

## DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS MUCOADESIVOS PARA A ADMINISTRAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS

Patrícia Raquel Ribeiro Pereirinha<sup>1</sup>, Ana Rita Ramalho Figueiras<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Farmácia, Pólo das Ciências da Saúde, Universidade de Coimbra, Portugal

\*rfigueiras@ff.uc.pt

### RESUMO

O termo mucoadesão descreve a ligação bioadesiva que se estabelece entre um sistema mucoadesivo e a camada de muco que reveste a superfície das mucosas. Para que esta ligação ocorra, é necessário o estabelecimento de um contato íntimo entre estes dois meios, com a consequente interpenetração das cadeias do polímero na camada de muco e posterior formação de ligações interfaciais, nomeadamente ligações físicas e químicas. A incorporação de fármacos em sistemas mucoadesivos, visa potencializar o efeito terapêutico dos mesmos. Estes sistemas mucoadesivos, visa potencializar o efeito terapêutico dos mesmos. Estes sistemas permanecem em contato com o tecido de absorção, as mucosas, durante mais tempo, libertando o fármaco no local de ação, com o consequente aumento da sua biodisponibilidade, promovendo os efeitos locais e sistémicos pretendidos. O mecanismo de mucoadesão não está ainda completamente compreendido. Atualmente existem várias teorias elucidativas, entre elas a teoria eletrónica, da adsorção, de difusão e do intumescimento. Os derivados do ácido poliacrílico, celulose e quitosana, são alguns exemplos de polímeros utilizados em sistemas mucoadesivos de 1<sup>o</sup> geração, sendo a principal desvantagem associada à sua utilização, o estabelecimento de interações não específicas com as diversas mucosas. Com o intuito de ultrapassar este obstáculo foram desenvolvidos os sistemas mucoadesivos de 2<sup>o</sup> geração, que apresentam inúmeras vantagens relativamente aos polímeros mucoadesivos de 1<sup>o</sup> geração, nomeadamente a capacidade de reconhecerem e se ligarem a estruturas biológicas alvo específico.

**Palavras-chave:** Mucoadesão; Polímeros; Drug Delivery Systems.

### ABSTRACT

Mucoadhesion describes the mechanism of bioadhesive between a mucoadhesive system and the mucus layer, which covers mucosal surfaces. The it will be possible the interpenetration of the polymer chains into to the mucus layer and the formation of interfacial bonds, like physical and chemical bonds. The drugs incorporation in these new mucoadhesive systems, intends to increase their therapeutic effect. These systems remain on a lengthy contact with the absorption tissue, namely the mucis layer, releasing the drug and consequently increeasing it bioavailability, and, reaching the local and systemic desired effects. The mechanism of mucoadhesion is not yet completely understood, howevwe currently exist different theories, such as electronic, adsorption, wettability and diffusion, these theories are used to explain this mechanism. Polyacrylic acid derivatives, cellulose derivatives and chitosan, are some examples of polymers, used to produce first generation mucadhesive systems. The main drewback of this generation of polymers is the lack of specificity for the different mucus layers. To overcome this limitation, the second generation of mucoadhsive systems was designed. They present several advantages when compared with polymers of first generation, namely they are capable of recognizing and binding to specific biological structures.

**Keywords:** mucoadhesion; polymers; Drug Delivery Systems.

## INTRODUÇÃO

O conceito de mucoadesão surgiu pela primeira vez no início de 1980, como uma alternativa promissora para a liberação controlada de fármacos.

Inicialmente o termo bioadesão foi utilizado para definir a ligação de macromoléculas naturais ou sintéticas a um substrato biológico. Quando o substrato em causa é uma membrana biológica revestida por muco, as interações desenvolvem-se diretamente com a mucosa, passando a designar-se por mucoadesão. A transposição para sistemas de administração de fármacos implica a ligação do sistema transportador a um substrato biológico específico, sendo este o revestimento mucoso existente à superfície dos tecidos (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007; SHAIKH et al., 2011).

A mucoadesão pode resolver muitos dos problemas relacionados com a administração de fármacos, na medida em que permite localizar o fármaco numa região alvo específica, e assim melhorar a sua biodisponibilidade, através do estabelecimento de fortes interações entre o polímero e o muco, incrementando o tempo de contato entre as duas superfícies, e por fim conduzindo à inibição da metabolização enzimática do fármaco numa área localizada (BERNKOP-SCHNÜRCH, 2005).

Apesar da investigação neste campo ainda se encontrar num estadio preliminar, vários esforços têm sido feitos no sentido de aumentar a capacidade mucoadesiva destes polímeros, permitindo desenvolver novos sistemas mucoadesivos com uma libertação vetorizada para as diversas mucosas, como a gastrointestinal, pulmonar, orofaríngea, ocular, bucal, nasal, vaginal e rectal (SOUTO & LOPES, 2011).

## 2. Sistemas mucoadesivos

### 2.1. Definição de mucoadesão

Para uma melhor compreensão dos conceitos de mucoadesão e bioadesão é necessário considerar a existência de quatro tipos de bioadesão nos sistemas biológicos: 1) a adesão entre duas células fisiologicamente normais; 2) a adesão de uma célula a uma substância estranha; 3) a adesão de uma célula normal a uma célula patológica e 4) a adesão de um material adesivo a um substrato biológico.

É importante denotar, que bioadesão e mucoadesão não têm estritamente o mesmo significado. Bioadesão descreve a adesão por um longo período de tempo através de forças interfaciais entre dois materiais, em que pelo menos um é biológico. Ao aplicarmos este conceito

à administração de fármacos, o substrato biológico onde se irá ligar o sistema transportador do fármaco, poderá ser o tecido epitelial ou a camada de muco que reveste a superfície de um tecido. Neste último caso, torna-se mais correto a aplicação do termo mucoadesão (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007; SHAIKH et al., 2011).

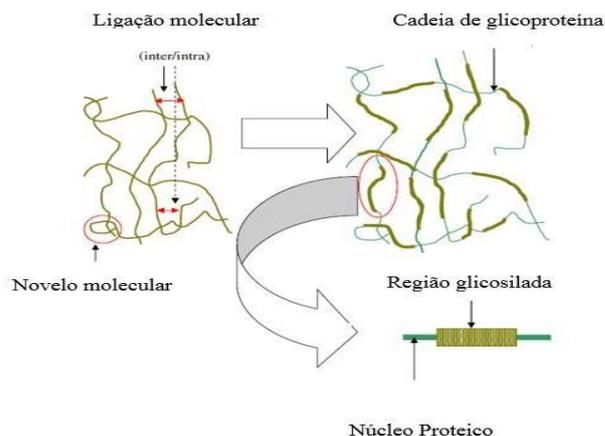
### 2.2. Muco

O muco não é mais do que um produto biológico, com um aspeto viscoso e heterogêneo, que reveste na grande maioria as superfícies epiteliais do nosso organismo, com a principal função de lubrificar, minimizando o shear stress, bem como constitui uma excelente barreira protetora contra substâncias estranhas prejudiciais ao organismo.

Relativamente à sua constituição, a água representa mais de 95% do seu peso, sendo o restante correspondente a sais inorgânicos, hidratos de carbono, lípidos e glicoproteínas.

Com especial relevância na sua composição, destacam-se as mucinas, que são glicoproteínas que não representam mais do que 5% do peso total do muco, sendo responsáveis pela sua consistência de gel. As mucinas são formadas por um núcleo proteico, do qual se ramificam cadeias de oligossacáridos (Figura1).

**Figura 1. Composição e interação das cadeias de glicoproteínas no interior do muco.**



Fonte: ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009.

Estas ramificações conferem-lhe uma maior solubilidade aquosa, e têm uma ação protetora sobre o núcleo proteico contra a degradação proteolítica. As cadeias de oligossacáridos apresentam normalmente um comprimento entre 2 a 19 monómeros, sendo que a fucose, o ácido siálico, os ésteres de sulfato de galactose e N-acetilglucosamina constituem os grupos terminais. O núcleo proteico é essencialmente composto por

aminoácidos, nomeadamente, a serina e a treonina.

A ligação entre estes aminoácidos e as ramificações de oligossacáridos é estabelecida através de ligações O-glicosídeas, isto é, através do estabelecimento de uma ligação éter entre o grupo hidroxilo do monossacarídeo N-acetilglucosamina e o grupo hidroxilo dos aminoácidos serina ou treonina. Os principais monossacarídeos presentes são a galactose, a fucose, a N-acetilglucosamina, o ácido siálico e a N-acetilgalactosamina.

O muco é armazenado em grânulos na zona apical das células de Goblet, podendo ser libertado por exocitose ou esfoliação celular. Curiosamente, de acordo com a necessidade e rapidez de libertação de muco, estas células conseguem garantir uma secreção basal, caracterizada por uma libertação contínua, não regulada. Este mecanismo permite a formação de um filme contínuo de muco na superfície das mucosas. Aquando da presença de estímulos extracelulares, as células de Goblet são ativadas, ocorrendo exocitose regulada dos grânulos com a consequente libertação de muco para o exterior.

A produção do muco pode ser influenciada por inúmeros fatores, desde a idade, sexo, localização corporal ou até mesmo a presença de estados patológicos (SERRA, DOMÉNECH & PEPPAS, 2009; CARVALHO, BRUSCHI, & EVANGELISTA, 2010; ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009).

