina utilizada equivalem a 5905,9 UI, essa concentração seria equivalente à 16,8571 g/L de Nistatina.

Segundo Konell, análises por CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) são amplamente aplicadas por revelarem resultados muito confiáveis na quantificação de fármacos, como por exemplo a Nistatina. Para testarmos a hipótese levantada anteriormente de que há um erro na relação entre UI e mg descrita no rótulo da Nistatina utilizada, poderia ser realizada quantificação por CLAE através de métodos já validados a fim de comparar os resultados obtidos nos dois métodos.

Em metodologia para quantificação de Nistatina por UV-Vis proposta por Aguiar e colaboradores (2016), o comprimento de onda utilizado na análise para a Nistatina foi de 279 nm, o mesmo utilizado neste presente trabalho e também no trabalho de Pedroso (2014). Contudo, diferentes literaturas trazem comprimentos de onda para a Nistatina de 305 nm (KONELL, 2014; LAVRA et al., 2008).

Wilson e colaboradores (2001) demonstraram em seus estudos que Nistatina em pó (matéria prima) previamente declarada com concentração de 4460 UI/mg pelos fornecedores apresentaram uma média de 5124 UI/mg após quantificação feita pelos autores. Segundo eles, uma explicação plausível para este ocorrido seria a formação de um grupo hemiacetal entre o grupo carbonila em C13 e o grupo hidroxila em C17 ou ainda a formação de isômeros Z/E do dieno presente na estrutura da Nistatina. O mesmo pode ter acontecido neste trabalho, uma vez que para a quantificação da Nistatina seriam consideradas as duas formas isoméricas.

## 4 CONCLUSÃO

Todos os polímeros utilizados tiveram capacidade de gerar hidrogel com características sensoriais adequadas. O pH de todos os hidrogéis permaneceram dentro da faixa considerada ideal para aplicação na cavidade oral e também para manutenção da atividade biológica da Nistatina, mesmo após 40 dias de armazenamento.

A utilização de tampão fosfato como veículo não apresentou grandes diferenças no pH durante o período de armazenamento das formulações. Apesar disso, o teste de espalhabilidade trouxe evidências de que a utilização do tampão fosfato no lugar da água como veículo proporciona maior espalhabilidade tanto dos hidrogéis base quanto dos incorporados com Nistatina. Em ordem decrescente de espalhabilidade, o *ranking* ficou da seguinte maneira: 3N > 5N > 1N e 6N > 8N > 4N > 7N > 2N > 10N > 9N. De modo geral, os hidrogéis com HPMC 3% na sua composição foram os que apresentaram maior espalhabilidade, o que favorece o fenômeno de mucoadesão além de permitir uma redução do consumo do produto durante a aplicação no local lesionado justamente devido a espalhabilidade.

A determinação da viscosidade apontou os hidrogéis de HPMC + Carbopol como os mais viscosos, seguido dos hidrogéis de Carbopol e por fim os de HPMC. A incorporação da Nistatina previamente solubilizada em propilenoglicol tende a aumentar a viscosidade dessas formulações. Foi possível caracterizar reologicamente apenas os hidrogéis 5, 5N, 6 e 6N, que se enquadram como Fluido Não Newtoniano do tipo pseudoplástico. As demais formulações apresentavam tensão e taxa de cisalhamento superior à capacidade do equipamento presente no laboratório.

Na análise da força de mucoadesão, o HPMC apresentou força de bioadesão *in vitro* significativamente superior quando comparado com as formulações feitas de Carbopol ou mistura de Carbopol e HPMC. A contribuição da espalhabilidade e viscosidade contribuíram para favorecer a bioadesão *in vitro* dos hidrogéis contendo HPMC em sua composição.

Apesar de parecer haver fracas interações entre o fármaco e os polímeros, os resultados obtidos no FT-IR relacionados a essas possíveis interações ainda deixam dúvidas visto que houve sobreposição de diversas bandas. Diante disso, análises adicionais seriam interessantes para investigar se de fato ocorre interações físico-químicas entre os componentes da formulação.

O método elaborado para quantificação da Nistatina por UV-vis mostrou-se como linear e seletivo para a Nistatina. Os resultados de quantificação indicam que o fármaco permanece nas formulações sem sofrer grandes alterações.

