

**U. PORTO**



**FACULDADE DE FARMÁCIA  
UNIVERSIDADE DO PORTO**

**Dissertação do 2º Ciclo conducente ao grau de Mestre em  
Tecnologia Farmacêutica**

# **PELÍCULAS BUCAIS MUCOADESIVAS COM FLUCONAZOL**

**Ana Júlia Ferreira de Sousa**

**Trabalho realizado sob a orientação do Prof. Doutor Paulo Jorge Cardoso  
da Costa e da Prof. Doutora Maria Helena dos Anjos Rodrigues Amaral**

**Setembro | 2018**

## **Declarações**

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA DISSERTAÇÃO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE A DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

## **Agradecimentos**

Quero agradecer a todas as pessoas que sempre acreditaram em mim, mais do que eu própria acreditei.

Quero agradecer às três mulheres da minha vida: a minha avó, Belém, de saudosa memória, a minha mãe, Olívia, e a minha madrinha, Alcina, por todo o apoio e por me fazerem querer ser uma pessoa melhor todos os dias. Ao resto da minha família, que tem esperança no meu futuro.

Quero agradecer ao Xavier por ser incansável, persistente e por me obrigar a trocar bons programas por horas no laboratório ou em casa a escrever.

Quero agradecer a todos os meus amigos, que compreenderam o meu desaparecimento em prol de terminar esta dissertação, e que, longe ou perto, sempre me deram ânimo para continuar.

Às minhas colegas de trabalho, que também são amigas, que se esforçaram para eu ter mais tempo para este projeto, que tiveram que me suportar com poucas horas de sono, sem dias de descanso, e sempre compreenderam e estiveram presentes nas pequenas celebrações.

Por fim, e não menos importante, aos meus orientadores Prof. Doutor Paulo Costa e Prof. Doutora Helena Amaral por terem estado sempre disponíveis, por entenderem a minha disponibilidade limitada e me ajudarem a ultrapassar todas as dificuldades, tornando tudo isto possível.

## Resumo

O aumento da eficácia e o conseqüente interesse pelas preparações bucais tornou-se cada vez mais evidente com o avanço da tecnologia farmacêutica e com a maior preocupação com a adesão do doente face à terapêutica. Assim, o estudo de novos sistemas terapêuticos para administração bucal constitui um desafio promissor. Este trabalho consistiu no desenvolvimento de uma película bucal contendo fluconazol, um antifúngico comumente utilizado para o tratamento da candidíase oral.

Sendo a candidíase oral uma patologia localizada na cavidade bucal, a ação local da terapêutica torna-se uma vantagem. Neste sentido, esta dissertação apresenta uma abordagem inicial sobre a cavidade bucal, as preparações bucais, as películas bucais, as características do fluconazol e a candidíase oral, sendo posteriormente descrito o trabalho experimental desenvolvido, assim como os resultados do mesmo e as respectivas conclusões.

Inicialmente foi utilizado como polímero base a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), e posteriormente foi estudado qual o melhor plastificante a ser utilizado, tendo sido a glicerina o escolhido. Após a escolha do plastificante, foi feito um estudo para selecionar o melhor polímero, tendo sido testados para além da HPMC, o quitosano, o alginato de sódio, a etilcelulose (EC) e um carbómero. Como nenhum dos polímeros satisfazia totalmente as características requeridas, optou-se por desenvolver e caracterizar uma película de dupla camada, em que numa camada estaria presente a HPMC e a EC e na outra o carbómero.

Após a incorporação do fluconazol as películas de dupla camada foram novamente testadas. Os resultados obtidos foram aceitáveis e considerou-se que a película tinha as características necessárias relativamente à espessura, extensibilidade, resistência à saliva, força de mucoadesão, entre outras. A libertação *in vitro* do fármaco também foi considerada adequada.

Palavras-chave: película bucal, mucoadesão, fluconazol, candidíase oral

## **Abstract**

The increased efficiency and consequent interest in oromucosal preparations has become increasingly evident with the advancement of pharmaceutical technology and the greater concern for the patient's adherence to therapy. Thus, the study of new therapeutic systems for oromucosal administration is a promising challenge. This project consists in a formulation of a mucoadhesive film containing fluconazol, an antifungal used to treat oral candidiasis.

Oral candidiasis is an oral cavity local pathology, so the drug local action becomes an advantage. Taking this in consideration this project appeared, starting with a general discussion of oral cavity, buccal preparations, buccal films, fluconazol characteristics and oral candidiasis. The experimental work, its results and its conclusions are subsequently described.

Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) was initially used as the base polymer, the best plasticizer to be used was studied, and glycerin was chosen. After this, other polymers to be used in this formulation, besides HPMC, were tested, such as chitosan, sodium alginate, ethylcellulose (EC) and one carbomer. None of the polymers satisfied the requirements needed, so a double layer film was chosen, which had one layer with HPMC and EC and another layer with the carbomer.

The active pharmaceutical ingredient was incorporated and these films were tested again. The results were acceptable and the films were the requirements related to thickness, extensibility, saliva resistance, mucoadhesion force, among others, were considered satisfactory. *In vitro* drug release test results were considered acceptable too.

Keywords: buccal film, mucoadhesion, fluconazol, oral candidiasis

## Índice

1	Introdução.....	1
2	Parte Experimental.....	11
2.1	Materiais e equipamento.....	11
2.2	Métodos.....	12
2.2.1	Preparação das películas.....	12
2.2.2	Caracterização das películas .....	14
2.3	Análise estatística.....	21
3	Resultados e discussão.....	22
3.1	Preparação das películas.....	22
3.2	Resistência à saliva.....	23
3.3	Extensibilidade .....	23
3.4	Espessura.....	30
3.5	Uniformidade de massa .....	31
3.6	Força de mucoadesão .....	32
3.7	Capacidade de absorção de água.....	34
3.8	Resistência à dobração .....	35
3.9	Teor de humidade.....	36
3.10	pH superficial .....	37
3.11	Libertação do fluconazol <i>in vitro</i> .....	37
4	Conclusões .....	40
5	Referências bibliográficas .....	41
6	Anexos.....	45

## Índice de Figuras

Figura 1. Composição da mucosa bucal; Adaptado de (9). .....	3
Figura 2. Produção de películas pelo método de extrusão a quente. ....	7
Figura 3. Produção de películas pelo método de evaporação do solvente. ....	8
Figura 4. Estrutura química do fluconazol. ....	8
Figura 5. Cavidade bucal com candidíase; Adaptado de (35). ....	9
Figura 6 - Análise de extensibilidade da película no texturómetro. ....	15
Figura 7. Montagem das películas bucais na sonda do texturómetro para o teste da extensibilidade. ....	16
Figura 8. Medição de espessura das películas. ....	16
Figura 9. Texturómetro equipado com dispositivo de medição de mucoadesão.....	17
Figura 10. Montagem das películas bucais na sonda do texturómetro para o teste da mucoadesão. ....	18
Figura 11. A) Vidro de relógio com a película bucal; B) Aparelho de dissolução utilizado durante o ensaio. ....	20
Figura 12. Dados de extensibilidade dados pelo Texture Exponent. ....	24
Figura 13. Relação entre os plastificantes e a extensibilidade das películas: A) Distância B)Força. ....	25
Figura 14. Relação entre os polímeros e extensibilidade das películas: A) Distância B)Força.....	26
Figura 15. Estudo da relação HPMC:EC com base na extensibilidade: A) Distância B)Força.....	27
Figura 16. Relação entre os polímeros adesivos e a extensibilidade das películas: A) Distância B) Força. ....	28
Figura 17. Relação entre a concentração de carbómero e a extensibilidade das películas: A) Distância B) Força. ....	29
Figura 18. Extensibilidade das películas contendo fluconazol: A) Distância B) Força.....	29
Figura 19 – Diagrama de caixa de bigodes representando a massa das películas.....	32
Figura 20. Representação gráfica representativo da mucoadesão, dado pelo software Texture Exponent. ....	33
Figura 21. Relação entre o trabalho de adesão, os polímeros adesivos e o tempo de contacto. ....	33
Figura 22. Trabalho de adesão das películas contendo fluconazol.....	34
Figura 23. Películas após 300 dobragens. ....	35
Figura 24. Películas contendo fluconazol após 300 dobragens. ....	36
Figura 25. Espectro de absorção do fluconazol. ....	37
Figura 26. Curva de calibração do fluconazol. ....	38
Figura 27. Representação da libertação in vitro do fluconazol.....	39

## Índice de Tabelas

Tabela I. Matérias-primas utilizadas durante a parte experimental.....	11
Tabela II. Equipamento utilizado durante a parte experimental.....	12
Tabela III. Composição das formulações (simples) testadas e caracterizadas.....	13
Tabela IV. Composição das formulações (camada dupla) testadas e caracterizadas.....	13
Tabela V. Resultados do teste de resistência à saliva.....	23
Tabela VI. Espessura das películas.....	30
Tabela VII. Espessura das películas contendo fluconazol.....	30
Tabela VIII. Massa das películas placebo e respetivo desvio-padrão.....	31
Tabela IX. Massa das películas contendo fluconazol e respetivo desvio-padrão.....	31
Tabela X. Comparação da hidratação das películas.....	34
Tabela XI. Percentagem de hidratação das películas com fluconazol.....	35
Tabela XII. Teor de humidade das películas.....	36
Tabela XIII. Concentrações das soluções-padrão.....	38
Tabela XIV. Resultados do modelo de Korsmeyer-Peppas para a libertação do fluconazol.....	39

## **Lista de Abreviaturas**

CYP450 – Citocromo P450

EC - Etilcelulose

HPMC – Hidroxipropilmetilcelulose

PEG – Polietilenoglicol

PG – Propilenoglicol

# 1 Introdução

A adesão à terapêutica é considerada um dos fatores mais importantes para o sucesso de um tratamento. A falta de adesão à terapêutica pode ser consequência de várias situações como a incompreensão da informação transmitida pelos profissionais de saúde, a não concordância entre o diagnóstico feito pelo médico e o doente, a dificuldade anatomofisiológica em cumprir o tratamento (por exemplo, a dificuldade em deglutir os comprimidos), entre outras. É com base na dificuldade em deglutir comprimidos, pastilhas ou cápsulas, aliada à importância da ação local na patologia, que surge este projeto.