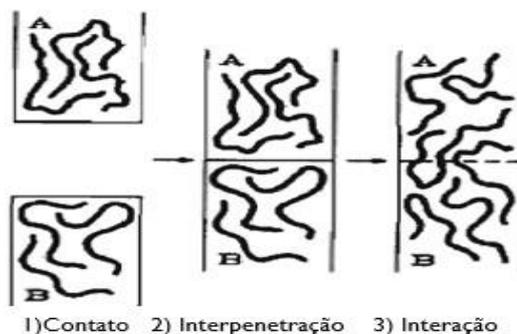
### 2.3 Mecanismos de ação

Para desenvolver e produzir de forma racional polímeros mucoadesivos, é fundamental o conhecimento das forças e mecanismos responsáveis pelo estabelecimento da ligação mucoadesiva. Apesar do mecanismo responsável não se encontrar completamente descrito de forma singular, é essencial, uma visão aprofundada das principais forças envolvidas.

Desta forma podemos distinguir três etapas fundamentais, que se encontram esquematizadas na Figura 2: 1) o estabelecimento de um contato íntimo entre o sistema mucoadesivo e a camada de muco, o que permite a mistura de ambos, conduzindo à intumescência e consequente desenrolamento das cadeias poliméricas; 2) seguidamente ocorre a interpenetração das cadeias poliméricas bioadesivas desenroladas, no interior da rede glicoproteica do muco (nesta etapa, é essencial que o polímero apresente uma boa capacidade de intumescimento); 3) por último, após o estabelecimento do contato íntimo, ocorre a formação de ligações interfaciais entre as cadeias poliméricas e a rede glicoproteica de muco

(SERRA, DOMÉNECH & PEPPAS, 2009; CARVALHO, BRUSCHI, & EVANGELISTA, 2010; ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009).

**Figura 2. Esquema elucidativo do mecanismo de interpenetração das cadeias poliméricas (A) com a estrutura glicoproteica do muco (B) durante o mecanismo de mucoadesão.**



Fonte: FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007.

### 2.4 Estabelecimento da ligação mucoadesiva

As interações que se estabelecem entre as cadeias poliméricas e o muco podem ser classificadas em três tipos.

As ligações físicas que permitem o estabelecimento de uma ligação entre as superfícies de contato, pois implicam a interpenetração das cadeias poliméricas na rede glicoproteica de muco, ou seja, o estabelecimento de interações com as mucinas, o que corresponde à fase de interpenetração, como descrito anteriormente no ponto ii). Este fenómeno depende da flexibilidade das cadeias do polímero e do seu coeficiente de difusão. Após esta fase, estabelecem-se ligações químicas, podendo estas ser primárias ou secundárias.

As ligações químicas secundárias são ligações fracas individualmente, mas que no conjunto podem estabelecer uma ligação mais forte mediante o estabelecimento de vários locais de interação. Este tipo de ligação inclui as interações electroestáticas, hidrofóbicas e de Van der Waals, bem como as ligações iónicas e as de hidrogénio. As ligações de hidrogénio são provavelmente as ligações secundárias mais relevantes para a mucoadesão, sendo que os principais grupos funcionais envolvidos são grupos hidroxilo, carboxilo, sulfatos e grupos amina.

Por fim, as ligações químicas primárias fortes, ou ligações covalentes. São ligações de carácter permanente, o que pode ser promissor, embora existam alguns fatores limitantes. Dado que a maioria das células epiteliais sofrem esfoliação a cada 3 a 4 dias, as ligações permanentes estabelecidas com o epitélio podem não garantir assim, uma retenção permanente. A

biocompatibilidade deste tipo de ligações com o material biológico ainda não foi completamente investigada, pelo que existe a possibilidade de surgirem problemas de incompatibilidade. (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007; SOUTO & LOPES, 2011; SERRA, DOMÉNECH & PEPPAS, 2009; CARVALHO, BRUSCHI, & EVANGELISTA, 2010; ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009; SMART, 2005).

### 3. Teorias elucidativas do mecanismo de mucoadesão

Várias teorias têm sido apresentadas com o intuito de explicar o mecanismo mucoadesivo. Contudo devido à sua complexidade, não existe uma teoria universalmente estabelecida e aceite. Consequentemente, a mucoadesão é interpretada como um fenómeno múltiplo, cujo mecanismo de ação se encontra associado a várias teorias. Assim sendo, não existe apenas uma teoria explicativa das inúmeras interações que constituem a ligação mucoadesiva, e como tal estas não devem ser consideradas individualmente, mas sim em conjunto (SOUTO & LOPES, 2011; SERRA, DOMÉNECH & PEPPAS, 2009; ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009).

#### 3.1 Teoria do intumescimento

A teoria do intumescimento é provavelmente uma das mais antigas. Esta teoria é suportada pela capacidade do material mucoadesivo se espalhar sobre o correspondente substrato, desenvolvendo um contato íntimo com o mesmo, e intumescer, permitindo que as cadeias do polímero se desenrolem e penetrem nas irregularidades da superfície da mucosa, tornando-se rígidas e ligando-se à superfície da mesma.

Esta teoria aplica-se maioritariamente a sistemas mucoadesivos líquidos e/ou de baixa viscosidade, analisando as tensões superficiais que se estabelecem na interface dos mesmos. Permite avaliar a capacidade de expansão do polímero, nomeadamente o seu coeficiente de expansão sobre o tecido biológico, de forma a estimar a capacidade da pasta ou líquido se propagar ao longo da superfície biológica, e prevendo assim a intensidade da ligação mucoadesiva (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007; SHAIKH et al., 2011; SOUTO & LOPES, 2011; SERRA, DOMÉNECH & PEPPAS, 2009; CARVALHO, BRUSCHI, & EVANGELISTA, 2010; ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009).

#### 3.2 Teoria da difusão

Proposta por Voyutskii, esta teoria sugere que a formação de ligações bioadesivas semi permanentes se deve ao desenrolamento e consequente interpenetração das cadeias do polímero bioadesivo nas cadeias glicoproteicas do muco. A força de ligação aumenta com o grau de penetração, tendo sido sugerido que o valor ideal para produzir uma ligação eficiente se situa entre 0,2 e 0,5  $\mu\text{m}$ . Segundo esta teoria, a força de ligação máxima é alcançada quando a profundidade de penetração é igual à distância entre o final de ambas as cadeias poliméricas. Contudo, embora seja reconhecido que um polímero com cadeias longas permita uma melhor difusão e interpenetração, é necessário que o comprimento das cadeias seja pelo menos de 100.000 Da, para se obter a desejada interligação molecular.

São vários os fatores envolvidos neste processo, nomeadamente, o peso molecular (PM), a densidade, a mobilidade/flexibilidade das cadeias, a temperatura, a capacidade de expansão de ambos os meios, o gradiente de concentração estabelecido, os respetivos coeficientes de difusão e o grau de cross-linking, sendo que um elevado grau diminuirá a mobilidade do polímero, o que se traduz numa menor penetração interfacial.

Além disso, é importante uma boa solubilidade de um dos componentes no outro, para que ocorra a difusão, bem como o polímero e a rede glicoproteica de muco devem apresentar uma estrutura química similar, para que seja estabelecida uma ligação mucoadesiva forte. É razoável afirmar, que a máxima difusão e força bioadesiva podem ser atingidas quando a solubilidade do polímero e das glicoproteínas do muco é idêntica. Quando o polímero mucoadesivo, é colocado em contato com o muco, o gradiente de concentração na interface provoca a difusão espontânea das cadeias poliméricas no muco, e o oposto também ocorre. Dependendo do gradiente de concentração das cadeias e do coeficiente de difusão das macromoléculas poliméricas, o ratio de difusão pode variar (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007; SHAIKH et al., 2011; SOUTO & LOPES, 2011; SERRA, DOMÉNECH & PEPPAS, 2009; CARVALHO, BRUSCHI, & EVANGELISTA, 2010; ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009).

#### 3.3 Teoria eletrónica

Esta teoria foi proposta por Derjaguin e Surilfa. Estes autores assumiram que o polímero mucoadesivo e as glicoproteínas do muco apresentam diferentes estruturas eletrónicas. Quando ambos são colocados em contato, na tentativa de equilibrar o nível de Fermi, há a transferência de eletrões, culminando na formação

de uma dupla camada eletrônica na interface. As forças atrativas que se estabelecem ao longo da dupla camada elétrica são consideradas responsáveis pela força adesiva formada entre o muco e o polímero mucoadesivo. Contudo, esta teoria tem sofrido inúmeras críticas, dado que é controverso se as forças electroestáticas são a causa ou o resultado do contato que se estabelece entre o substrato biológico e o material bioadesivo (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007; SHAIKH et al., 2011; SOUTO & LOPES, 2011; SERRA, DOMÉNECH & PEPPAS, 2009; CARVALHO, BRUSCHI, & EVANGELISTA, 2010; ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009).

### 3.4 Teoria da adsorção

Proposta por Kemball e Huntsberger, é atualmente a teoria mais difundida e estudada. Segundo esta teoria, após o contato inicial, as duas superfícies aderem devido a forças superficiais estabelecidas entre os átomos de ambas as estruturas.

Defende que a ligação adesiva que se forma é devido a uma ou mais forças secundárias, como ligações de hidrogénio, hidrófobas, interações de Van Der Waals, forças electroestáticas e outras forças relacionadas com as anteriores, permitindo que a adesão ocorra, podendo designar-se por quimioadsorção, um subtipo de adsorção estabelecida através de ligações químicas secundárias. Apesar de isoladamente estas interações apresentarem um carácter fraco, um dado número de interações conjuntas pode produzir uma força mucoadesiva suficientemente intensa (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007; SHAIKH et al., 2011; SOUTO & LOPES, 2011; SERRA, DOMÉNECH & PEPPAS, 2009; CARVALHO, BRUSCHI, & EVANGELISTA, 2010; ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009).