Diante de tais fatos, é possível afirmar que em relação às variáveis observadas neste presente estudo e quando comparado com hidrogéis de carbopol ou carbopol + HPMC, os hidrogéis feitos com HPMC K4M mostraram-se como ótimos candidatos para manipulação de sistemas mucoadesivos com Nistatina para tratamento da mucosite oral. Estes hidrogéis apresentam boa aparência, são capazes de manter o pH entre a faixa adequada para a manutenção biológica da Nistatina, apresentam boa espalhabilidade e viscosidade, comportamento reológico adequado para manter a viscosidade após a aplicação do produto e impedir uma possível separação de fases do sistema e também apresentaram força de bioadesão *in vitro* superior às demais formulações estudadas. A concentração de 5% de HPMC pareceu ser a mais adequada para o que foi proposto.

Como perspectivas futuras, sugere-se o desenvolvimento do estudo de estabilidade das formulações obtidas bem como o estudo de permeação *in vitro* do fármaco através das membranas. Posteriormente, ensaios pré-clínicos *in vivo* para análise da aceitação das formulações pelos pacientes quanto às características sensoriais como por exemplo textura e palatabilidade também seriam interessantes.



## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, M. M. G. B. *et al.* Oral sustained release nystatin tablets for the treatment of oral candidiasis: formulation development and validation of UV spectrophotometric analytical methodology for content determination. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 36, n. 5, p. 594-600, 2010.
- ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; JR, L. “Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos”. **Editorial Premier**, São Paulo, ed. 6. 2000.
- ANUROVA, M. N.; BAKHRUSHINA, E. O.; DEMINA, N. B.. Review of Contemporary Gel-Forming Agents in the Technology of Dosage Forms. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, [S.L.], v. 49, n. 9, p. 627-634, dez. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11094-015-1342-5>.
- ARAÚJO, Ricardo de. **Plataforma mucoadesiva composta por mesocarpo de babaçu (orbignya sp.) e quitosana para liberação de clorexidina**. 2017. 132 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais) – Faculdade em Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, 2017.
- AULTON, Michael E.; TAYLOR, Kevin M G. Delineamento de formas farmacêuticas. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. 1713 p.
- BEJARANO, L. et al. Síntesis y estudio de hidrogeles obtenidos a partir de acrilamida, poli(ácido acrílico) y ácido maleico como potenciales remediadores de contaminantes metálicos en aguas residuales. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, v. 9, n. 3, p. 207-312, 2008.
- BORELLA, J. C. et al. Avaliação da epalhabilidade e do teor de flavonóides em forma farmacêutica semissólida contendo extratos de *Calendula officinalis* L. (Asteraceae). **Rev Ciên Farm Básica Apl**, v. 28, n. 2, p. 193–197, 2010.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC 166 de 24 de julho de 2017 – Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências, **DOU**, Brasília, DF, 25 de julho de 2017.
- BRASIL. Inca - Instituto Nacional de Câncer. Ministério da Saúde. **O que é câncer?** Disponível em: <https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer>. Acesso em: 31 maio 2021.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Informações de saúde (Tabnet): estatísticas vitais: Mortalidade geral, **Óbitos p/Residênc segundo Capítulo CID-10, período de 2019**. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sim/cnv/obt10uf.def>. Acesso em: 31 maio 2021.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. **Total de mortes por todas as neoplasias, por anos, segundo localidade, em homens e mulheres, Brasil, com faixa etária de 0 a 99+, no ano de 2019**. Disponível em: <http://www.inca.gov.br>. Acesso em: 31 maio 2021.
- BRUCH, J. M.; TREISTER, N. S. Clinical Oral Medicine and Pathology. New York: **Human Press**, 2010, p. 1, 3.
- CABALLERO, R., LAGARES, T., GARCIA, R. et al. Cancer treatment-induced oral mucositis: a critical review. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2012; 41: 225-38.

CARDONA, Alvin *et al.* Efficacy of chlorhexidine for the prevention and treatment of oral mucositis in cancer patients: a systematic review with meta-analyses. **J Oral Pathol Med.**, v. 46, n. 9, p. 680-688, oct. 2017

CARVALHO, F. C. *et al.* Mucoadhesive drug delivery systems. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, n. 1, p. 1-17, 2010.