Existem várias formas farmacêuticas além das orais como, por exemplo, as parentéricas, as cutâneas, as nasais, as pulmonares, as oculares, as retais, as bucais, etc. Entre as mucosas, a mucosa bucal apresenta bastante vantagens, graças ao músculo liso, que permite um acesso direto à circulação sistêmica através da veia jugular interna, evitando o efeito de primeira passagem no fígado, aumentando assim a biodisponibilidade, diminuindo a atividade enzimática e não causando dor (1). Assim, o objetivo deste projeto é estudar e experimentar várias abordagens para a formulação de uma película bucal bioadesiva, as suas estratégias de libertação e absorção do fármaco, assim como tornar a forma farmacêutica de uso fácil e adequado.

A cavidade bucal, apesar do espaço limitado que representa, conta com uma grande variedade de áreas distintas, podendo ser dividida em lábios, cavidade bucal propriamente dita, língua, palato duro, palato mole e a parte inferior da boca (2). Na cavidade bucal ocorre a salivação, um processo importante para uma película bucal bioadesiva, uma vez que pode interferir diretamente no processo de adesão assim como de libertação do fármaco.

A produção de saliva é da responsabilidade das glândulas salivares e pode ser regulada tanto pelo sistema nervoso simpático como pelo parassimpático, sendo que a saliva difere na sua textura, consoante o sistema nervoso envolvido na estimulação da sua produção e o grau de estimulação do mesmo, entre espessa e aquosa, respetivamente (3). O tipo de saliva segregado pode ainda variar de acordo com a altura do dia (4).

A saliva é composta por uma variedade de eletrólitos, incluindo sódio, potássio, cálcio, magnésio, bicarbonato e fosfatos. Também fazem parte da composição da saliva imunoglobulinas, proteínas, enzimas, mucinas e produtos nitrogenados, tais como a ureia e a amónia. Os compostos mencionados geralmente aparecem em pequenas

quantidades, sendo a saliva muito fluida e composta por mais de 99% de água (5). As glândulas salivares encontram-se na submucosa e estão envolvidas nas estruturas da cavidade bucal: glândulas labiais; bucais; molares; palatinas e linguais (6).

Juntamente com a saliva, há também a secreção de muco, uma substância que rodeia as células do epitélio bucal. Esta matriz pode desempenhar um papel na adesão celular e agir como um lubrificante, permitindo que as células se movam umas em relação às outras. O muco é composto majoritariamente por água, contudo, contém também macromoléculas da classe das glicoproteínas, conhecidas como mucinas (4).

Para a formulação de uma forma farmacêutica bucal, também é importante conhecer o tecido da mucosa bucal (Figura 1), que consiste numa multicamada coberta com muco. Esta multicamada é composta pela camada mais externa constituída por epitélio escamoso estratificado, seguido pela membrana basal que separa o epitélio do tecido conjuntivo composto por lâmina própria e submucosa (7). São, contudo, referidos três tipos de mucosa oral consoante o epitélio presente na mesma: a mucosa mastigatória; a de revestimento e a especializada. A mucosa mastigatória está presente nas gengivas e no palato duro, é constituída por epitélio queratinizado, que é caracterizado por ser resistente e quimicamente estável, e está subdividido em quatro camadas, a membrana queratinizada, a granular, a espinhosa e a basal. A mucosa de revestimento está presente nas restantes áreas, exceto na camada dorsal da língua, e é constituída por epitélio não queratinizado que é formado pela membrana superficial, a intermédia, a espinhosa e a basal. Por sua vez, a mucosa especializada existente na camada dorsal da língua consiste num misto das anteriores, sendo constituída tanto por epitélio queratinizado como não queratinizado (8).

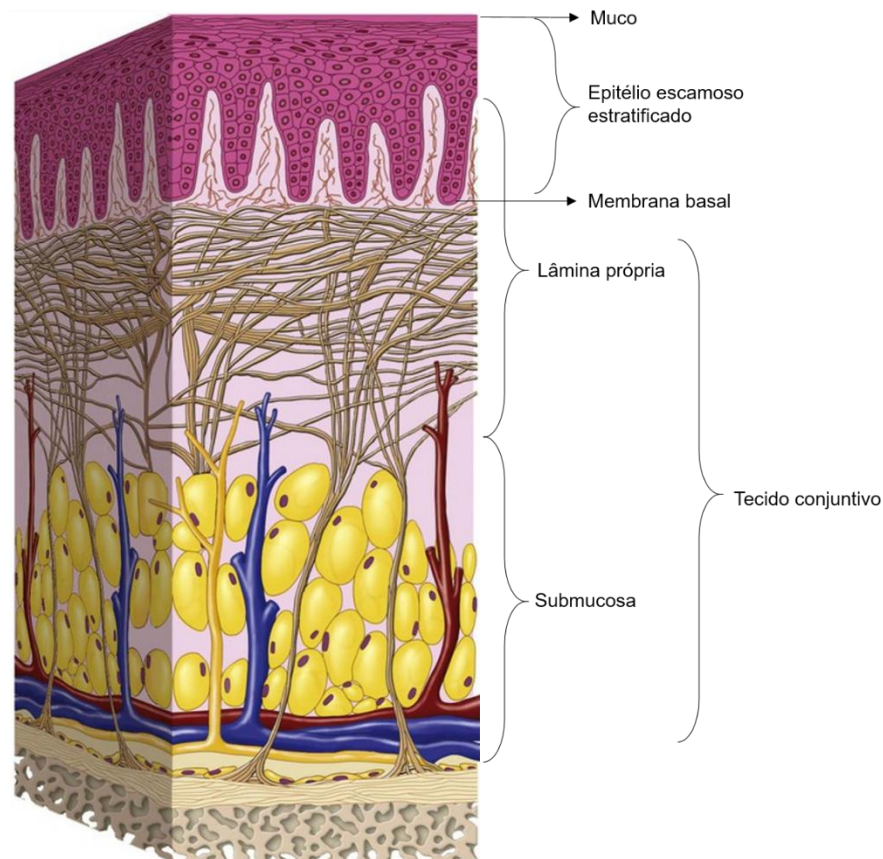


Figura 1. Composição da mucosa bucal; Adaptado de (9).

As principais vias envolvidas na permeação através da mucosa oral são (10):

- Via transcelular (ou intracelular): os fármacos passam diretamente através da membrana, sendo esta via mais favorável a fármacos lipófilos.
- Via paracelular (ou intercelular): os fármacos passam por difusão passiva através dos espaços existentes entre as células; esta via é mais favorável a fármacos hidrófilos.

Fármacos que atuam sobre os recetores de superfície dos queratinócitos ou aqueles cuja ação é no tecido conjuntivo ou se pretende uma libertação sistémica idealmente seriam absorvidos através da via paracelular, sem ocorrer internalização pelas células do epitélio. Por sua vez, fármacos que atuam sobre alvos intracelulares dentro do epitélio devem ser, facilmente, internalizados pelas células e retidos dentro do epitélio (11).

Além da solubilidade, outros aspetos podem condicionar a difusão dos fármacos através da mucosa bucal como o tamanho do composto, o grau de ionização e o pH do local de absorção. O pH da saliva normalmente é entre 6,5 e 6,9 (4).

Existem vantagens e desvantagens na utilização da cavidade bucal como via de administração de fármacos que são importantes ter em conta.

São vantagens a acessibilidade do local e a facilidade de aplicação, também por ser indolor, o que aumenta a aceitabilidade por parte do doente (12). A ausência do efeito de primeira passagem é também um fator a favor, aumentando a biodisponibilidade do fármaco, assim como o facto de não haver interação com o trato gastrointestinal, o que evita as hidrólises naturais deste mesmo ambiente. Na cavidade bucal a atividade das peptidases e protéases é baixa. O tempo de renovação celular da mucosa oral (4-14 dias) também é uma vantagem uma vez que se encontra entre o tempo de renovação celular da pele, que é demasiado lento, e o do trato gastrointestinal, que é demasiado rápido. Por fim, o facto de falarmos de um pequeno ambiente é favorável no sentido em que as alterações necessárias para o melhor funcionamento da forma farmacêutica são mais fáceis de ser efetuadas e levam a menos reações adversas (10).

Em relação às desvantagens, há a baixa permeabilidade da membrana associada à pequena superfície, que podem dificultar a absorção sistémica do fármaco. O excesso de produção de saliva pode levar à diluição do fármaco ou mesmo à erosão da forma farmacêutica e pode, ainda, incentivar a deglutição do medicamento, removendo-o por completo do seu local de aplicação o que pode levar a uma alteração na sua eficácia ou à ocorrência de reações adversas. No caso de fármacos muito amargos, os recetores de gosto presentes na língua tornam-se uma barreira difícil de ultrapassar, principalmente para populações como crianças e idosos (10).

Assim, as formas farmacêuticas cuja via de administração é a cavidade bucal são formas farmacêuticas bucais, que podem ser de várias formas. As formas farmacêuticas bucais sólidas são todas as preparações sólidas que se destinam a ser administradas na cavidade bucal e/ou na garganta, podendo apresentar uma ação local ou sistémica (13).

Existem também as preparações bucais mucoadesivas que permanecem na cavidade bucal, aderindo ao epitélio da mucosa (13). Este projeto baseia-se no desenvolvimento de uma preparação bucal sólida (película bucal) e mucoadesiva.

As preparações bucais sólidas podem ser sistemas de libertação em que a libertação do fármaco é influenciada pelas condições do ambiente envolvente como o pH da saliva, a taxa de secreção de saliva, entre outros fatores independentes da formulação (onde estão incluídos os comprimidos bucais ou sublinguais); e os sistemas de libertação em que o ambiente dentro do adesivo, ou seja a formulação, determina a

libertação do fármaco e permite o uso de agentes como promotores de absorção para melhorar o desempenho da forma farmacêutica (como os adesivos bucais) (13).

Entre as preparações bucais sólidas existem várias formas farmacêuticas como pastilhas bucais, comprimidos bucais e sublinguais, cápsulas bucais, que se destinam a uma desintegração total na cavidade bucal, gomas para mascar medicamentosas, que se destinam a serem mastigadas sem serem deglutidas, e películas bucais que podem desintegrar-se totalmente na cavidade bucal ou ser necessária a remoção após o tempo de utilização.

As películas bucais consistem numa “folha” fina com uma ou mais camadas que geralmente se dissolve num meio aquoso (14). As películas bucais permanecem na cavidade bucal por períodos de tempo longos, o que permite uma libertação prolongada do fármaco (15). De acordo com a base de dados disponibilizada pelo Infarmed (Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P.), em Portugal existe apenas um fármaco comercializado sob a forma de película bucal, o fentanilo, que é um opióide comercializado sob a forma de película bucal (16).

As preparações mucoadesivas contêm uma ou várias substâncias ativas que são absorvidas através da mucosa gengivo-jugal durante um período de tempo prolongado, de modo a exercerem uma ação sistémica (13).