### 4. Vantagens dos sistemas mucoadesivos

Os sistemas mucoadesivos possuem diversas vantagens que fomentam a sua utilização quando comparados com os sistemas de administração de fármacos convencionais, entre as quais, as principais são: aumento do tempo de residência que está associado ao estabelecimento do contato íntimo, melhorando a permeabilidade dos tecidos, potenciando a absorção e aumento da biodisponibilidade do fármaco, permitindo assim o uso de baixas concentrações de fármaco no tratamento<sup>9</sup>; vectorização do fármaco para um local ou tecido alvo específico (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007; CHOWDARY & RAO, 2004); libertação controlada do fármaco (ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009); ausência

de inativação devido ao metabolismo de 1<sup>o</sup> passagem (ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009); diminuição dos efeitos secundários dose dependentes (LYRA et al., 2007); aumento da viabilidade de vias de administração alternativas à via parentérica e perioral (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007); promoção da absorção ou inibição da metabolização enzimática do fármaco numa área localizada (ex.: inibição de proteases ou de outras enzimas e a modulação da expressão imunológica) (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007; CHOWDARY & RAO, 2004); redução da frequência das doses, podendo a administração noturna ser evitada (CHOWDARY & RAO, 2004; LYRA et al., 2007); manutenção do nível terapêutico com baixas oscilações, evitando subníveis terapêuticos (LYRA et al., 2007); redução dos níveis tóxicos e do aparecimento de efeitos colaterais locais e sistémicos (LYRA et al., 2007); aumento das concentrações plasmáticas de fármacos com tempo de meia vida plasmática relativamente curta (LYRA et al., 2007); maior segurança na utilização de alguns fármacos de elevada potência<sup>10</sup>; melhor compliance (LYRA et al., 2007).

### 5. Desvantagens dos sistemas mucoadesivos

Apesar da grande utilidade destes sistemas, existem algumas desvantagens que podem limitar a sua aplicação, entre elas destacam-se as seguintes: não são aplicáveis para fármacos com baixo tempo de meia vida, de difícil absorção no TGI e muito potentes; impossibilidade de interrupção imediata do efeito terapêutico em caso de intoxicação ou intolerância; risco de acumulação no organismo de fármacos com velocidade de eliminação baixa; dificuldade de adaptação da posologia às diferentes farmacocinéticas individuais (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007).

### 6. Fatores que influenciam o mecanismo de mucoadesão

Diversos fatores afetam a mucoadesão, não só inerentes às propriedades dos polímeros utilizados, mas também relacionados com as características fisiológicas do meio envolvente. O impacto destes fatores deve ser considerado, para que o sistema mucoadesivo seja o mais eficiente possível.

#### 6.1. Fatores relacionados com o polímero mucoadesivo

- Peso molecular: O mecanismo de interpenetração das moléculas poliméricas é

favorecido para moléculas de baixo peso-molecular (PM), na medida em que PMs elevados favorecem o enrolamento das cadeias poliméricas. O valor de PM para obter o máximo de adesão depende não só deste parâmetro mas também do tipo de polímero. Como exemplo pode referir-se o ácido poliacrílico, para este polímero os melhores índices de mucoadesão foram obtidos para baixos valores de PM, verificando-se o oposto para a carboximetilcelulose (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007; SHAIKH et al., 2011; SOUTO & LOPES, 2011; CARVALHO, BRUSCHI, & EVANGELISTA, 2010; ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009).

- **Concentração do polímero ativo:** Estudos realizados indicam a existência de uma concentração ideal de polímero capaz de produzir o máximo de bioadesão, concentração esta, que depende do estado físico do sistema mucoadesivo. Nos sistemas líquidos, é requerida uma concentração ótima para cada polímero, acima da qual há uma diminuição significativa da força adesiva, porque nestas soluções concentradas, as moléculas adquirem uma conformação que as torna menos favoráveis à hidratação, diminuindo a flexibilidade das cadeias poliméricas, o que conduz à redução dos grupos funcionais disponíveis para estabelecer interação com a mucina. No caso dos sistemas mucoadesivos sólidos, quanto maior a concentração do polímero, melhor o desempenho mucoadesivo (ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009; SHAIKH et al., 2011; SOUTO & LOPES, 2011).

- **Flexibilidade das cadeias poliméricas:** Quando os polímeros são excessivamente solúveis em água adquirem a capacidade de formar ligações cruzadas. Quando a densidade dessas ligações aumenta, há diminuição da mobilidade das mesmas, bem como do comprimento efetivo das cadeias que penetram na rede de muco, verificando-se uma diminuição da força mucoadesiva (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007; SOUTO & LOPES, 2011).

- **Conformação espacial:** A conformação linear é a ideal, pois permite igual exposição dos grupos funcionais responsáveis pela adesão. Ao invés, a conformação helicoidal pode conduzir a uma diminuição da força mucoadesiva, de muitos grupos funcionais responsáveis pela adesão, devido ao possível efeito protetor sobre os mesmos. Tal facto pode ser observado ao comparar polímeros como o dextrano (PM:19,500,000) e o polietilenoglicol (PM: 200,000), com PMs bastante divergentes, mas com uma força mucoadesiva muito idêntica, devido ao primeiro apresentar uma conformação helicoidal e o segundo linear (FIGUEIRAS, CARVALHO &

VEIGA, 2007; SHAIKH et al., 2011; SOUTO & LOPES, 2011).

- **Reticulação ou “Cross-linking”:** Este fenómeno é definido como o estabelecimento de ligações cruzadas entre os grupos funcionais do polímero, fomentado por agentes externos físicos ou químicos. Relativamente à sua influência na capacidade mucoadesiva, verifica-se que para polímeros com elevado grau de “cross-linking”, o grau de intumescência é menor porque a difusão do fluído ocorre a menor velocidade e extensão, diminuindo a liberdade para as cadeias poliméricas interpenetrarem nas cadeias glicoproteicas de muco. Ou seja o “cross-linking” é inversamente proporcional ao grau de intumescência. Contudo se o grau de intumescência é elevado, o polímero mucoadesivo torna-se demasiado “escorregadio” e é facilmente removido. A mucoadesão nestes polímeros pode ser melhorada pela inclusão de promotores de adesão, nomeadamente, cadeias poliméricas livres (ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009; SOUTO & LOPES, 2011; SHAIKH et al., 2011).

- **Estrutura do polímero:** Polímeros que possuem grupos tióis interagem através de pontes dissulfito com as glicoproteínas do muco, enquanto polímeros contendo ácidos carboxílicos, grupos amina e hidroxilo estabelecem maioritariamente ligações de hidrogénio. A presença de grupos ionizáveis a pH fisiológico pode constituir uma fonte adicional de interação química, através do estabelecimento de ligações electroestáticas com os resíduos glicoproteicos do muco carregados negativamente (SOUTO & LOPES, 2011).

- **Grau de intumescência:** As características de intumescência estão relacionadas com o próprio polímero e o ambiente envolvente. A presença de grupos carboxilo e hidroxilo no polímero permite o estabelecimento de ligações de hidrogénio com o substrato, aumentando assim o carácter hidrofílico e provocando a intumescência do polímero. Esta expansão permite o desenrolamento das cadeias poliméricas, aumentando a sua flexibilidade e permitindo que os grupos funcionais responsáveis pelas interações fiquem livres, potenciando assim a sua penetração e posterior adesão (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007; SHAIKH et al., 2011; ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009).

## 6.2. Fatores relacionados com o ambiente

- **pH:** Este parâmetro possui um efeito significativo na mucoadesão, porque influencia a densidade de carga à superfície do muco, devido à dissociação dos grupos funcionais presentes nos hidratos de carbono e nos aminoácidos. Relativamente aos polímeros, a carga destes é determinada pela carga dos seus grupos

funcionais, que varia consoante os valores de pH. Como exemplo temos o ácido poliacrílico, que apresenta um pKa de 4.75. Para valores de pH inferiores a 4.75 apresenta um caráter neutro, enquanto para valores superiores a 4.75 possui densidade de carga negativa (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007; SHAIKH et al., 2011; ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009).

- Espessura do muco: Uma boa hidratação do muco contribui para a hidratação do polímero. Por outro lado, a desidratação da camada de muco conduz ao aumento das suas propriedades coesivas e adesivas. Relativamente à espessura do muco, quanto maior a espessura da camada de muco, maior a disponibilidade dos vários grupos funcionais para estabelecer interações, para além de que uma maior profundidade favorece a difusão das cadeias poliméricas (SOUTO & LOPES, 2011).

- Quantidade de fluido gastrointestinal: Os sistemas mucoadesivos sólidos para administração oral necessitam de uma boa hidratação para poderem interagir com o muco que reveste a mucosa do TGI, sendo relevante à quantidade de fluido presente. A máxima mucoadesão está relacionada com um volume ideal de água, visto que uma incompleta hidratação leva a uma fraca exposição dos grupos funcionais, mas uma excessiva hidratação provoca uma diminuição da coesão do polímero, facilitando a sua remoção (SOUTO & LOPES, 2011; VARUM et al., 2008).

- Força aplicada e tempo inicial de contato: A pressão inicialmente aplicada pode afetar o grau de interpenetração das cadeias poliméricas no muco. Uma pressão elevada durante um longo período de tempo, pode fazer com que o polímero não estabeleça interações atrativas com a mucina. Por outro lado, o tempo inicial de contato influencia o grau de intumescência e de interpenetração das cadeias poliméricas. Um aumento do tempo inicial de contato, leva ao aumento da força mucoadesiva, no entanto estudos realizados demonstram que tempos de contato muito longos podem colocar em risco a viabilidade do tecido em causa (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007; SHAIKH et al., 2011).