CHAVELI-LÓPEZ, Begonya; BAGÁN-SEBASTIÁN, José V. Treatment of oral mucositis due to chemotherapy. **J Clin Exp Dent**, v. 8, n. 2, p. e201-209, 2016.

CHEN, X. *et al.* Formulation and In Vitro Release Kinetics of Mucoadhesive Blend Gels Containing Matrine for Buccal Administration. **AAPS PharmSciTech**, v. 19, n. 1, p. 470-480, 2018.

COOK, M. T.; KHUTORYANAKIY, V. V. Mucoadhesion and mucosa-mimetic materials – A mini-review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 495, p. 991-998, 2015.

COSTA, Flávia Queiroz. VIABILIDADE DE USO DE UM MISTURADOR PARA A ANÁLISE DE PROPRIEDADES REOLÓGICAS DE PRODUTOS ALIMENTÍCIOS. 2007. 115 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

DA SILVA, C.; MARTINS, F.; SANTANA, M. H. Adsorption Isotherms of Mucin on Granules Containing Chitosan Microspheres. **Adsorption Science & Technology**, v. 25, n. 10, p. 781-789, Jan. 2007.

DANTAS, Juliana Borges de Lima; CAMPOS, Elisângela de Jesus; MARTINS, Gabriela Botelho. Avaliação in vitro do potencial erosivo e cariogênico de antifúngicos tópicos. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, [S.L.], v. 17, n. 3, p. 315, 18 dez. 2018. Universidade Federal da Bahia. <http://dx.doi.org/10.9771/cmbio.v17i3.28668>.

DOS SANTOS, A. G. dos *et al.* The molecular mechanism of Nystatin action is dependent on the membrane biophysical properties and lipid composition. **Physical Chemistry Chemical Physics**, [S.L.], v. 19, n. 44, p. 30078-30088, 2017. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c7cp05353c>.

DrugBank 4.3, 2021. Disponível em: <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00646>. Acesso em: 01 junho 2021.

FAGUNDES, F. M. Estudo da Estabilidade da Suspensão Constituinte do Fluido BrMul/Petrobras. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2015.

FARMACOPEIA BRASILEIRA, 6. ed. Brasília: Agência de Vigilância Sanitária/Fundação Oswaldo Cruz, 2019, volume 2, p. 1156-1158.

FARMACOPEIA BRASILEIRA, 6. ed. Brasília: Agência de Vigilância Sanitária/Fundação Oswaldo Cruz, 2019, volume 2, p. 1156, 1158.

FERREIRA, A. O. Guia Prático da Farmácia Magistral. Boas Práticas de Manipulação. Juiz de Fora, 2000. p.159-197.

FONSECA-SANTOS, Bruno; CHORILLI, Marlus. An overview of polymeric dosage forms in buccal drug delivery: State of art, design of formulations and their performance evaluation. **Mater Sci Eng C**, v. 1, n. 86, p. 129-143, may. 2018.

GANDHI, R. B.; ROBINSON, J. R. Oral cavity as a site for bioadhesive drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 13, n. 1–2, p. 43–74, 1994.

GILMAN, A. G.; HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E. As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 10.ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2003.

GUIMARÃES, L. F. L.; COLLINS, C. H. Cromatografia líquida de alta eficiência. In: COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. Introdução a métodos cromatográficos. São Paulo: Ed. Unicamp, 1997. p. 183-195.

HU, Lijun *et al.* Characterization of oral candidiasis and the Candida species profile in patients with oral mucosal diseases. **Microbial Pathogenesis**, [S.L.], v. 134, p. 103575, set. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103575>.

IGLESIAS, Nieves *et al.* In-Depth Study into Polymeric Materials in Low-Density Gastroretentive Formulations. **Pharmaceutics**, [S.L.], v. 12, n. 7, p. 636, 7 jul. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics12070636>.

ISLAM, M. T.; HORNEDO, N. R.; CIOTTI, S.; ACKERMANN, C. Rheological Characterization of Topical Carbomer Gels Neutralized to Different pH. **Pharmaceutical Research**, Vol 21, No 7. 2004.