Estas preparações adesivas são sistemas que aderem à mucosa oral para libertar o fármaco. Existem basicamente três tipos de sistemas adesivos (4):

- Preparações com uma matriz solúvel para a libertação de fármacos na cavidade bucal, cuja camada mucoadesiva permite que se dissolva lentamente e, por isso, têm uma ação mais longa, podendo ser utilizados como formas de libertação prolongada. Utilizam toda a mucosa da cavidade bucal;
- Adesivos com um suporte insolúvel para libertação sistémica de fármacos que protegem a formulação de uma dissolução mais rápida na saliva, para que libertem uma quantidade de fármaco controlada durante 10 a 15 horas. Contudo, este adesivo apenas atinge uma pequena área da mucosa e tem que ser removido pelo doente após a libertação do fármaco;
- Adesivos com um suporte solúvel que, eventualmente se dissolve por completo na cavidade bucal, porém apresentando uma ação mais curta que os adesivos com um suporte insolúvel.

Existem várias teorias para explicar as forças envolvidas neste fenómeno, como por exemplo: a teoria eletrónica; a teoria da adsorção; a teoria da hidratação ou a teoria da difusão, entre outras.

A teoria eletrónica é baseada na ideia de que tanto o adesivo como o material biológico possuem diferentes propriedades e estruturas eletrónicas e, por isso, quando entram em contacto há transferência de eletrões o que leva à formação de uma camada dupla de eletrões na interface (17).

De acordo com a teoria da adsorção, o adesivo adere ao muco graças a interações químicas secundárias como as forças van der Waals e as pontes de hidrogénio (18).

A teoria da hidratação aplica-se a sistemas líquidos, ou sistemas mucoadesivos com pouca viscosidade (18). Esta teoria descreve a capacidade do polímero se difundir na superfície biológica. De acordo com isto, a componente adesiva quando entra em contacto com a mucosa penetra as deformações da superfície e adere à mesma graças a ligações interfaciais (17).

A teoria da difusão descreve a interpenetração das cadeias do polímero e das mucinas a uma profundidade suficiente para criar uma ligação adesiva semipermanente. Acredita-se que a força da adesão aumenta com o grau de penetração das cadeias do polímero (17, 18).

São vários os fatores a considerar para formular uma preparação bucal. Os materiais com maior facilidade em difundir na mucosa oral são as substâncias solúveis em lípidos, as espécies não iónicas e as que têm um baixo peso molecular. Contudo, algumas moléculas polares com baixa massa molecular conseguem difundir através da mucosa oral (19).

Para formulação de uma película mucoadesiva são usados polímeros, sintéticos ou naturais, sendo os mais comuns os carbómeros e os derivados da celulose (20). É necessário também incorporar um plastificante para melhorar as propriedades mecânicas do sistema. A adição destas substâncias leva a uma redução da fragilidade e promove a flexibilidade, aumentando a força e a resistência à rutura (21).

Na escolha do polímero é importante ter em conta o peso molecular. Para polímeros lineares a adesividade aumenta à medida que aumenta o peso molecular e a concentração de polímeros ativos, sendo que existe uma concentração ótima para a máxima adesão (22).

São vários os polímeros citados na literatura como por exemplo o HPMC que apresenta grandes propriedades de intumescimento e rápida erosão (23), mas tem pouca mucoadesão (24). Outro exemplo de polímero é o quitosano que tem grande capacidade de intumescimento e baixa erosão (24) e tem uma excelente mucoadesividade (25). Outro exemplo de polímero é o alginato de sódio que é de rápida dissolução (26) mas também é bastante mucoadesivo embora o tempo de adesão seja baixo (24). De acordo com estudos anteriores, os carbómeros provaram ser polímeros bastante mucoadesivos (27).

Na escolha do plastificante, deve-se ter em conta a afinidade do mesmo com o polímero e com o fármaco, para que o plastificante não cristalize após a secagem da película (28).

Tratando-se de uma película para aplicação bucal, é muito importante ter em conta as propriedades organolépticas que irão ajudar a definir a aceitabilidade da terapêutica por parte do doente. Por isso, é importante a adição de um aromatizante que não tenha interferência com nenhum dos outros excipientes.

As películas podem ser preparadas tanto pelo método de extrusão a quente (Figura 2) como pela técnica de evaporação do solvente (Figura 3). No método de extrusão a quente, o fármaco e os excipientes são misturados no estado sólido e, após a mistura, são sujeitos a um processo de calor que leva à fusão da mesma e ocorre, então, a extrusão em forma de película. A temperatura elevada usada neste processo pode, contudo, degradar substâncias termossensíveis (28).

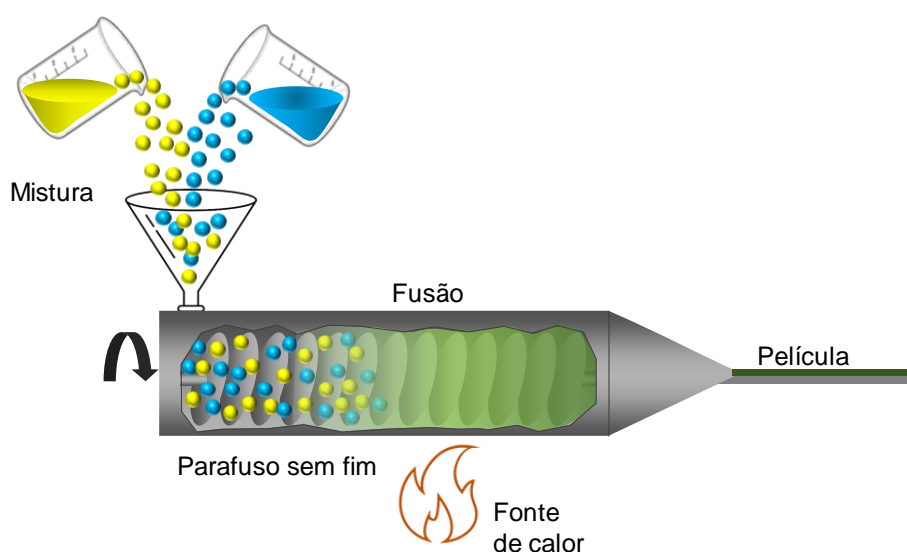


Figura 2. Produção de películas pelo método de extrusão a quente.

A técnica de evaporação do solvente é a mais utilizada, principalmente devido à facilidade do processo e ao baixo custo associado ao mesmo. O processo consiste na dissolução dos excipientes num solvente adequado, e esta solução é transferida ou espalhada para um molde para secagem e evaporação do solvente (29).

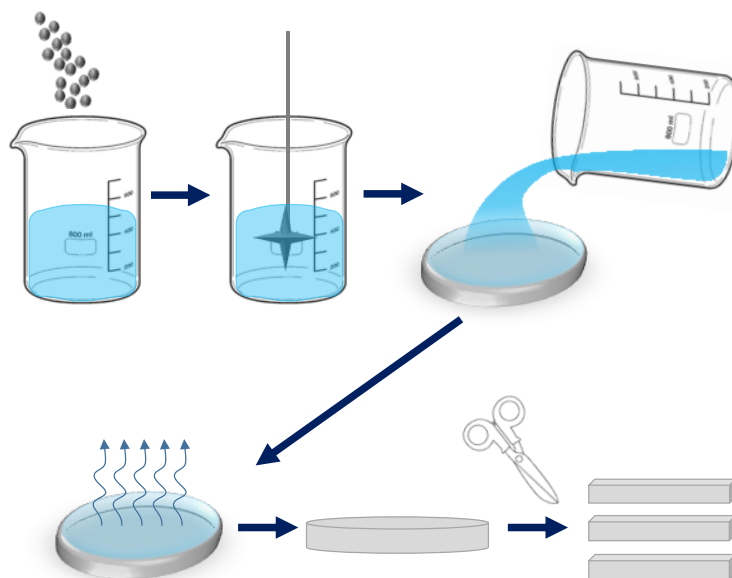


Figura 3. Produção de películas pelo método de evaporação do solvente.

O fluconazol (Figura 4) é um pó branco cristalino (30). A sua fórmula molecular é  $C_{13}H_{12}F_2N_6O$  e a sua massa molecular é 306,27 g/mol. É ligeiramente solúvel em água e solúvel em solventes orgânicos como etanol, acetona ou metanol, de acordo com o boletim de análise entregue juntamente com o fluconazol. A sua solubilidade em água é de 1mg/L. O seu intervalo de fusão é entre os 138 °C e os 140 °C (31).

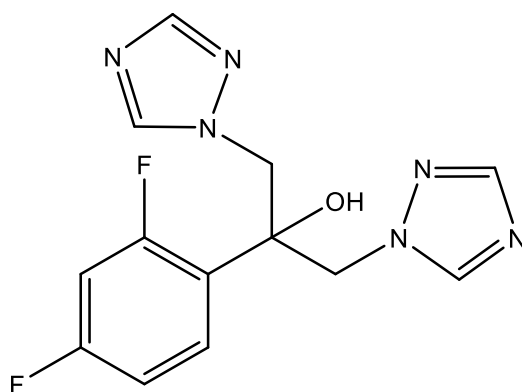


Figura 4. Estrutura química do fluconazol.

O fluconazol é utilizado para o tratamento da candidíase oral. A candidíase oral é uma infecção fúngica oportunista, na cavidade bucal, causada por um crescimento excessivo da espécie *Candida*, sendo a mais comum a *Candida albicans* (32).

O fluconazol é um azol semissintético designado como imidazol. Ele atua através da inibição da C-14- $\alpha$ - dimetilase, que é necessária para a síntese de ergosterol, um componente essencial da membrana celular dos fungos. A C-14- $\alpha$ -dimetilase é parte do complexo do citocromo P450 (CYP450) do fungo, no entanto, pode levar a alterações do mesmo complexo nos humanos potenciando a interação com outros fármacos e os efeitos secundários (33).

O fluconazol é muito menos lipófilo que outros azóis antifúngicos o que leva a uma excelente penetração através do organismo, baixa ligação a proteínas e solubilidade em água (34).

Como profilaxia é recomendada uma dose diária de 200-400 mg. Para o tratamento sistêmico da candidíase, é recomendada uma dose de 800 mg/dia no primeiro dia, e de 400 mg/dia nos seguintes (33).

A candidíase é uma das patologias mais comuns na cavidade bucal e caracteriza-se pela presença de manchas brancas na cavidade bucal (Figura 5) que podem ser acompanhadas ou não de dor ou ardência. Em casos mais graves, a candidíase oral pode afetar o esófago provocando dor ao deglutir.