- Tempo de renovação da mucina: O turnover do muco é de cerca de 6 horas, acabando por limitar o tempo de residência dos sistemas mucoadesivos na camada de muco, bem como resulta numa amostra substancial de moléculas de mucina solúveis que interagem com os sistemas mucoadesivos, mas que primeiro entram em contato com a camada de muco, criando um superfície obstrutiva, desfavorável à mucoadesão (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007; ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009).

- Condições patológicas: É essencial não esquecer que estes sistemas destinam-se a tratar

diversas situações patológicas, que são inerentes a provocar alterações estruturais e funcionais nas glicoproteínas do muco, e/ou alterações fisiológicas. A viscosidade do muco varia consoante a zona do corpo. Em certas doenças, a viscosidade encontra-se diminuída, resultando numa ligação fraca entre o muco e o polímero, dificultando a retenção do sistema mucoadesivo. Contrariamente, a presença de células mortas ou mediadores inflamatórios provoca um aumento da viscosidade do muco que limita o grau de interpenetração.

Como exemplo, os doentes com colite ulcerosa apresentam uma redução das células de Goblet, responsável por uma diminuição da camada de muco que reveste a mucosa. Tanto na doença de Crohn como na colite ulcerosa, foi evidenciado uma diferença no comprimento das cadeias proteicas e no grau de glicosilação das glicoproteínas. Tais alterações são suscetíveis de alterar a viscosidade e as propriedades ligantes do muco, bem como causarem uma diminuição da sua ação protetora (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007; SOUTO & LOPES, 2011; ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009).

## 7. Polímeros mucoadesivos

Consistem em macromoléculas hidrofílicas, detentoras de vários grupos funcionais, nomeadamente grupos carboxílicos, hidroxílicos, aminas e amidas entre outros, aptos a estabelecerem ligações de hidrogénio, sofrendo hidratação e intumescência quando colocadas, em contato com uma solução aquosa.

Para adquirirem as propriedades mucoadesivas necessitam de hidratar, mas um excesso de água origina a formação de uma mucilagem escorregadia, com conseqüente diminuição das propriedades adesivas e aumento da facilidade de remoção do polímero mucoadesivo.

Recentemente os polímeros tiolados (tiómeros), o quitosano e os derivados do ácido poliacrílico demonstraram um efeito promotor da absorção. Tal efeito, deve-se à capacidade destes materiais de quelarem o ião cálcio, diminuindo a integridade das junções tipo "tight", e conseqüentemente, aumentando a permeabilidade da via paracelular para as macromoléculas (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007; SOUTO & LOPES, 2011; ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009).

### 7.1. Características de um polímero mucoadesivo ideal

A escolha criteriosa do polímero mucoadesivo é fundamental para o sucesso do

sistema mucoadesivo desenvolvido. Entre as várias especificações necessárias, as seguintes são as de maior relevância: adequada tensão superficial; natureza predominantemente aniônica; elevado peso molecular (> 100 000); flexibilidade adequada; conformação preferencialmente linear; o polímero e os seus produtos de degradação não devem ser tóxicos; não devem ser irritantes para a membrana das mucosas; não devem ser absorvidos pelo trato gastrointestinal; devem aderir rapidamente ao tecido húmido; devem possuir alguma especificidade local; não devem decompor-se durante o tempo de armazenamento da forma farmacêutica; devem permitir uma fácil incorporação do fármaco; não devem causar qualquer impedimento à libertação do fármaco (SOUTO & LOPES, 2011).

## 7.2. Polímeros de primeira geração

A maioria dos polímeros mucoadesivos adere à mucosa através do estabelecimento de ligações não específicas. Estes materiais não são seletivos na adesão a diferentes regiões do trato gastrointestinal, se considerarmos a administração oral. Contudo, as propriedades fisiológicas do trato gastrointestinal (Ex: pH, renovação do muco, volume de fluidos, viscosidade, etc.) podem influenciar o perfil mucoadesivo destes materiais. Os polímeros que intumescem e se dissolvem ao fim de algum tempo, apresentam uma capacidade mucoadesiva limitada devido à sua baixa velocidade de dissolução, enquanto outros de acordo com o seu grau de reticulação, intumescem, mas a sua adesão é limitada pela renovação do muco (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007; SOUTO & LOPES, 2011; ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009).

### 7.2.1. Polímeros Sintéticos

- Derivados do ácido poliacrílico: São polímeros aniônicos, caracterizados pela presença de grupos carboxilo e sulfato, que são responsáveis pela carga negativa a valores de pH superiores ao pKa destes grupos funcionais. Devido à presença de cross-linking na sua estrutura, são insolúveis em água mas são capazes de incorporá-la de uma forma limitada, adquirindo a consistência de um hidrogel. O seu tempo de residência depende essencialmente do turnover do muco e/ou da descamação das células. O ácido poliacrílico apresenta excelentes propriedades mucoadesivas devido à sua capacidade de formação de ligações de hidrogénio fortes com a mucina. Quando se encontra no estado hidratado, as suas cadeias tornam-se flexíveis, o que lhes confere pouca ou quase

nenhuma abrasividade sobre os tecidos, diminuindo o dano devido à fricção, e adquirindo um caráter biocompatível.

A maioria dos seus derivados é insolúvel em água, exemplo do policarbofil, insolúvel em meio aquoso, no entanto apresenta uma grande capacidade de absorção de água (aumentando a sua massa cerca de 100 vezes) a pH neutro, formando um gel viscoso que favorece a inclusão no muco. Os seus grupos carboxilo não ionizados permitem a ligação com a superfície da mucosa através da formação de ligações de hidrogénio.

O carbopol, carregado negativamente, estabelece a ligação mucoadesiva através de um processo físico-químico, em que a formação de interações hidrofóbicas, ligações de hidrogénio e forças de Van der Waals, são influenciadas pelo pH e força iónica.

Estes derivados possuem a capacidade de interagir com os iões zinco, cobalto e cálcio estruturalmente presentes em algumas enzimas proteolíticas, como a tripsina e quimiotripsina, provocando uma alteração conformacional e subsequentemente perda de atividade. Contudo a interação com o cálcio pode levar a coagulação e precipitação, causando uma redução nas propriedades mucoadesivas. Os derivados do ácido poliacrílico estão disponíveis em vários pesos moleculares, sendo facilmente modificáveis, não irritantes, não tóxicos e consideravelmente seguros para uso oral segundo a FDA.1,4,5,6,7,9 (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007; SOUTO & LOPES, 2011; SERRA, DOMÉNECH & PEPPAS, 2009; CARVALHO, BRUSCHI, & EVANGELISTA, 2010; ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009; CHOWDARY & RAO, 2004).

### 7.2.2. Polímeros semi-sintéticos

- Derivados da celulose: A carboximetilcelulose de sódio (NaCMC) consiste no sal sódico do éter policarboximetilcelulose, apresentando propriedades ligantes e gelificantes, bem como um bom desempenho mucoadesivo. Também pertence à classe dos polímeros aniônicos, formando uma ligação mucoadesiva forte devido à formação de ligações de hidrogénio entre os grupos carboxilo não ionizados com a mucina. Apresenta também fraca toxicidade, entre outras características idênticas às dos derivados do ácido poliacrílico (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007; SOUTO & LOPES, 2011; SERRA, DOMÉNECH & PEPPAS, 2009; CARVALHO, BRUSCHI, & EVANGELISTA, 2010; ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009; CHOWDARY & RAO, 2004).

- Quitosano: O quitosano tem sido o polímero mucoadesivo indiscutivelmente mais

investigado. Define-se como um polissacarídeo catiónico produzido pela desacetilação da quitina. É muito utilizado devido à sua notável biocompatibilidade, biodegradação e propriedades toxicológicas negligenciáveis. Estabelece a ligação mucoadesiva através da formação de interações electrostáticas, entre os grupos amina e as subunidades de ácido siálico do muco, para além de possíveis interações de hidrogénio entre o muco e os grupos amino e hidroxilo. Como referido anteriormente, a sua conformação linear permite uma excelente flexibilidade das suas cadeias, e consequente interpenetração.

Estudos realizados demonstraram que o quitosano além de propriedades mucoadesivas apresenta capacidade de potenciar a absorção de fármacos hidrofílicos através da via paracelular, no entanto, o maior benefício da sua utilização provém da facilidade com que vários grupos químicos podem ser adicionados, em particular na posição C2. Contudo, é um polímero hidrofílico, que devido à sua capacidade de intumescimento pode sofrer dissolução completa. Também possui atividade inibitória proteolítica, sendo que muitos dos seus conjugados, tal como o quitosano-EDTA (ácido etilenodiaminotetracético), têm um efeito mais pronunciado devido à notória capacidade quelante do EDTA (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007; SOUTO & LOPES, 2011; CARVALHO, BRUSCHI, & EVANGELISTA, 2010; ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009; CHOWDARY & RAO, 2004; PATEL, PATEL & PATEL, 2010).

### 7.3. Polímeros de segunda geração

A principal desvantagem dos sistemas mucoadesivos tradicionais é a sua não especificidade, isto é, estabelecem interações mucoadesivas não específicas com várias mucosas, para além do alvo terapêutico desejado. Vários estudos demonstraram que pequenas moléculas biológicas têm capacidade de reconhecer e ligarem-se a estruturas biológicas alvo específicas, existentes à superfície das células ou no muco, permitindo-lhe adquirir a designação de “bioadesivos específicos”. Qualquer ligando com grande afinidade para a mucina ou para estruturas celulares específicas pode ser ligado covalentemente ao polímero, de forma a direcionar o sistema mucoadesivo para o alvo pretendido.