KANIS, Luiz Alberto. **ESTUDO DAS PROPRIEDADES DE BLENDAS POLI(OXIETILENO)/CARBOPOL**. 1998. 72 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1998.

KHUTORZYANSKIY, V. V. Advances in mucoadhesion and mucoadhesive polymers. **Macromolecular Bioscience**, v. 11, n. 6, p. 748-764, 2011.

KNORST MT. Desenvolvimento tecnológico de forma farmacêutica plástica contendo extrato concentrado de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae – Marcela. [Dissertação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 1991.

KOŁOCZEKA, Przemysław *et al.* Polymeric micelle-mediated delivery of half-sandwich ruthenium(II) complexes with phosphanes derived from fluoroquinolones for lung adenocarcinoma treatment. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 128, p. 69-81, July. 2018.

KONELL, Camila Fernanda. **DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE CLORIDRATO DE QUITOSANA CONTENDO NISTATINA VISANDO A LIBERAÇÃO TÓPICA**. 2014. 114 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

LACERDA, Maria Carolina Santa Rita *et al.* Caracterização da saúde bucal de indivíduos renais crônicos aptos a transplante. **Revista de Od**, Maceió, v. 44, n. 5, p. 292-298, set. 2015.

LAFFLEUR, F. Mucoadhesive therapeutic compositions: a patent review (2011- 2014). **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v. 26, n. 3, p. 377-388, 2016.

LAVRA, Zênia Maria Maciel *et al.* Desenvolvimento e validação de método analítico para Nistatina creme vaginal por cromatografia líquida de alta eficiência. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, [S.L.], v. 44, n. 4, p. 637-643, dez. 2008. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-93322008000400010>.

MARTÍN-VILLENA, M. J. et al. Novel microparticulate system for the vaginal delivery of nystatin: development and characterization. *Carbohydrate Polymer*, v. 94, p. 1-11, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.01.005>.

MERCLIN, N.; BRAMER, T.; EDSMAN, K. Iontophoretic delivery of 5-aminolevulinic acid and its methyl ester using a carbopol gel as vehicle. *J. of Controlled Release*, v. 98, p. 57-65, 2004.

OLIVEIRA, Paulo Renato de. **Desenvolvimento tecnológico e avaliação in vitro de matrizes hidrofílicas de Norfloxacinó contendo polioxietileno e hidropropilmetilcelulose**. 2010. 178 f. Tese (Doutorado) - Curso de Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

OSTROSKY-ZEICHNER, L. *et al.* (2000) Abstracts of the 40th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, **American Society for Microbiology**, Washington, DC. 2000.

PAULA, J. A. M.; GUILHERME, L.; AMARAL, V. C. S. **Ciências da saúde**. Anápolis: Editora Universidade Estadual de Goiás, 2019.

PEDROSO, Carmen Rosa Jamil. **Doseamento microbiológico de Nistatina**: desenvolvimento e validação de método empregando leitura cinética em microplaca. 2014. 92 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Departamento de Farmácia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

PEREIRINHA, R. R. **Desenvolvimento De Sistemas Mucoadesivos Para a Administração Controlada De Fármacos**. Coimbra: Universidade de Coimbra, 2014.

PETERSON, D.e.; BENSADOUN, R.-J.; ROILA, F.. Management of oral and gastrointestinal mucositis: esmo clinical practice guidelines. *Annals Of Oncology*, [S.L.], v. 22, p. 78-84, set. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1093/annonc/mdr391>.

QUEIROZ, Maria Bernadete Rodrigues. **DESENVOLVIMENTO E ESTUDO DA ESTABILIDADE DE GEL COM EXTRATO DE *Matricaria recutita* (L.) E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA TÓPICA COMPARADA COM GEL DE DICLOFENACO SÓDICO**. 2008. 121 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências da Saúde, Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

RABER-DURLACHER, Judith E.; ELAD, Sharon; BARASCH, Andrei. Oral mucositis. *Oral Oncology*, v. 46, n. 7, p. 452-456. 2010.

RAJARAM, D. M.; LAXMAN, S. D. Buccal Mucoadhesive Films: A Review. *Systematic Reviews in Pharmacy*, v. 8, n. 1, 2017.