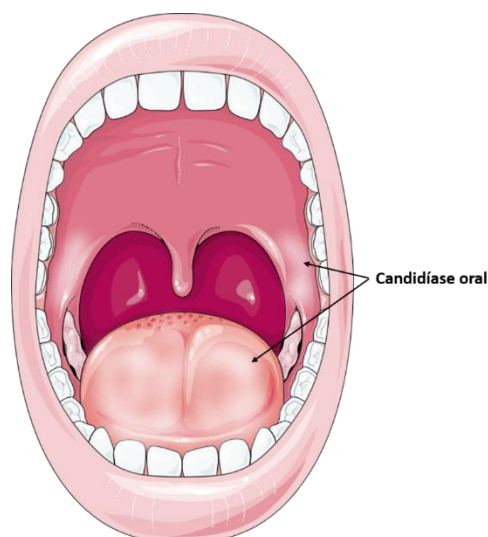


Figura 5. Cavidade bucal com candidíase; Adaptado de (35).

O seu tratamento requer administração de agentes antifúngicos a longo prazo. Assim, o sucesso do tratamento está dependente da forma farmacêutica usada para a

administração do agente antifúngico na cavidade bucal. É muito importante manter uma determinada concentração de fármaco na saliva, por um longo período de tempo e assim, uma formulação adesiva de liberação prolongada pode ser muito vantajosa (21).

De acordo com a base de dados disponibilizada pelo Infarmed, em Portugal existem três formas farmacêuticas diferentes com fluconazol: cápsula (dosagens entre os 50 mg e os 200 mg), pó para suspensão oral (dosagens de 10 mg/ml ou 40 mg/ml) e solução para perfusão (dosagem de 2 mg/ml).

Sendo a candidíase oral uma patologia local, da cavidade bucal, torna-se ideal a existência de uma forma farmacêutica com ação local para o tratamento desta patologia. Foi escolhida a película bucal mucoadesiva para veículo do fluconazol, que permite uma liberação prolongada do fármaco, garantindo as concentrações necessárias para eliminar o fungo. Sendo uma forma farmacêutica de ação local, temos ainda a nosso favor a redução das interações medicamentosas do fluconazol, o que permite o tratamento da candidíase oral quando esta ocorre como reação medicamentosa de outro medicamento.

## 2 Parte Experimental

### 2.1 Materiais e equipamento

Durante a parte experimental deste trabalho, foram utilizadas diversas matérias-primas (Tabela I) para a formação das películas.

*Tabela I. Matérias-primas utilizadas durante a parte experimental.*

<b>Matéria-prima</b>	<b>Lote</b>	<b>Origem</b>
<b>Ácido acético</b>	-	Pronalab
<b>Carbómero 974</b>	CC52NAB635	Noveon
<b>Cloreto de sódio</b>	0000319837	Panreac
<b>Diclorometano</b>	60370	Pronalab
<b>Etanol</b>	-	Fisher Chemical
<b>Etilcelulose (EC)</b>	WP340331	Colorcon
<b>Fluconazol</b>	171276	Acofarma
<b>Fluconazol - referência</b>	LRAA9717	Sigma
<b>Fosfato de sódio dibásico anidro</b>	171485-P-1	Acofarma
<b>Fosfato de potássio monobásico</b>	170633	Acofarma
<b>Glicerina</b>	151817-P-1 170601-P-1	Acofarma
<b>HPMC K 15M</b>	DT317684	Colorcon
<b>PEG 400</b>	121189-P-2	Acofarma
<b>Propilenoglicol (PG)</b>	140802	Acofarma

Para a produção das películas e respetiva caracterização foram utilizados diversos equipamentos (Tabela II).

*Tabela II. Equipamento utilizado durante a parte experimental.*

<b>Equipamento</b>	<b>Marca/Modelo</b>	<b>Origem</b>
<b>Agitador em hélice</b>	Heidolph RZR 2041	Alemanha
<b>Balança</b>	Adventurer Ohaus	China
<b>Balança de alta precisão</b>	Radwag AS 220.R2	Polónia
<b>Balança de infravermelho</b>	A&D AD-4713	Japão
<b>Paquímetro digital</b>	Powerfix Z22855	Alemanha
<b>Texturómetro</b>	Stable Micro Systems TA-XT2	Reino Unido
<b>Espectrofotómetro</b>	Jasco v-650	Japão
<b>Aparelho de dissolução</b>	Sotax AT 7	Suíça

## **2.2 Métodos**

### **2.2.1 Preparação das películas**

O procedimento experimental consistiu inicialmente em formular várias películas bucais placebo simples (Tabela III) e com duas camadas (Tabela IV) para ser possível testar as mesmas e escolher aquelas cujas características correspondem ao pretendido. Apenas após esta fase se iniciou a incorporação do fármaco na forma farmacêutica.

Tabela III. Composição das formulações (simples) testadas e caracterizadas.

		Formulações																
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11-1	11-2	11-3	11-4	11-5	11-6
Excipientes	Alginato de sódio	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	EC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	5	2	2	2	1,5	1	0,5
	Etanol/ Diclorometano (1:1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	93,5	94	91	94	94,5	95
	Glicerina	-	2,5	-	-	2,5	-	-	2,5	2,5	2,5	5	2,5	2	5	2,5	2,5	2,5
	Água	99	96,5	96,5	96,5	95,5	95,5	95,5	95,5	95,5	92,5	90	-	-	-	-	-	-
	HPMC K15 M	1	1	1	1	2	2	2	-	-	-	-	2	2	2	2	2	2
	PEG 400	-	-	-	2,5	-	-	2,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	PG	-	-	2,5	-	-	2,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Quitosano	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela IV. Composição das formulações (camada dupla) testadas e caracterizadas.

		Camada 1			Camada 2		
		A	B	C	A	B	C
Excipientes	Etanol/Diclorometano (1:1 v/v)	95	95	95	-	-	-
	Carbómero 974	-	-	-	1	2	-
	EC	0.5	0.5	0.5	-	-	-
	Glicerina	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
	Água purificada	-	-	-	96.5	95.5	95.5
	HPMC K15M	2	2	2	-	-	-
	Quitosano	-	-	-	-	-	2

O processo utilizado para formação das películas foi o seguinte: o(s) polímero(s) e o solvente foram pesados de acordo com o planeado. O gobelé com o solvente foi colocado no agitador em hélice com uma rotação de aproximadamente 500 rpm e juntou-se o(s) polímero(s). Após o polímero se dispersar no solvente, foi adicionado o plastificante, previamente pesado. Quando necessário, a mistura obtida foi armazenada no frigorífico a uma temperatura de aproximadamente 5-8° C para eliminar as bolhas de ar. Após o tempo de repouso, colocaram-se 80 g da mistura numa caixa de Petri de vidro e deixou-se a mesma, destapada, na estufa a 40° C durante 24 horas. No caso de solventes nocivos, como o diclorometano, a caixa de Petri foi deixada na *hotte* até o solvente evaporar. Após a evaporação do solvente, formou-se uma película.

No caso de uma película de dupla camada foi utilizado o mesmo processo sendo que a primeira camada foi produzida exatamente de acordo com o referido acima e a segunda camada, após obtenção da mistura homogénea e sem bolhas, foi vertida sob a película anteriormente formada e levou-se novamente a evaporação do solvente na estufa. Assim, obteve-se uma película com duas camadas.

As películas obtidas foram cortadas em películas retangulares com 5 centímetros de altura e 2 centímetros de largura.

Após seleção da película mais adequada, passou-se à incorporação do fármaco.

#### **2.2.1.1 Incorporação do fármaco**

O fármaco foi incorporado numa película de dupla camada. Uma vez que o fluconazol é mais solúvel em solventes orgânicos, este foi dissolvido, juntamente com os polímeros e o plastificante numa solução de etanol/diclorometano (1:1 v/v), seguindo o método mencionado acima. Foram testadas películas com 1% e 2% de fluconazol.

### **2.2.2 Caracterização das películas**

#### **2.2.2.1 Resistência à saliva**

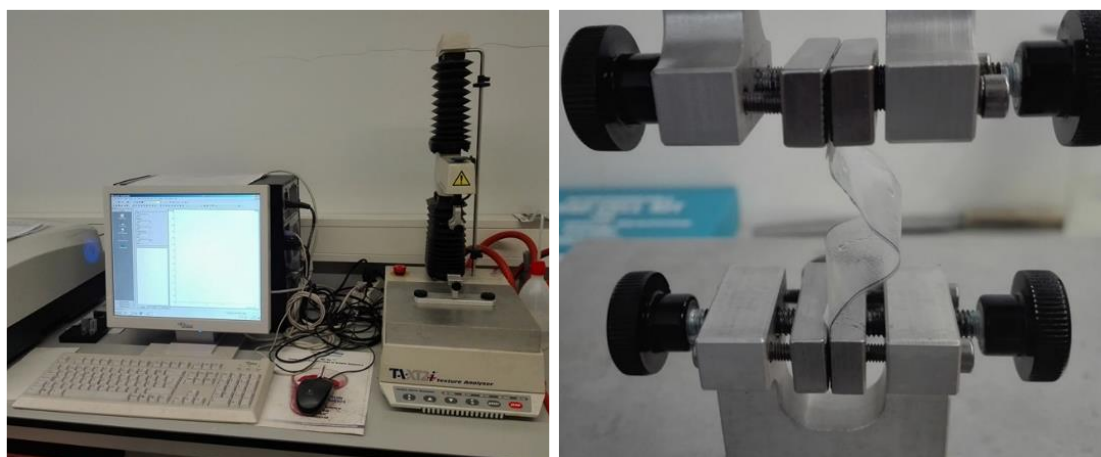
Para avaliar a resistência das películas à saliva, foram colocadas 3 películas numa caixa de Petri submersas em saliva artificial durante aproximadamente 1 hora. Após este tempo, foi avaliado o estado das películas. Esta característica é uma das mais importantes da película mucoadesiva, uma vez que é necessário que esta resista à saliva durante o tempo esperado de libertação do fármaco.

A saliva artificial consiste numa solução aquosa com cloreto de sódio (8 g/L), fosfato de sódio dibásico (2,38 g/L) e fosfato de potássio monobásico (0,19 g/L) (36).