Assim surgiram os polímeros mucoadesivos de 2<sup>o</sup> geração, desenvolvidos na tentativa de melhorar a capacidade e especificidade mucoadesiva. Os polímeros de 2<sup>o</sup> geração devem possuir as seguintes características: incorporação de fármacos solúveis em água e/ou óleo,

permitindo a administração prolongada de fármaco; inibição local enzimática, ou promoção da absorção; capacidade de ligação específica a um alvo celular; capacidade de estabelecer ligações específicas, estimulando a endocitose; elevada margem de segurança a nível local e sistémico; boas propriedades mucoadesivas em formas sólidas e líquidas (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007; SOUTO & LOPES, 2011; CARVALHO, BRUSCHI, & EVANGELISTA, 2010; ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009; CHOWDARY & RAO, 2004).

#### 7.3.1. Lectinas

Estes polímeros de segunda geração são resultantes da conjugação com lectinas, que possuem um papel importante no reconhecimento biológico entre células e proteínas. Estas podem definir-se como glicoproteínas de origem natural e não imunológica, com a capacidade de reconhecerem e se ligarem, de forma específica e reversível aos hidratos de carbono dos complexos glicoconjugados da membrana celular, sem provocarem alterações na estrutura covalente dos ligandos glicosil reconhecidos, podendo-se este tipo específico de bioadesão ser designado por citoadesão.

As lectinas são capazes de reconhecer resíduos de N-acetilglucosamina, N-acetilgalactosamina, galactose, frutose e ácido siálico. Este reconhecimento é responsável pela bioadesão e posterior internalização celular. Estruturalmente são proteínas diméricas, compostas por duas subunidades, A e B, ligadas por uma ponte dissulfureto. A cadeia B está relacionada com a adesão e entrada na célula, enquanto a cadeia A relaciona-se com a toxicidade.

Após o primeiro contato, as lectinas podem permanecer ligadas à mucosa, ou em caso de uma adesão mediada por recetores, podem ser internalizadas via endocitose lisossomal, permitindo uma libertação vetorizada do fármaco no alvo terapêutico específico.

Existe uma grande variedade de lectinas disponíveis para interagir com resíduos de açúcar específicos, através de interações secundárias (fracas). Estas moléculas têm vindo a ser consideradas como uma interessante ferramenta na libertação vetorizada de macromoléculas. Apesar de a sua aplicação ser vantajosa, muitas das lectinas são tóxicas e imunogénicas e o efeito de uma exposição repetida é desconhecido. Com o intuito de ultrapassar esta possível limitação das lectinas de origem natural, têm sido desenvolvidas moléculas de estrutura semelhante, que tomam a designação de lectionomiméticos (FIGUEIRAS,

CARVALHO & VEIGA, 2007; SOUTO & LOPES, 2011; CARVALHO, BRUSCHI, & EVANGELISTA, 2010; ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009; CHOWDARY & RAO, 2004).

### 7.3.2. Proteínas fimbrias

Na opinião de Bernkop-Schnurch e colaboradores, a patogenicidade das bactérias, poderá estar relacionada com a capacidade das mesmas de aderirem à superfície epitelial do trato gastrointestinal através de fimbrias.

Estes elementos bacterianos são descritos como longas proteínas muito semelhantes às lectinas, existentes à superfície de diversas bactérias.

Atualmente sabe-se que a formulação de sistemas de administração de fármacos com base em fatores bacterianos de adesão (fimbrias) pode apresentar-se como um método eficiente no aumento da adesão e da especificidade para a superfície epitelial alvo.

A proteína de adesão *K99-fimbriae*, derivada da *E.coli*, foi covalentemente ligada ao ácido poliacrílico. A formulação polímero-fimbria demonstrou um significativo aumento da adesão *in vitro* quando comparado com o polímero não modificado (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007; SOUTO & LOPES, 2011; ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009; CHOWDARY & RAO, 2004).

### 7.3.3. Sequência de Aminoácidos

Certos aminoácidos possuem sequências complementares a cadeias de aminoácidos presentes à superfície das mucosas ou das membranas celulares. Devido a esta especificidade podem ser acopladas à superfície de sistemas mucoadesivos determinando a especificidade de ligação com as glicoproteínas da membrana celular de um tecido alvo específico.

Em diversos estados patológicos estas glicoproteínas encontram-se alteradas, pelo que se torna necessário desenvolver sequências de aminoácidos complementares adequadas, contudo o maior obstáculo consiste em saber quais as proteínas que se encontram alteradas (CARVALHO, BRUSCHI, & EVANGELISTA, 2010; CHOWDARY & RAO, 2004).

### 7.3.4. Anticorpos

Os anticorpos devido à sua grande especificidade, representam uma escolha racional de ligandos para diversos polímeros mucoadesivos. Estes podem ser produzidos seletivamente contra moléculas presentes às

superfícies das células, permitindo a produção de sistemas mucoadesivos direcionados para um tecido alvo específico.

Em título de exemplo, foram desenvolvidas microesferas bioadesivas através de ésteres do ácido hialurônico, aos quais se associou o ligando LKT 63, um adjuvante da mucosa. As microesferas foram administradas *intra* nasalmente, despoletando um aumento substancial da concentração sérica do anticorpo IgG em comparação com a imunização intramuscular com hemaglutinina obtida com o vírus Influenza A (ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009; CHOWDARY & RAO, 2004).

### 7.3.5. Tiómeros

Os polímeros tiolados ou tiómeros, consistem em polímeros mucoadesivos, que possuem grupos tiol (SH) nas suas cadeias laterais, como ilustrado na Figura 3.

Os autores que descobriram estes polímeros começaram por verificar que a cisteína se ligava covalentemente aos polímeros, como a CMCNa ou PCP, através de uma ligação amida entre o grupo amina primário do aminoácido e o grupo ácido carboxílico do polímero em questão. O mecanismo de ação destes polímeros, consiste na formação de ligações dissulfito, ligações covalente, entre os grupos sulfidrilo/tiol dos tiómeros e os domínios ricos em cisteína das glicoproteínas do muco, como indicado na Figura 3.

Ocorre também a formação de ligações dissulfito cruzadas entre grupos tióis de cadeias poliméricas "vizinhas", cross-linking, culminando com a formação de uma malha polimérica fechada, em volta da camada de muco, criando uma ligação mais coesa, e assim mais forte.

A ligação covalente estabelecida resulta da oxidação de grupos tiol livres ou de reações de troca tiol/dissulfito entre os tiómeros e os domínios ricos em cisteína presentes na mucina. Desta forma, os tiómeros mimetizam o mecanismo natural das glicoproteínas do muco, que também se encontram ligadas covalentemente na camada de muco através de ligações dissulfito. Para além da ligação covalente, a presença de outros grupos nas cadeias do polímero auxiliam no estabelecimento de ligações adicionais não covalentes, que irão contribuir para um melhor desempenho mucoadesiva.

A imobilização dos grupos tiol é bastante vantajosa, dado que se verifica um aumento da estabilidade, devido à formação das ligações dissulfito entre as cadeias dos polímeros conjugados, originando um aumento da coesividade do sistema. Por outro lado, há um aumento da força mucoadesiva em comparação

com o polímero não modificado, devido à formação de ligações covalentes adicionais entre os grupos tióis do polímero e a camada de muco, garantindo assim a localização e permanência do sistema no local alvo durante um período de tempo superior.

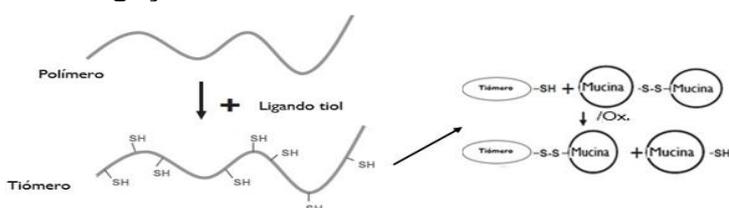
Do ponto de vista toxicológico, representam excipientes mais seguros dado a sua elevada massa molecular, prevenindo o rápido uptake membranar, quando comparados com os frequentes potenciadores de permeação, que dado o seu baixo PM são facilmente absorvidos. Adicionalmente promovem a permeação através do muco, por um mecanismo de regeneração do glutatião.

O tiómeros têm a capacidade de promover a absorção, devido à quelatação de cálcio, reduzindo a integridade das junções tipo "tight", resultando no aumento da permeabilidade através da via paracelular de macromoléculas.

Os tiómeros são potentes inibidores da grande maioria das enzimas proteolíticas associadas às membranas celulares ou secretadas, cujo co-fator é o íon  $Zn^{2+}$  ou  $Mg^{2+}$ , porque os grupos tiol conseguem quelar estes íons. Devido a este efeito inibitório, os tiómeros permitem um aumento significativo da biodisponibilidade de fármacos suscetíveis a esta degradação proteolítica. Pode-se destacar o derivado tiolado do polícarbofil, que demonstrou ser vantajoso na administração oral de peptídeos, tais como a heparina.

As interações dissulfito estabelecidas são menos suscetíveis às variações de pH e força iônica. A presença destas ligações altera significativamente o mecanismo de libertação do fármaco, devido ao aumento da rigidez e a ocorrência de *cross-linking*. Assim a libertação controlada do fármaco ocorre essencialmente através de um mecanismo de difusão (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007; BERNKOP-SCHNÜRCH, 2005; ANDREWS, LAVERTY & JONES, 2009; BERNKOP-SCHNÜRCH, 2005; KUMAR & SINHA, 2013; Thiomers, 2014; BERNKOP-SCHNÜRCH, KAST & GUGGI, 2003; MATHIOWITZ et al., 1999).