RECHIA, Letícia Mello. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de gel a base de extrato de *Melissa Officinalis* L.** 2010. 128 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Programa de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

REGINATO, Bruna Mota. **Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas poliméricas com propriedades mucoadesivas para administração oral de Zidovudina**. 2014. 61 f. TCC (Graduação) - Curso de Farmácia-Bioquímica, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2014.

ROWE, R. C. et al. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 6. ed. London: Pharmaceutical Press, 2003.

SAKEER, K. *et al.* Enhancement of dissolution of nystatin from buccoadhesive tablets containing various surfactants and a solid dispersion formulation. **Archives of Pharmacal Research**. v. 33, n. 11, p. 1771-1779, 2010.

SALAMAT-MILLER, N.; CHITTCHANG, M.; JOHNSTON, T. P. The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, n. 11, p. 1666–1691, 2005.

SILVA, Filipa Cosme *et al.* Nystatin and lidocaine pastilles for the local treatment of oral mucositis. **Pharmaceutical Development And Technology**, [S.L.], v. 22, n. 2, p. 266-274, 30 ago. 2016. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10837450.2016.1221424>.

SILVA, Kelle Oliveira *et al.* Conduta de pacientes oncológicos com mucosites orais quanto ao tratamento farmacológico e não farmacológico. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Vitória da Conquista, v. 15, n. 3, p. 375, 15 dez. 2016. Universidade Federal da Bahia. <http://dx.doi.org/10.9771/cmbio.v15i3.17354>.

SILVA, Liana *et al.* Competitive Binding of Cholesterol and Ergosterol to the Polyene Antibiotic Nystatin. A Fluorescence Study. **Biophysical Journal**, [S.L.], v. 90, n. 10, p. 3625-3631, maio 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1529/biophysj.105.075408>.

SIMÕES, Cristiane Araújo; CASTRO, Jurema Freire Lisboa de; CAZAL, Claudia. Candida Oral como Fator Agravante da Mucosite Radioinduzida. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Recife, v. 57, n. 1, p. 23-29, nov. 2011.

SINGH, N., SCULLY, C., JOYSTON-BECHAL, S. Oral Complications of Cancer Therapies: Prevention and Management. **Clinical Oncology**. 1996; 8: 15-24.

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

SUNG, Hyuna *et al.* Global Cancer Statistics 2020: globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, [S.L.], v. 71, n. 3, p. 209-249, 4 fev. 2021. <http://dx.doi.org/10.3322/caac.21660>.

THIRAWONG, N.; THONGBORISUTE, J.; TAKEUCHI, H.; SRIAMORNSAK, P. Improved intestinal absorption of calcitonin by mucoadhesive delivery of novel pectin–liposome nanocomplexes. **Journal of Controlled Release**, v. 125, n. 3, p. 236-245, Fev. 2008.

VILLANOVA, J. C. O.; ORÉFICE, R. L.; CUNHA, A. S.. Aplicações Farmacêuticas de Polímeros. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Carlos, v. 20, n. 1, p. 51-64, 2010.

VLAIA, Lavinia *et al.* Cellulose-Derivatives-Based Hydrogels as Vehicles for Dermal and Transdermal Drug Delivery. **Emerging Concepts In Analysis And Applications Of Hydrogels**, [S.L.], p. 159-200, 24 ago. 2016. InTech. <http://dx.doi.org/10.5772/63953>.

WILSON, Phyllis *et al.* Liquid Chromatographic Determination of Nystatin in Pharmaceutical Preparations. **Journal Of Aoac International**, New York, v. 84, n. 4, p. 1050-1055, mar. 2001.

World Health Organization. Handbook for reporting results of cancer treatment. Geneve.: World Health Organization. 1979:15–22.

YAMASAKI, Masahiro *et al.* Effects and Mechanisms of Action of Polyene Macrolide Antibiotic Nystatin on *Babesia gibsoni* In Vitro. **Journal Of Parasitology**, [S.L.], v. 97, n. 6, p. 1190-1192, dez. 2011. American Society of Parasitologists. <http://dx.doi.org/10.1645/ge-2799.1>.