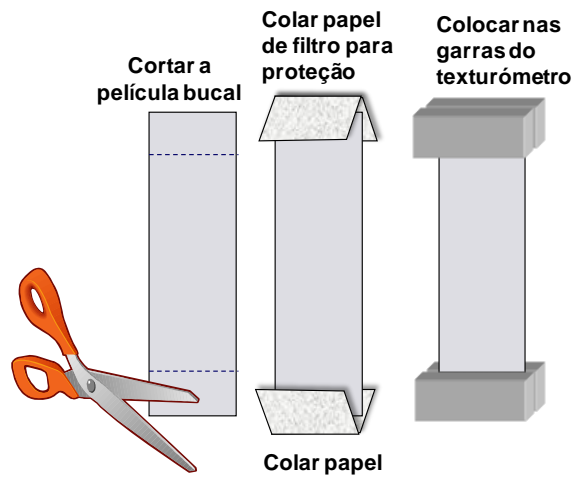
### **2.2.2.2 Extensibilidade**

Realizou-se o teste para determinação da extensibilidade das películas, isto é, a distância que estas se estendem sem romper, e da força necessária para as mesmas se romperem. Para avaliação da extensibilidade das películas foi usado o texturómetro. Após colocação das garras, iniciou-se o teste com uma distância de 30 mm entre a garra superior e a garra inferior (Figura 6). As películas foram, então colocadas entre as garras. Para proteção da película, foi colocado papel de filtro nas zonas em que a garra exerce força na película (Figura 7).

É esperado que as películas tenham extensibilidade suficiente para o manuseamento efetuado durante a aplicação da mesma.



*Figura 6 - Análise de extensibilidade da película no texturómetro.*



*Figura 7. Montagem das películas bucais na sonda do texturômetro para o teste da extensibilidade.*

### **2.2.2.3 Espessura**

Para medição da espessura das películas foi utilizada uma craveira digital. A espessura foi medida em 9 películas, em 3 pontos de cada uma: um ponto em cada extremidade e outro ponto no meio (Figura 8). Geralmente, uma película bucal ideal tem uma espessura entre 50 e 1000  $\mu\text{m}$  (37).



*Figura 8. Medição de espessura das películas.*

#### **2.2.2.4 Uniformidade de massa**

Para verificar a uniformidade de massa, 9 películas foram pesadas individualmente e foi calculada a média e o desvio-padrão.

Grandes variações de massa podem indicar que o método de produção é ineficiente (37) ou que a quantidade de fármaco também tem grandes variações (38).

#### **2.2.2.5 Força de mucoadesão**

A força de mucoadesão é dada pela força máxima necessária para remover a película do substrato (39). Para isso foi utilizado o texturómetro, equipado com um dispositivo específico – A/MUC (equipamento de mucoadesão), como é possível ver na Figura 9.



*Figura 9. Texturómetro equipado com dispositivo de medição de mucoadesão.*

O equipamento (Figura 10) é composto por uma sonda cilíndrica com um diâmetro de aproximadamente 10 mm, onde se colocou a película, cortada na dimensão da sonda, presa com fita-cola de dupla face e um dispositivo com um orifício onde é possível fixar a mucosa através do qual a sonda cilíndrica irá permitir o contacto da mucosa com a película. Como mucosa foi utilizada mucosa bucal de porco. A mucosa bucal de porco foi obtida num talho local. O fornecedor garantiu ser de um porco tratado sem promotores de crescimento, tendo a mucosa sido congelada logo após a sua remoção. Antes da utilização, a mucosa bucal do porco foi descongelada durante a noite dentro do frigorífico a uma temperatura de aproximadamente 5-8°C. A mucosa bucal de porco foi utilizada diretamente sem qualquer lavagem.

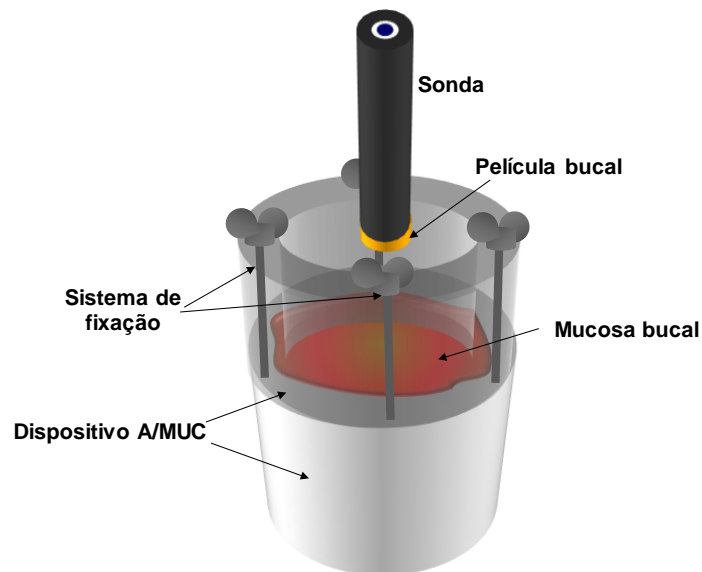


Figura 10. Montagem das películas bucais na sonda do texturómetro para o teste da mucoadesão.

Para simular as condições fisiológicas, o teste foi realizado a uma temperatura de  $36 \pm 1^\circ \text{C}$ . Para isso, o dispositivo foi colocado num gobelé com saliva artificial e aquecido até atingir uma temperatura de aproximadamente  $36^\circ \text{C}$ . Durante o teste, o tempo de contacto foi 30 e 60 segundos e a força de contacto foi 0,5 N, sendo que estes dados representam o tempo e a força que o doente terá de fazer quando aplicar a película na mucosa bucal. Foram testadas 6 amostras para cada tempo de contacto. O *software* do equipamento, Texture Exponent, permitiu o cálculo do trabalho de adesão que é dado pela área sob a curva da força necessária para remover a película *versus* a distância da curva (40).

Este procedimento foi baseado nos estudos de Wong 1999 (27, 41), Thirawong 2007 (40) e Morales 2010 (29), tendo sido, no entanto, adaptado a este projeto.

#### **2.2.2.6 Capacidade de absorção de água**

A avaliação da capacidade de absorção de água ou capacidade de intumescimento das películas bucais é muito importante por duas razões: a absorção de água pelas películas é essencial para promover uma melhor mucoadesão, que é dependente da natureza da matriz do polímero; a absorção de água promove também a libertação do fármaco que ocorre essencialmente por dois mecanismos, difusão e erosão (37).

Para avaliar a percentagem de hidratação das películas, foi avaliada a massa de 3 películas ( $M_1$ ). Após essa medição, as mesmas películas foram colocados numa caixa

de Petri submersas em saliva artificial durante 10 minutos, retiradas e limpas para retirar o excesso de água e voltou-se a avaliar novamente a massa das películas ( $M_2$ ) (42). A percentagem de hidratação foi calculada de acordo com a seguinte equação (37):

$$\text{Hidratação (\%)} = \frac{(M_2 - M_1) \times 100}{M_1}$$

#### **2.2.2.7 Resistência à dobração**

Para medir a resistência à dobração, conferida pela flexibilidade da película, uma película foi dobrada no mesmo local repetidamente até partir ou até 300 vezes, que é considerado aceitável para caracterizar uma película com boas propriedades. O número de vezes que foi possível dobrar a película, sem partir, corresponde então à resistência á dobração da mesma (43).

#### **2.2.2.8 Teor de humidade**

O teor de humidade afeta a fragilidade e friabilidade das películas bucais. Idealmente, o teor de humidade de uma película bucal deve ser 5% (37). Para quantificar este teor, foi utilizada uma balança de infravermelho capaz de avaliar o teor de humidade e foram avaliadas 3 películas. A balança começa por avaliar a massa da película ( $M_i$ ), aquece-a até à temperatura determinada, no caso 100° C, e mantém a película aquecida até que obtenha uma massa constante ( $M_f$ ). Assim, determina o teor de humidade de acordo com a fórmula seguinte:

$$\text{Teor de humidade (\%)} = \frac{(M_i - M_f) \times 100}{M_i}$$

#### **2.2.2.9 pH superficial**

Uma película não deve ter um pH muito ácido nem muito básico uma vez que isto pode provocar danos na mucosa oral (37). Para avaliação do pH superficial, uma película foi colocada numa caixa de Petri submersa em água neutra durante aproximadamente 2 horas, à temperatura ambiente (44). Para medir o pH foi colocado um papel indicador de pH na superfície da película intumescida.

#### **2.2.2.10 Libertação do fluconazol in vitro**

Para avaliar o perfil de libertação do fármaco a partir das películas foi usado o aparelho de dissolução (Figura 11, B). Como meio de dissolução foi utilizada a saliva artificial a  $37.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ , tendo sido colocados em cada vaso 500 ml desta solução e

submetidos a uma rotação de 50 rpm (utilizaram-se 6 vasos em cada ensaio). As películas foram coladas num vidro de relógio com cola de cianoacrilato (Figura 11, A) para não se destacarem. Foram retiradas amostras de 5 ml após 5, 15, 30, 60, 90, 120, 180 e 240 minutos, que foram filtradas, sendo as respetivas absorvâncias medidas no espectrofotómetro a um  $\lambda_{\max}$  de 260 nm.

Antes deste teste, foi verificado o espectro de absorção dos excipientes. Apesar da absorvância dos mesmos ser mínima, para garantir resultados fiáveis, foi realizado o mesmo teste com películas placebo e a absorvância das mesmas foi subtraída à absorvância das películas contendo fluconazol, nos mesmos tempos de recolha.



Figura 11. A) Vidro de relógio com a película bucal; B) Aparelho de dissolução utilizado durante o ensaio.

Para se conseguir caracterizar e interpretar os perfis de dissolução recorre-se habitualmente a modelos matemáticos que exprimem a quantidade acumulada de fármaco libertado (M) em função do tempo (t) (45). São vários os modelos matemáticos que podem ser utilizados para este fim, sendo alguns dos mais utilizados o modelo de ordem zero, o modelo de Higuchi e principalmente o modelo de Korsmeyer-Peppas (46-49).

Este modelo desenvolvido por Korsmeyer e Peppas (48, 49), por vezes também chamado lei da potência, permite caracterizar a libertação de um fármaco quando o mecanismo predominante é uma combinação de dois fenómenos aparentemente independentes (transporte Fickiano e transporte caso II, não Fickiano) e é representado pela seguinte equação:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = a t^n + b$$

em que  $a$  representa uma constante cinética que incorpora as características estruturais e geométricas da forma de libertação controlada expressa em unidades tempo<sup>-n</sup>,  $b$  é a quantidade de fármaco no tempo 0,  $n$  é o chamado expoente de libertação do fármaco e a função de  $(t)$  é  $M_t/M_\infty$  (fração do fármaco libertado).