**Figura 3. Produção de um tiómero e formação da ligação dissulfito.**



Fonte: BERNKOP-SCHNÜRCH, 2005.

Parâmetros que afetam as propriedades dos tiómeros:

- Imobilização do grupo tiol: Quanto maior a imobilização, melhor será a mucoadesão, pois os grupos livres disponíveis para estabelecerem ligações covalentes aumentam, potenciando a coesão, estabilidade e adesão (BERNKOP-SCHNÜRCH, 2005).

- Índice de Intumescimento: A tiomerização aumenta a captação de água, aumentando a viscosidade que é responsável por um aumento do tempo de retenção do sistema na superfície da mucosa (BERNKOP-SCHNÜRCH, 2005).

- pH e caracter iônico: Os grupos tiol são mais suscetíveis à oxidação a  $pH > 5$ . Quando se pretende diminuir a formação de ligações dissulfito, os tiómeros devem ser produzidos em condições de baixo pH. A presença de cargas catiônicas providencia uma excelente interação com as cargas negativas da mucina, fortalecendo a mucoadesão e potenciando a permeação, devido a uma certa reorganização estrutural. Para os grupos tiol dentro da malha do polímero, o pH do polímero tem maior relevância (BERNKOP-SCHNÜRCH, 2005).

A camada mucosa, tem um pH que ronda os 7, valor em que a maioria dos grupos tiol penetrantes na camada, estão suficientemente reativos, sofrendo oxidação, formando ligações dissulfito inter e intramoleculares e adquirindo consistência de gel (BERNKOP-SCHNÜRCH, 2005).

- Cross-linking: As ligações dissulfito formadas entre cadeias do polímero durante e após a interpenetração, conferem âncoras adicionais, tornando a ligação mucoadesiva mais forte e coesa (BERNKOP-SCHNÜRCH, 2005).

### 7.3.5.1. Classificação dos tiómeros

- Tiómeros Catiônicos: São usualmente os preferidos devido à forte força de atração que estabelecem com a carga negativa das mucinas. A maioria dos tiómeros catiônicos tem como esqueleto o quitosano, em que a amina primária na posição C2 das subunidades de glucosamina é o local preferencial para imobilização dos grupos tiol, sendo os ligandos mais comumente imobilizados a cisteína, o ácido tioglicólico (TGA) e a 4-tio-butilamidina (TBA).

A preferência pelo quitosano deve-se essencialmente à sua tolerabilidade, propriedades bioadesivas, hidrofília e uma boa capacidade de se espalhar sobre os vários tecidos.

Os polímeros conjugados com TBA demonstraram uma forte ligação mucoadesiva, e in situ uma excelente consistência em gel a pH fisiológico, permitindo uma libertação controlada melhorada, comparativamente com os polímeros não modificados. Resultados idênticos foram obtidos

nos conjugados liofilizados de TGA (BERNKOP-SCHNÜRCH, 2005; KUMAR & SINHA, 2013).

- **Tiómeros Aniônicos:** O grupo carboxilo dos polímeros aniônicos, representa a localização preferida para a conjugação do grupo tiol, através da formação de uma ligação amida. Os ligandos sulfidrilo, comumente utilizados nestes polímeros, são a cisteína, a homocisteína e a cisteamina.

Como exemplo, o alginato de sódio, um dos polímeros aniônicos de origem natural mais utilizado, devido às suas propriedades coesivas e adesivas, estabilidade e libertação controlada, as quais são bastante potenciadas, após tiomerização com a cisteína, comparativamente ao alginato de sódio não modificado. Inicialmente o grupo carboxílico do alginato é ativado pela adição da carboimida, seguindo-se a reação com o grupo amina da L- cisteína em condições ácidas. Resultando a formação de uma ligação amida (covalente) entre a amina primária do grupo tiol (cisteína) e o grupo carboxílico do polímero.

Outro exemplo de polímero natural cujas propriedades foram aumentadas após tiomerização é o ácido hialurônico, que fisiologicamente sofre uma rápida degradação enzimática. Neste polímero foi produzida uma ligação cruzada com o etil éster da L-cisteína, a qual permitiu um aumento da capacidade mucoadesiva e melhoria do perfil de libertação controlada. Também foi observada uma lenta biodegradação, como consequência da ligação dissulfito formada in situ. Muitos outros polímeros aniônicos, como o ácido poliacrílico, o policarbofil ou a CMC, quando conjugados com a cisteína, apresentaram uma melhoria acentuada das suas propriedades mucoadesivas (BERNKOP-SCHNÜRCH, 2005; KUMAR & SINHA, 2013).

- **Tiómeros Não iônicos:** Apesar de os tíómeros aniônicos e catiónicos possuírem propriedades interessantes, o carácter iónico, limita a sua versatilidade, devido a problemas de incompatibilidade com fármacos de carga oposta, libertação de fármaco pH dependente e fraca extensão de cross-linking. Assim os tíómeros com polímeros não ionizáveis, surgem como uma possível solução alternativa para estes problemas. Entre os quais surgem como exemplo o polietilenoglicol (PEG) ou a hidroxietilcelulose (HEC) (KUMAR & SINHA, 2013).

### 7.3.5.2. Tiómeros Pré-ativados

Durante a síntese dos tíómeros pode ocorrer à oxidação dos grupos tiol livres, via formação de ligações dissulfito, aquando a sua síntese a pH > 5, constituindo um fator limitante, dado que atenua a sua eficácia. Isto pode ser

minimizado, mantendo condições inertes ou utilizando agentes redutores durante a síntese.

Para dar resposta a esta dificuldade, foram desenvolvidos os Tiómeros Pré-ativados, através da imobilização de polímeros bem conhecidos via ligações dissulfito, resultando na formação de produtos com elevada estabilidade, pois o objetivo visa estabilizar ou aumentar as propriedades mucoadesivas e coesivas numa variada gama de valores de pH (anexo2).

Para uma melhor elucidação, o tíómero pré ativado PAA-Cis-2-MNA, foi preparado por oxidação e acoplamento do conjugado ácido poliacrílico-cisteína (PAA-Cis) com o ácido 2-mercaptocotínico (2MNA). Como resultado, o conjugado obtido, apresentou uma maior capacidade de intumescimento e mucoadesão, em oposição com o tíómero não modificado (BERNKOP-SCHNÜRCH, 2005; KUMAR & SINHA, 2013; IQBAL et al., 2012).

### 7.3.6. Polímeros PEGuilados

A conjugação de polímeros mucoadesivos com moléculas de polietilenoglicol (PEG) tem vindo a ser uma estratégia potenciadora da capacidade mucoadesiva de formulações orais. Esta modificação resulta num melhor difusão e interpenetração das cadeias poliméricas na superfície da mucosa (SOUTO & LOPES, 2011).

### 7.3.7. Co-polímeros HPMA

Comparativamente aos restantes sistemas mucoadesivos, formulações contendo este polímero N-(2-Hidroxipropil) metacrilamida (HPMA), para além de uma boa capacidade mucoadesiva, apresentam especificidade para o cólon. Tais conclusões foram obtidas, através da conjugação com vários hidratos de carbono, desde galactosamina, fucosilamina, glucosamina e manosamina, avaliando o seu potencial mucoadesivo em porções do intestino delgado e cólon. Os estudos realizados permitiram observar uma maior mucoadesão no cólon, com os polímeros conjugados com fucosilamina (SOUTO & LOPES, 2011).

## 8. Aplicações terapêuticas

A libertação controlada característica dos sistemas mucoadesivos permite uma vasta aplicação em diversas áreas terapêuticas de interesse. Em seguida, serão descritas três possíveis aplicações terapêuticas em estudo.

### 8.1 Comprimidos mucoadesivos para aplicação vaginal

A candidíase vulvovaginal representa a patologia ginecológica mais frequente, sendo a *Candida Albicans*, o principal agente responsável. Os compostos imidazólicos, comumente utilizados são o nitrato de econazole (EN) e o nitrato de miconazole (MN).

Segundo Baloglu et al, o objetivo deste estudo foi desenvolver uma matriz antifúngica de aplicação vaginal, usando um tiómero como polímero mucoadesivo, por forma a avaliar as repercussões do polímero modificado no grau de intumescência, propriedades mucoadesivas e avaliação da libertação do fármaco e tempo de residência no local de aplicação, através de estudos in vitro.

O tiómero do ácido poliacrílico-cisteína (PAA-Cis) foi sintetizado a, através da formação de uma ligação amida entre o grupo amina primário da L-Cisteína e o grupo carboxilo do polímero. Os comprimidos vaginais foram preparados por compressão direta. Foi realizado o controlo de qualidade, no qual os valores de friabilidade foram considerados aceitáveis. Nos estudos de desintegração, os sistemas de EN e MN preparados com PAA dissolveram-se completamente ao final de  $5.40 \pm 1.14$ h e  $5.16 \pm 0.87$ h, respetivamente, utilizando como meio de dissolução um fluido vaginal artificial. Por outro lado, os sistemas de PAA-Cis, demoraram mais de 120h a dissolver, ou seja cerca de 24 vezes mais quando comparados com os sistemas contendo apenas PAA. Tal aspeto foi atribuído à ocorrência de cross-linking, resultando na formação de ligações dissulfito inter e intramoleculares, permitindo aumentar a coesão e estabilidade do sistema mucoadesivo desenvolvido (BALOGLU et al., 2011).