O valor do expoente de libertação ( $n$ ) permite caracterizar e interpretar os diferentes mecanismos de libertação. Para  $n=0,5$  o fenómeno responsável pela libertação é a difusão (de acordo com a lei de Fick), para  $n$  entre 0,5 e 1,0 correspondente a um transporte anómalo e para  $n=1,0$  correspondente a um transporte Caso-II. Os parâmetros deste modelo foram calculados utilizando o suplemento Solver do programa informático Ms Excel 2013 (Microsoft, Redmond, EUA).

### **2.3 Análise estatística**

Os resultados foram analisados estatisticamente recorrendo ao teste paramétrico, t-student ou ANOVA quando se tratava de dois ou mais grupos, respetivamente, após a confirmação da normalidade e homogeneidade da variância com os testes de Shapiro-Wilk e Levene. Diferenças entre mais de dois grupos foram comparadas posteriormente utilizando um teste *post hoc* (Tukey HSD). As amostras foram analisadas usando um nível de significância de 95% ( $\alpha = 0,05$ ). Todas as análises estatísticas foram realizadas com o programa informático IBM SPSS Statistics for Windows (Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp., EUA).

## 3 Resultados e discussão

### 3.1 Preparação das películas

Além das formulações incluídas na Tabela III e na Tabela IV, foram testadas outras formulações (Anexo 1) que não formaram uma película, por diversos motivos como a precipitação do polímero, a formação de uma pasta em vez de uma película, a separação das substâncias durante a evaporação, entre outros.

Inicialmente, foram preparadas películas usando o HPMC como polímero. Com base nestes películas, foram estudadas algumas características dos mesmos, foi afinado o método de produção e escolhido o plastificante. No entanto, devido à erosão rápida do HPMC, este não iria permitir a libertação prolongada do fármaco que era pretendida. Foram então testados outros polímeros. Dos polímeros testados, nenhum apresentou as propriedades necessárias e passou-se então a testar combinações de polímeros e películas de dupla camada, afinando as combinações e respetivas concentrações até ser possível obter uma película com as características desejadas e incorporar o fármaco na mesma.

Após todo este processo, e de acordo com os resultados dos testes apresentados de seguida, foi escolhida uma película de dupla camada, com a formulação A, que se segue:

**Camada 1:** 2% HPMC, 0,5% EC, 2,5% glicerina dispersos numa solução de etanol/diclorometano (1:1 v/v).

**Camada 2:** 1% Carbómero, 2,5% glicerina dispersos em água purificada.

Cada camada desta película tem uma função na formulação, sendo que a camada 1 se destina à incorporação do fármaco e, por sua vez, à sua libertação e a camada 2 destina-se a aderir à mucosa bucal. O fármaco foi incorporado na camada 1 graças à sua afinidade para solventes orgânicos e, desta forma, a libertação prolongada do fluconazol é garantida graças à dificuldade em solubilizar a EC em água, aumentando assim o tempo necessário para a dissolução da camada 1 na cavidade bucal, que é bastante aquosa. Foi possível produzir películas com 1% e 2% de fluconazol. Estas películas foram testadas da mesma forma que os respetivos placebos.

A película obtida era homogénea, flexível, transparente, não apresentava partículas insolúveis e apresentava-se, maioritariamente, sem bolhas.

### 3.2 Resistência à saliva

Os resultados deste teste foram determinantes para avançar com os polímeros ou não e podem ser observados na Tabela V.

Uma vez que se pretende uma película de libertação prolongada é crucial que a mesma não se desintegre na primeira hora, o que permitiu a exclusão de películas compostas unicamente por HPMC, quitosano e alginato de sódio. Após o resultado da película com EC testou-se uma combinação deste polímero com HPMC que apresentou um resultado favorável, uma vez que a película, após uma hora submersa em saliva se encontrava num processo lento de gelificação.

*Tabela V. Resultados do teste de resistência à saliva*

<b>Polímero(s)</b>	<b>Resistência à saliva após 1 hora</b>
<b>HPMC</b>	Desintegração total
<b>Quitosano</b>	Desintegração parcial
<b>Alginato de sódio</b>	Desintegração total
<b>EC</b>	Sem desintegração
<b>HPMC:EC</b>	Gelificação
<b>HPMC:EC/Carbómero</b>	Gelificação
<b>HPMC:EC/Quitosano</b>	Gelificação

Este teste foi repetido nas películas contendo fluconazol e foi verificado o mesmo resultado, apresentando-se as películas em gelificação, após 1 hora submersas em saliva.

### 3.3 Extensibilidade

Pode ser observado na Figura 12 um exemplo dos dados obtidos, durante a medição da extensibilidade das películas, a partir do *software* Texture Exponent. Para avaliação da distância que as películas se estendem sem romper foi tida em conta a distância em dois pontos representados na figura: o ponto marcado como o início e o pico. O ponto marcado como início refere-se ao ponto em que a película está totalmente esticada, a partir do qual a mesma é estendida até romper. A força necessária para romper o filme é dada pelo pico máximo de força representado na Figura 12.

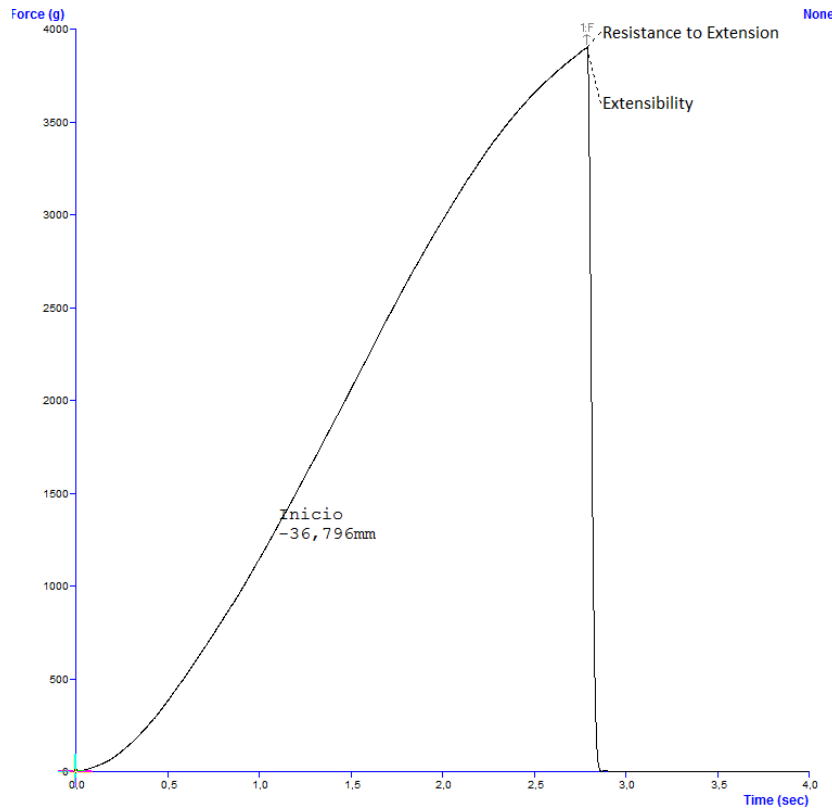


Figura 12. Dados de extensibilidade dados pelo Texture Exponent.

Inicialmente, foi testada a extensibilidade de várias películas que continham o HPMC como polímero e variações no plastificante de forma a escolher o plastificante ideal (Figura 13). Nesta fase, foram testadas 3 películas de 3 lotes diferentes para cada formulação. Em relação à distância, a glicerina e o PEG 400 apresentaram efeitos semelhantes na formulação ( $p=0,659$ ). Por sua vez, a presença do PG é semelhante a não ter qualquer plastificante na formulação ( $p=0,595$ ). Nos outros casos a diferença foi significativa ( $p<0,001$ ). Das três películas testadas, é possível observar bons resultados para as películas com glicerina e com PEG 400. Por sua vez, o PG apresentou um menor contributo para o aumento da extensibilidade das películas, pois apesar de aumentar a força necessária para romper as mesmas, torna-as menos resistentes.

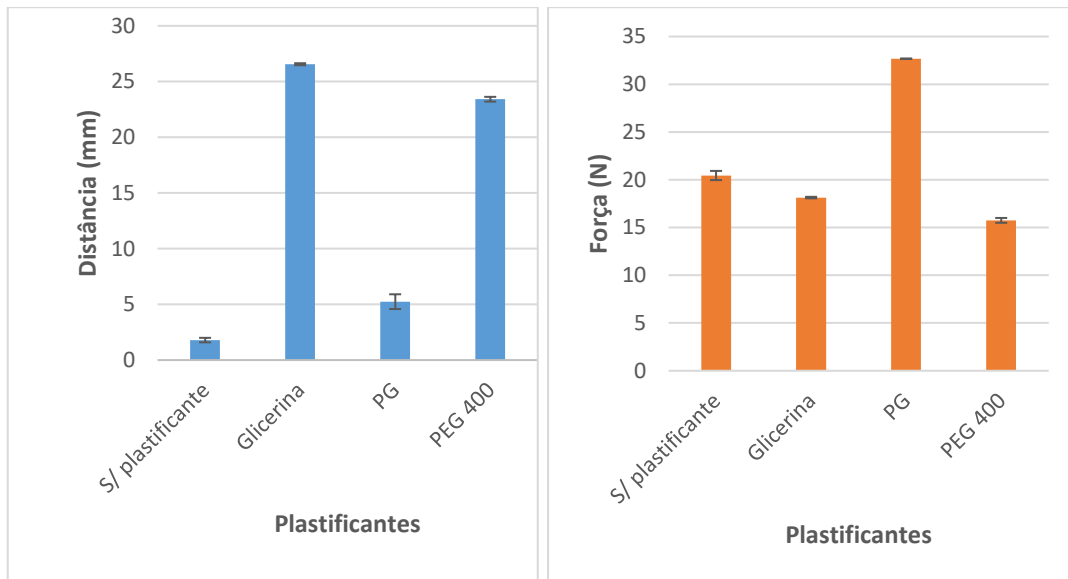


Figura 13. Relação entre os plastificantes e a extensibilidade das películas:  
A) Distância B) Força.

Apesar dos resultados, em relação à força, mostrarem que as películas com PG e sem plastificante necessitam de uma força maior para quebrar, é possível observar que essa força, para as 4 películas, não é inferior a 15 N, o que já é satisfatório (50). Assim, entre a glicerina e o PEG 400, foi selecionada a glicerina.

Uma vez selecionado o plastificante, diferentes polímeros foram testados (Figura 14). A partir daqui, neste teste, foram utilizadas 3 películas de cada formulação. Apesar das películas com EC não apresentarem resultados favoráveis, uma vez que são extremamente frágeis, devido a outras características deste polímero decidiu-se avançar com uma combinação do mesmo com HPMC, o polímero que, até então, tinha demonstrado melhores resultados em relação à extensibilidade da película. Podemos observar que essa combinação melhorou a extensibilidade da película.

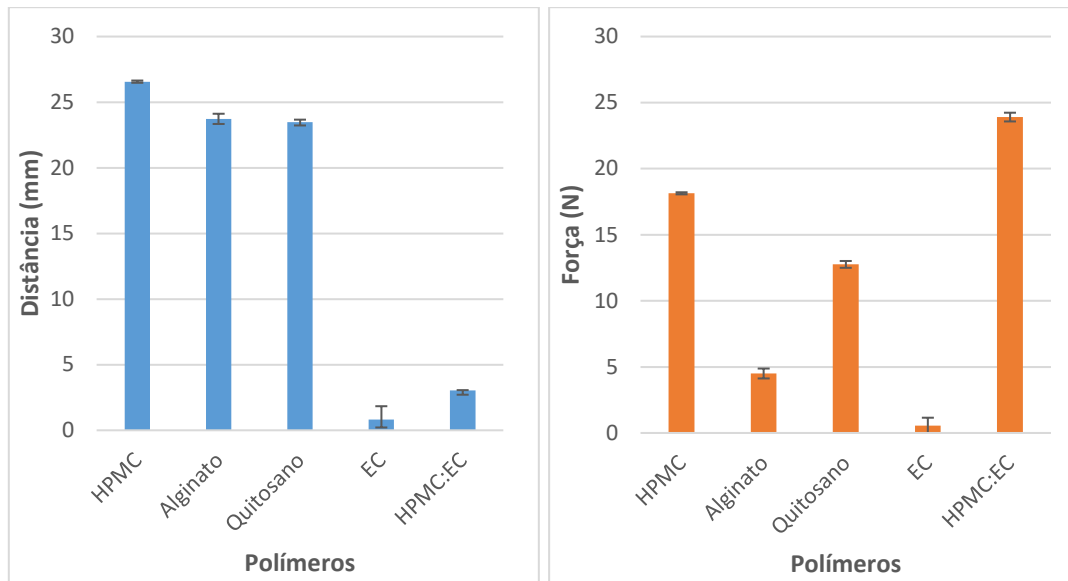


Figura 14. Relação entre os polímeros e extensibilidade das películas: A) Distância B) Força.

Em relação à distância, o HPMC, o alginato de sódio, e o quitosano são considerados semelhantes entre si ( $p > 0,868$ ) e diferentes da EC e da combinação HPMC:EC ( $p < 0,042$ ), que, por sua vez, são considerados também semelhantes entre si ( $p = 0,997$ ). Em relação à força, podemos observar 2 grupos: o HPMC com a combinação HPMC:EC e a EC com o alginato de sódio, o quitosano considera-se semelhante aos 2 grupos observados. Apesar dos resultados da combinação do HPMC com EC não serem estatisticamente significativos em relação à distância, decidiu-se aprofundar as características desta formulação e testar várias proporções dos 2 polímeros.

Como se pode observar na Figura 15, existe uma relação linear entre o aumento da proporção do HPMC na película (e conseqüente diminuição da EC) com o aumento da distância necessária para romper essa película. O mesmo não se pode dizer em relação à força, em que não é possível observar qualquer relação. No entanto, todas as películas demonstraram necessitar de uma força superior a 15 N para levar ao rompimento das mesmas.

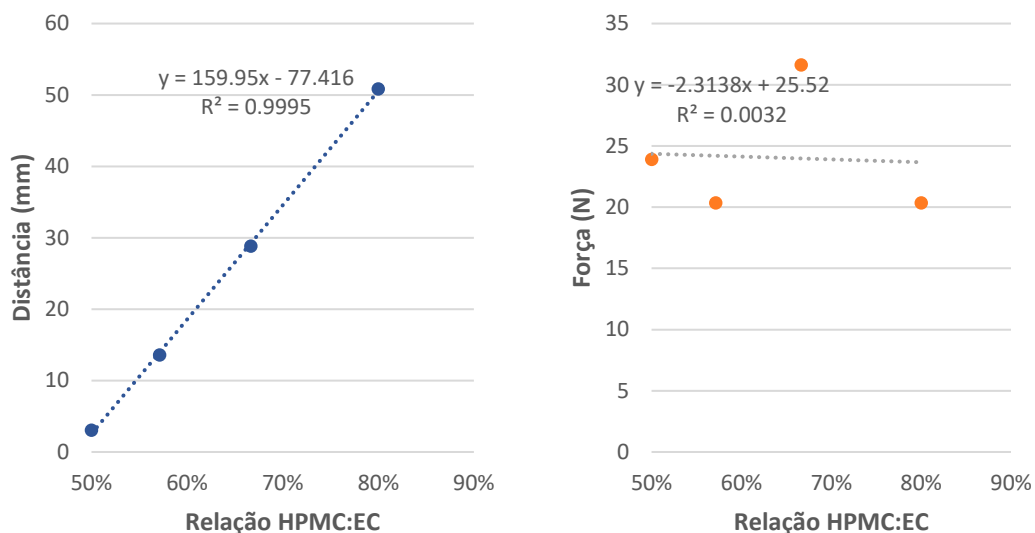
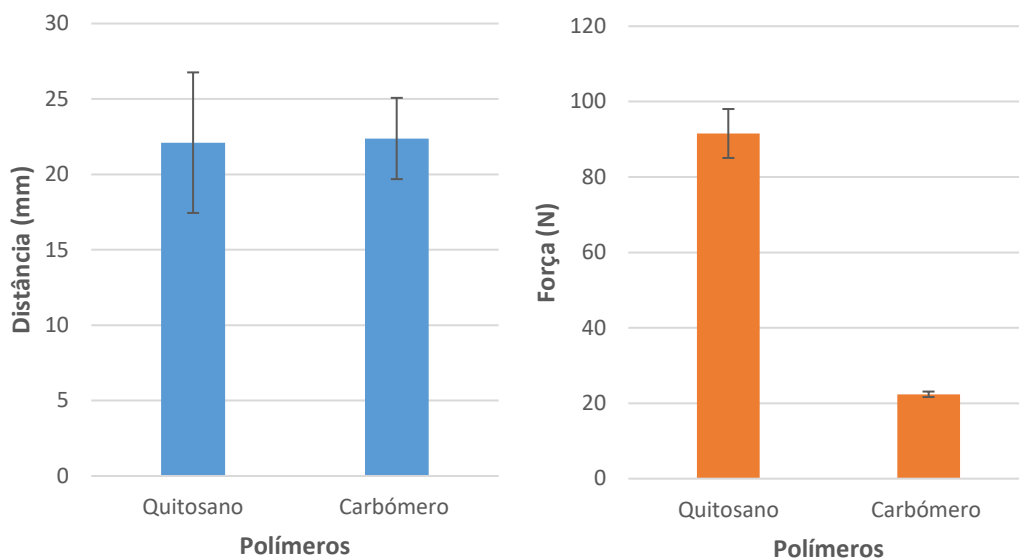


Figura 15. Estudo da relação HPMC:EC com base na extensibilidade: A) Distância B) Força.

As películas com HPMC:EC (4:1), ou seja, com 80% de HPMC para 20% de EC, demonstraram uma grande extensibilidade, sendo tanto a distância como a força superiores a uma película só com HPMC, o que já era considerada uma película com boas propriedades a nível de extensibilidade, permitindo o manuseamento da mesma sem o risco de a quebrar.

Após a seleção da melhor relação HPMC:EC, passamos ao estudo da melhor camada adesiva. Podemos ver na Figura 16 os resultados de extensibilidade das películas de duas camadas, uma de HPMC:EC (4:1) e outra de um polímero adesivo. Foram testados o carbómero e o quitosano como polímeros adesivos.



*Figura 16. Relação entre os polímeros adesivos e a extensibilidade das películas:  
A) Distância B) Força.*

É possível afirmar que em relação à distância as películas com carbómero e com quitosano são semelhantes ( $p=0,467$ ), mas pelo contrário, em relação à força são diferentes ( $p<0,001$ ). Em termos práticos, as películas não são muito diferentes em termos de extensibilidade. Apesar das películas com a camada de quitosano se mostrarem muito mais fortes, sendo necessário cerca de quatro vezes mais força para os rasgar, a distância é semelhante para os dois polímeros e a força necessária para romper a película com carbómero é suficiente para o caso.

Por ser de incorporação mais fácil na formulação, foi escolhido o carbómero e explorada uma concentração menor do mesmo, na tentativa de obter uma película mais uniforme, uma vez que esta película apresentava algumas irregularidades em relação à textura..

Na Figura 17 está representada a comparação das películas bucais com diferentes concentrações de carbómero. Em termos de extensibilidade, as películas são semelhantes para ambas as concentrações de carbómero ( $p=0,375$ , em relação à distância;  $p=0,074$ , em relação à força).

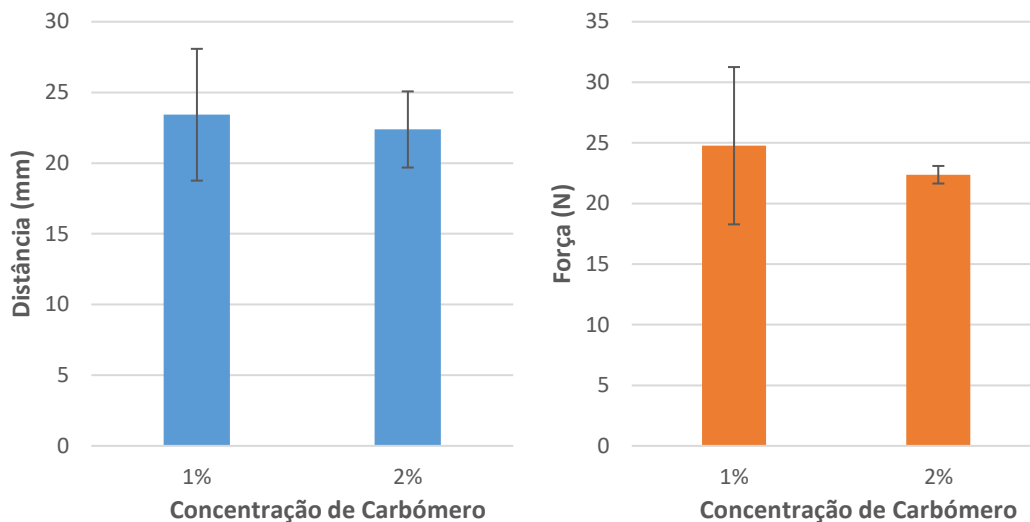


Figura 17. Relação entre a concentração de carbómero e a extensibilidade das películas: A) Distância B) Força.