Relativamente à capacidade de incorporação de água, os DDS de PAA-Cis, começaram a captar água logo após a sua imersão no fluido vaginal artificial. O peso dos sistemas EN+PAA-Cis e MN+PAA-Cis aumentou continuamente durante 24h, sendo a maior variação do peso devido à incorporação de água, de  $7.53 \pm 0.28$  e  $8.19 \pm 0.64$ , respetivamente. Por outro lado os sistemas EN+PAA e MN+PAA atingiram o limite de incorporação de água após 2h, onde os valores máximos para esta variação foram apenas de  $2.38 \pm 0.68$  e  $1.99 \pm 0.43$ , respetivamente. Os DDS contendo polímero não modificado dissolveram-se em cerca de 7 h, enquanto os sistemas contendo tiómeros mantiveram a sua integridade durante 24h.

No que concerne à força mucoadesiva, o trabalho de adesão, fornece uma melhor perceção da separação dos dois meios, representando todas as ligações estabelecidas. O maior trabalho de

adesão foi obtido para as formulações contendo o tiómero.

Foram também realizados estudos de mucoadesão ex vivo. Os resultados destes estudos mostraram que o tempo de mucoadesão obtido para os sistemas EN+PAA, EN+PAA-Cis, MN+PAA e MN+PAA-Cis foi de  $4.66 \pm 0.76$ ,  $20 \pm 3.46$ ,  $5.33 \pm 1.04$  e  $17.83 \pm 5.39$  h, respetivamente (BALOGLU et al., 2011).

Nos estudos de libertação de fármaco, nos DDS contendo EN+PAA e MN+PAA, foi observada uma rápida libertação, em menos de 2 h, sendo que todo o conteúdo foi libertado em menos de 24h. Em comparação, os sistemas com PAA-Cis, demoraram cerca de 5 dias a libertar cerca de 50% de fármaco.

Deste estudo os autores concluíram com os resultados apresentados, que formulações de PAA-Cis potenciam as propriedades mucoadesivas dos comprimidos vaginais. A intumescência e tempo de desintegração aumentaram, permitindo uma libertação controlada do fármaco. Assim verificou-se que a formulação de EN ou MN contendo PAA-Cis constitui um bom candidato para o desenvolvimento de um sistema mucoadesivo, dado que prolonga o tempo de residência do fármaco no alvo terapêutico (vagina), aumentando a compliance, devido à diminuição da frequência das doses administradas (BALOGLU et al., 2011).

## 8.2 Sistema mucoadesivo para administração de insulina

A administração oral de insulina poderia apresentar uma significativa melhoria na qualidade de vida dos doentes diabéticos, no entanto, encontra um dos maiores obstáculos fundamentalmente na baixa biodisponibilidade oral devido à forte degradação proteolítica, dificultando a sua absorção intestinal.

Desta forma, Bernkop-Schnürch et al., (2003), desenvolveram e avaliaram um novo sistema contendo três camadas para libertação oral de insulina, com base em polímeros mucoadesivos, que têm sido descritos como transportadores eficientes de fármacos que apresentam baixa absorção oral. Para tal, foram utilizados o carbopol e o policarbofil, que permitem aumentar a absorção intestinal de peptídeos, através da redução da atividade proteolítica das enzimas tanto do lúmen intestinal como das membranas, e também pela abertura das junções tipo "tight".

Neste estudo, o polímero eleito foi o policarbofil tiolado, dado que além das suas propriedades mucoadesivas, funciona como um potenciador da permeação paracelular e um

inibidor enzimático. Esta formulação de administração oral de insulina é constituída por multicamadas, contendo uma matriz polimérica e um revestimento em que a dissolução é dependente do pH (Eudragit L100-55). Tal aspeto permite garantir o transporte intato através do estômago recorrendo a uma camada insolúvel em água (etilcelulose), que representa a ferramenta essencial na proteção contra a hidrólise enzimática e difusão da insulina no lúmen intestinal.

Nos estudos *in vitro*, foi observado que apenas ocorreu libertação de insulina após o comprimido ter sido colocado em pH alcalino, onde o revestimento de Eudragit, se dissolveu permitindo a libertação da insulina da matriz. O perfil de libertação da insulina durante um período de 6 horas indicou uma libertação controlada. Ao fim das primeiras 3 horas de incubação em pH intestinal, cerca de  $74.6 \pm 4.8\%$  da quantidade de insulina total tinha sido libertada, tendo sido posteriormente atingida uma fase plateau. Durante toda a experiência a forma do sistema manteve-se, demonstrando a eficácia da etilcelulose (GRABOVAC, FÖGER & BERNKOP-SCHNÜRCH, 2012).

Nos estudos *in vivo*, os sistemas foram administrados oralmente a ratos não diabéticos e conscientes. Como controlo foi utilizado uma solução oral de insulina. Após administração, a redução dos níveis de glucose, e aumento da concentração plasmática de insulina foram medidos. Constatou-se que após 6 horas, o sistema dividiu-se em dois, que acabaram por aderir ao lúmen do intestino permitindo uma dupla superfície de difusão. Mais uma vez conclui-se que a libertação de insulina, apenas se iniciou, ao pH intestinal. Ao fim de 6-8 h, os níveis de glucose diminuíram cerca de 31.6% relativamente aos valores iniciais, mantendo-se por várias horas e evidenciando que a insulina é libertada e absorvida na sua forma ativa. Opostamente, com a solução oral de insulina, não houve alterações significativas nos níveis de glucose. Observou-se um aumento imediato da concentração de insulina no soro (32.6 ng/ml) após injeção subcutânea. Em comparação, a administração oral do sistema mucoadesivo, levou a um aumento da concentração até 17.5 ng/ml após 8 h de aplicação. Os resultados demonstraram um aumento significativo de insulina no soro, 4 horas após a sua administração, estando em concordância com os resultados dos níveis de glucose sanguíneos observados. Em paralelo, tanto a concentração de insulina constante bem como a diminuição de glucose no plasma, foram mantidas durante 6h.

Resumidamente, os autores concluíram que o conjugado PCP- cisteína, apresenta excelentes capacidades mucoadesivas, bem como promoveu

um aumento do transporte paracelular da insulina. As matrizes produzidas permitiram um aumento da concentração local do fármaco e proteção da insulina contra a atividade proteolítica intestinal (GRABOVAC, FÖGER & BERNKOP-SCHNÜRCH, 2012).

### **8.3 Nanopartículas mucoadesivas para vacinação nasal**

A imunização através das mucosas, particularmente da mucosa nasal, apresenta-se como uma alternativa interessante à imunização *via parenteral*. Com o sistema ideal é possível estimular tanto a imunidade sistémica como a das mucosas simultaneamente. O epitélio nasal é constituído por células especializadas em captar antigénios, as células M, que se sobrepõem ao tecido linfóide nasal (NALT), resultando na recolha de antigénios e posterior indução da imunização a nível sistémico e local. A coexistência de uma alta densidade de células dendríticas ajuda na potenciação dessa mesma resposta. O maior obstáculo, consiste em perfurar a barreira mucosa, apresentar eficazmente o antigénio, e superar a tolerância natural das mucosas.

Neste estudo, levado a cabo por Pawar et al., encapsulou-se o antigénio de superfície do vírus da Hepatite B (HBsAg) em nanopartículas (NPs) de ácido glicólico polilático (PLGA), em Nps de PLGA revestidas com quitosano (C-PLGA), e em Nps de PLGA revestidas com quitosano glicosilado (GC-PLGA), com a posterior avaliação da desempenho mucoadesiva *in vitro*, clearance nasal, recaptação sistémica e biodistribuição (PAWAR et al., 2013).

O revestimento das Nps, foi utilizado como uma tentativa de diminuir a clearance nasal, aumentado assim o tempo de residência das mesmas. O revestimento com quitosano glicosilado constituiu a parte da formulação na qual recaiu uma maior atenção neste estudo, visto que há indícios de ter contribuído para ultrapassar a fraca solubilidade aquosa, potenciar a absorção de fármacos pouco solúveis, bem como a estabilização estérica.

O perfil de libertação *in vitro*, indicou uma libertação inicial rápida do antigénio, sendo o restante libertado de forma controlada. Relativamente à toxicidade *in vitro*, nenhuma das formulações demonstrou toxicidade na linha celular Calu-3, obtendo-se resultados similares com concentrações mais elevadas das NPs de GC-PLGA, C-PLGA e PLGA. A adsorção às moléculas de mucina, também foi avaliada, destacando-se a formulação de GC-PLGA (81.4%) em comparação com 54.7% obtido para a formulação de C-PLGA (PAWAR et al., 2013).

No que concerne aos estudos in vivo, realizados em ratos brancos machos da Nova Zelândia, o objetivo visava avaliar a clearance nasal do antigénio HBsAg livre, relativamente à sua encapsulação em Nps de PLGA, C-PLGA e GC-PLGA. Os resultados obtidos demonstraram uma maior retenção nasal do antigénio com as Nps de C-PLGA e GC-PLGA, destacando-se as Nps de GC-PLGA. Para corroborar estes dados, avaliou-se o uptake nasal e deposição nas NALT de um corante (FITC-BSA), comparativamente às Nps de PLGA e C- PLGA e GC-PLGA através de microscopia de fluorescência. O corante não emitiu fluorescência ao contrário das Nps de PLGA que sofreram uptake em pequena extensão. As Nps de GC-PLGA demonstraram melhores resultados do que as Nps de C-PLGA e PLGA, devido a um maior tempo de residência na cavidade nasal, consequência da sua melhor capacidade mucoadesiva (PAWAR et al., 2013).

A imunização intranasal em ratos fêmea BALB/c com 8-10 semanas foi também avaliada. Aquando a administração isolada do antigénio, o grau de imunização atingido foi mínimo. No entanto, a administração do antigénio HBsAg através de Nps de PLGA, GC-PLGA e C- PLGA, despoletou uma produção de anticorpos muito maior, destacando-se as Nps de GC- PLGA.

Deste estudo foi possível concluir que GC-PLGA, representa o revestimento mais adequado para formular nanopartículas de forma a obter uma vacina para administração nasal de aplicação única, dado que despoletou uma resposta imune mais forte, provavelmente associada a uma melhor capacidade mucoadesiva, melhorando o tempo de residência na cavidade nasal e assim, promovendo um melhor e maior uptake do antigénio.

Relativamente ao nível de biodistribuição, foi observado um maior transporte do antigénio através da mucosa nasal, na circulação sistémica e em vários tecidos, o que poderá desencadear uma maior imunização após a sua administração nasal (PAWAR et al., 2013).

## 9. Conclusão

São vários os alicerces que incentivam a investigação dos sistemas mucoadesivos, entre eles o aumento do tempo de permanência do fármaco no local de absorção, a diminuição da frequência de administração, a diminuição da atividade enzimática, a maior especificidade bem como uma melhor compliance por parte do doente.

A formulação destes sistemas é crítica, tendo em conta os diversos procedimentos envolvidos, desde a seleção e desenvolvimento do polímero, até aos fatores ambientais envolventes. Existem várias escolhas possíveis de polímeros

mucoadesivos, desde os de primeira geração, com destaque para os derivados do ácido poliacrílico, derivados da celulose, quitosano até aos mais recentes sistemas de 2º geração, tais como tiómeros, lectinas, entre outros, caracterizados pela formação de ligações covalentes e uma melhor performance mucoadesiva.

Concluindo, descrever a mucoadesão como um mecanismo único e individual é incorreto, se considerarmos as diferentes etapas e interações necessárias para que esta ocorra. Durante o desenvolvimento de um sistema mucoadesivo é obrigatório compreender detalhadamente cada uma das fases do processo para que seja possível encontrar as soluções terapêuticas sistémicas ou locais mais eficazes a um custo financeiro acessível.

## 10. Perspetivas futuras

A aplicação de sistemas mucoadesivos possui um grande potencial como estratégia para ultrapassar muitos dos obstáculos das terapêuticas atuais, considerando os resultados promissores dos estudos in vitro e in vivo, utilizando modelos animais.

Atualmente já se encontram disponíveis comprimidos mucoadesivos bucais, nomeadamente Loramyc 50 mg, indicado para o tratamento da candidíase orofaríngea em doentes imunodeprimidos, e o Aftach 0,025 mg, indicado no tratamento da estomatite aftosa.

Na tentativa de dar resposta aos atuais desafios terapêuticos e melhorar o desempenho das formulações mucoadesivas, vários estudos têm sido realizados com o objetivo de explorar novos materiais ou modificar os já existentes. A grande promessa atualmente são os polímeros de 2º geração, que têm demonstrado uma interessante melhoria das propriedades mucoadesivas. A combinação desta estratégia juntamente com os emergentes sistemas de micro e nanoencapsulação representa uma alternativa aos sistemas terapêuticos convencionais que deve ser considerada.

Os sistemas mucoadesivos representam um área bastante promissora, mas que necessita de mais investigação para ser possível ultrapassar a falta de correlação entre os estudos in vivo em modelos animais e humanos, não descurando a falta de dados toxicológicos. Só assim será possível atingir o verdadeiro potencial terapêutico destes sistemas a nível tópico e sistémico (FIGUEIRAS, CARVALHO & VEIGA, 2007; BERNKOP-SCHNÜRCH, 2005; SOUTO & LOPES, 2011).

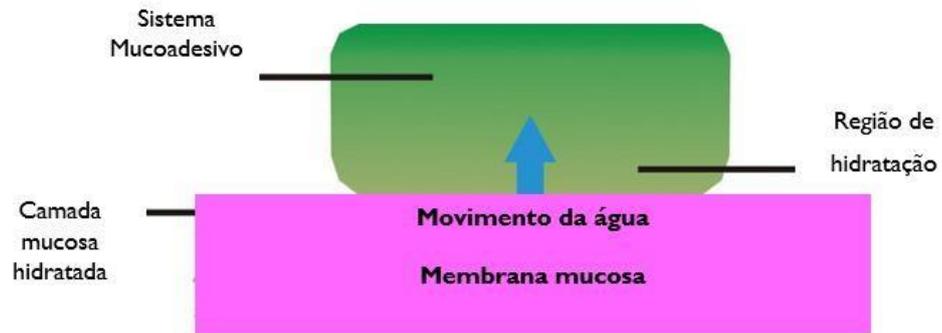
## REFERENCIAS

- ANDREWS, G. P.; LAVERTY, T. P.; JONES, D. S. Mucoadhesive polymeric platforms for controlled drug delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 71, 3 505-518, 2009.
- BALOGLU, E.; SENYIGIT, Z. A.; KARAVANA, S.; VETTER, A.; METIN, D.; POLAT, S.; GUNERI, T.; BERNKOP-SCHNÜRCH, A. In vitro evaluation of mucoadhesive vaginal tablets of antifungal drugs prepared with thiolated polymer and development of a new dissolution technique for vaginal formulations. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, 59, 8, 952-958, 2011.
- BERNKOP-SCHNÜRCH, A; KAST, C. E.; GUGGI, D. Permeation enhancing polymers in oral delivery of hydrophilic macromolecules: thiomers/GSH systems. **Journal of Controlled Release**, 93, 2 95-103, 2003.
- BERNKOP-SCHNÜRCH, A. Mucoadhesive systems in oral drug delivery. **Drug Discovery Today: Technologies**, 2, 1, 83-87, 2005.
- BERNKOP-SCHNÜRCH, A. Thiomers: A new generation of mucoadhesive polymers. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 57,11 1569-1582, 2005.
- CARVALHO, F.; BRUSCHI, M.; EVANGELISTA, R.; GREMIÃO, M. Mucoadhesive drug delivery systems. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 46, 1, 1-17, 2010.
- CHOWDARY, K. P. R.; RAO, Y. S. Mucoadhesive microspheres for controlled drug delivery. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, 27, 11, 1717-1724, 2004.
- FIGUEIRAS, A.; CARVALHO, R. ; VEIGA, F.. Sistemas mucoadesivos de administração de fármacos na cavidade oral: Mecanismo de mucoadesão e Polímeros mucoadesivos. **Revista Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde**, 2, 4, 216-233, 2007.
- GRABOVAC, Vjera; FÖGER, Florian; BERNKOP-SCHNÜRCH, Andreas - Design and in vivo evaluation of a patch delivery system for insulin based on thiolated polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, 348, 1, 169-74, 2008.
- IQBAL, J.; SHAHNAZ, G.; DUNNHAUPT, S.; MULLER, C.; HINTZEN, F.; BERNKOP-SCHNÜRCH, A. Preactivated thiomers as mucoadhesive polymers for drug delivery. **Biomaterials**, 33, 5, 1528-35, 2012.
- KUMAR, R.; SINHA, V. R. Thiomers: A potential carrier for therapeutic delivery. **Reactive and Functional Polymers**, 73, 8, 1156-1166, 2013.
- LYRA, M. A. M; SOARES-SOBRINHO, J. L.; BRASILEIRO, M.; ROCA, M. F.; BARRAZA, J. A.; VIANA, O. S.; ROLIM-NETO, P. Sistemas Matriciais Hidrofílicos e Mucoadesivos para Liberação Controlada de Fármacos. **Latin American Journal of Pharmacy**, 26, 5, 784-93, 2007.
- MATHIOWITZ, E.; CHICKERING I., Donald E.; LEHR, C. **Bioadhesive Drug Delivery Systems: Fundamentals, Novel Approaches, and Development**, 98, 1999. ISBN 1420001345.
- PATEL, M. P.; PATEL, R. R.; PATEL, J. K. Chitosan mediated targeted drug delivery system: a review. **Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, 13, 3, 536-57, 2010.
- PAWAR, D.; MANGAL, S.; GOSWAMI, R.; JAGANATHAN, K. S. Development and characterization of surface modified PLGA nanoparticles for nasal vaccine delivery: effect of mucoadhesive coating on antigen uptake and immune adjuvant activity. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. 3, 550-559, 2013.
- SERRA, L.; DOMÉNECH, J.; PEPPAS, N. A. Engineering design and molecular dynamics of mucoadhesive drug delivery systems as targeting agents. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 71, 3, 519-522, 2009.
- SHAIKH, R.; SINGH,T.; GARLAND, M.; WOOLFSON, D. A; DONNELLY, R. Mucoadhesive drug delivery systems. **Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences**, 3, 1, 89-100, 2011.
- SMART, J. D. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 57, 11, 1556-1568, 2005.
- SOUTO, E.; LOPES, C. Novas formas farmacêuticas para administração de fármacos. **Edições Universidade Fernando Pessoa**, 105-138, 2011.
- THIOMERS. **Potent Auxiliary Agents in Non-invasive Peptide Drug Delivery** - [Acedido a 4 de abril de 2014]. Disponível em: <http://www.thiomatrix.com/General/Downloads.html>

VARUM, F. O.; BASIT, A. W.; SOUSA, J.; VEIGA, F. Estudos de mucoadesão no trato gastrointestinal para o aumento da biodisponibilidade oral de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 44, 4, 535-548, 2008.

## MATERIAL SUPLEMENTAR

Teoria da Intumescência:



Fonte: CARVALHO, BRUSCHI, & EVANGELISTA, 2010