Após a incorporação do fármaco no placebo selecionado, foi efetuado novamente o teste para garantir que o fluconazol não diminuiu a extensibilidade das películas de forma significativa. Os resultados destes testes estão representados na Figura 18. Podemos ainda afirmar que, em relação à distância, as películas são diferentes ( $p=0,019$ ) e em relação à força são semelhantes ( $p=0.399$ ).

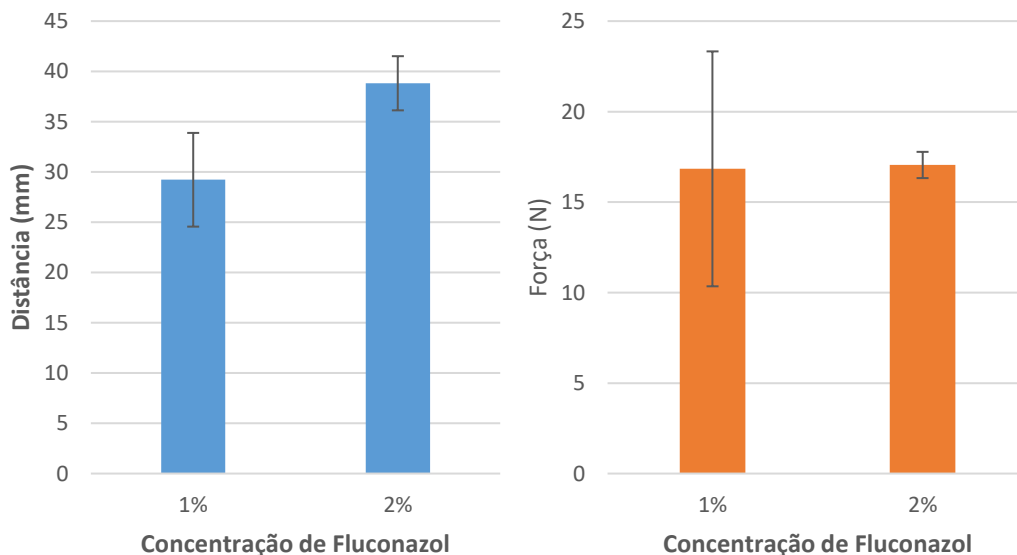


Figura 18. Extensibilidade das películas contendo fluconazol: A) Distância B) Força.

Apesar disso, verifica-se que há um aumento da distância com a incorporação do fluconazol, em relação à película sem fármaco. Sendo a distância a característica principal neste teste, uma vez que reflete, de certa forma, a flexibilidade da película,

podemos assumir que a incorporação do fármaco não tornou as películas inviáveis em relação à extensibilidade das mesmas.

### 3.4 Espessura

É possível observar na Tabela VI os resultados obtidos da medição de espessura. O maior desafio foi produzir películas com espessura uniforme. Obter uma espessura uniforme depende de vários fatores além do tipo de polímero como, por exemplo, o recipiente utilizado e o ambiente em que é evaporado o solvente; a evaporação na *hotte* garante películas mais uniformes que a evaporação na estufa, e isto deve-se ao facto de na *hotte* a evaporação ser mais lenta do que na estufa o que permite uma evaporação uniforme do solvente, conferindo maior uniformidade de espessura.

*Tabela VI. Espessura das películas.*

<b>Formulação</b>	<b>Espessura (mm)</b>
<b>HPMC:EC/Quitosano (2%)</b>	0,38 ± 0,07
<b>HPMC:EC/Carbómero (2%)</b>	0,36 ± 0,04
<b>HPMC:EC/Carbómero (1%)</b>	0,39 ± 0,08

De acordo com os resultados e, entre as películas cuja espessura foi caracterizada, não foram observadas grandes diferenças entre elas.

Na Tabela VII estão os resultados da espessura das películas contendo fluconazol. Notou-se um aumento da espessura, tal como era esperado, uma vez que houve um aumento da quantidade das substâncias utilizadas. A incorporação do fármaco, no geral, provocou também uma menor variação na espessura das películas, uma vez que se provou haver uma menor dispersão dos dados em relação à média. Uma vez que houve uma diminuição da variação na espessura, isto pode indicar que a quantidade de fármaco em cada película será semelhante.

*Tabela VII. Espessura das películas contendo fluconazol.*

<b>Formulação</b>	<b>Espessura (mm)</b>
<b>Película com Fluconazol (1%)</b>	0,43 ± 0,05
<b>Película com Fluconazol (2%)</b>	0,44 ± 0,03

Apesar de no estudo de Yehia 2009 (24) ser indicada uma espessura superior à obtida, e tendo em conta que a importância da espessura reside na facilidade de manuseamento dos mesmos (51), a espessura das películas obtidas garante este requisito.

### 3.5 Uniformidade de massa

Na Tabela VIII estão representadas as massas das películas placebo (média  $\pm$  desvio-padrão). De acordo com os resultados, podemos verificar que o carbómero confere às películas uma massa ligeiramente superior. Dado que o desvio-padrão é igual para as 3 formulações, isto pode indicar-nos que a dispersão dos dados é semelhante.

*Tabela VIII. Massa das películas placebo e respetivo desvio-padrão.*

<b>Formulação</b>	<b>Massa (g)</b>
<b>HPMC:EC/Quitosano (2%)</b>	0,53 $\pm$ 0,03
<b>HPMC:EC/Carbómero (2%)</b>	0,61 $\pm$ 0,03
<b>HPMC:EC/Carbómero (1%)</b>	0,53 $\pm$ 0,03

Na Tabela IX está representada a massa (média  $\pm$  desvio-padrão) das películas contendo fluconazol. Como era esperado, a massa aumentou. No entanto, o desvio-padrão também aumentou, o que indica uma maior dispersão dos dados. Na Figura 19 podem ser vistos os resultados da uniformidade de massa das películas placebo, sob a forma de gráfico caixa de bigodes. Como se pode verificar existe uma menor uniformidade dos dados para as películas com fluconazol, sendo que a película com 1% de fluconazol contém dois *outliers*.

*Tabela IX. Massa das películas contendo fluconazol e respetivo desvio-padrão.*

<b>Formulação</b>	<b>Massa (g)</b>
<b>Fluconazol 1%</b>	0,63 $\pm$ 0,08
<b>Fluconazol 2%</b>	0,69 $\pm$ 0,06

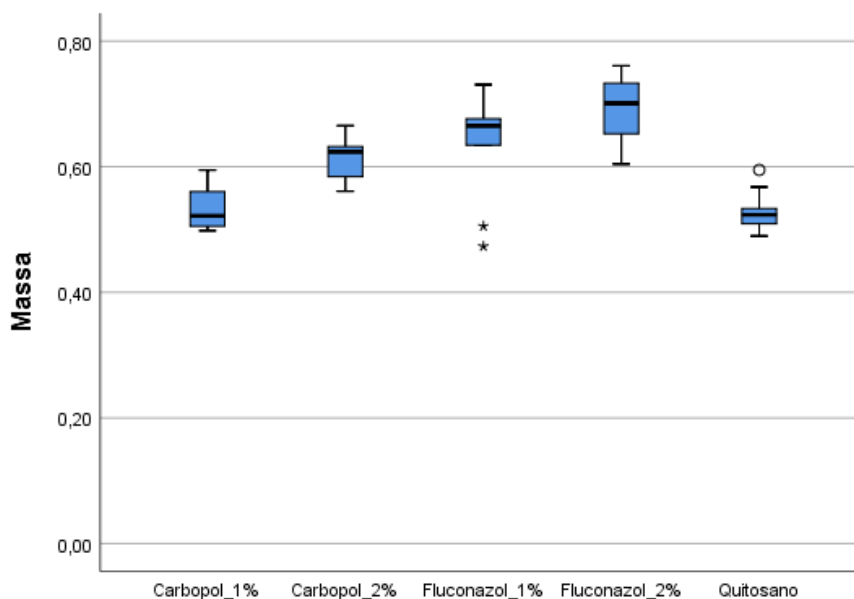


Figura 19 – Diagrama de caixa de bigodes representando a massa das películas.

Esta dispersão dos resultados pode ter acontecido devido ao método utilizado para a evaporação do solvente, uma vez que esta era feita na estufa. Uma forma de tentar diminuir esta dispersão dos dados seria promover uma evaporação mais lenta do solvente.

### 3.6 Força de mucoadesão

Na Figura 20 pode ser observado um exemplo do gráfico de mucoadesão fornecido pelo software Texture Exponent, em que os primeiros segundos se referem ao tempo de contacto da película com a mucosa, e após isso, é apresentado o aumento da força necessária para destacar a película da mucosa em função do tempo. A área sob a curva corresponde então ao trabalho de adesão e o software Texture Exponent, permitiu este cálculo.

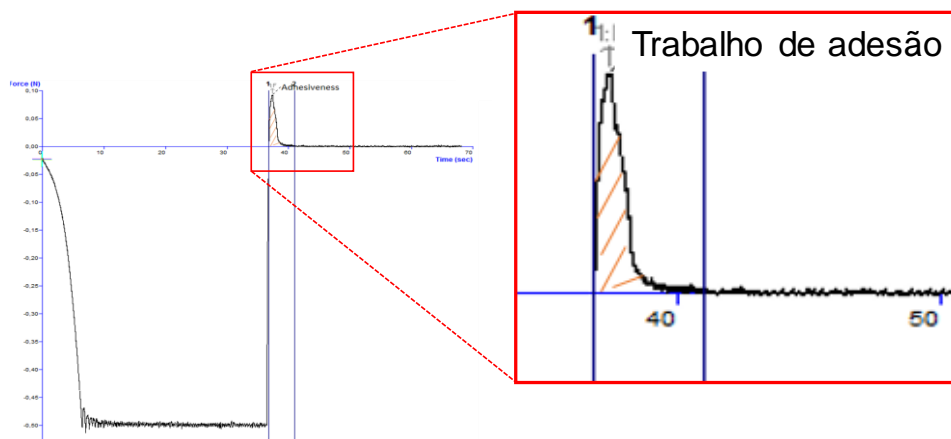


Figura 20. Representação gráfica representativo da mucoadesão, dado pelo software Texture Exponent.

O teste de mucoadesão foi realizado com as formulações que continham uma camada mucoadesiva. Os resultados podem ser observados na Figura 21, onde está representado o trabalho de adesão dos diferentes polímeros e a sua relação com o tempo de contacto.

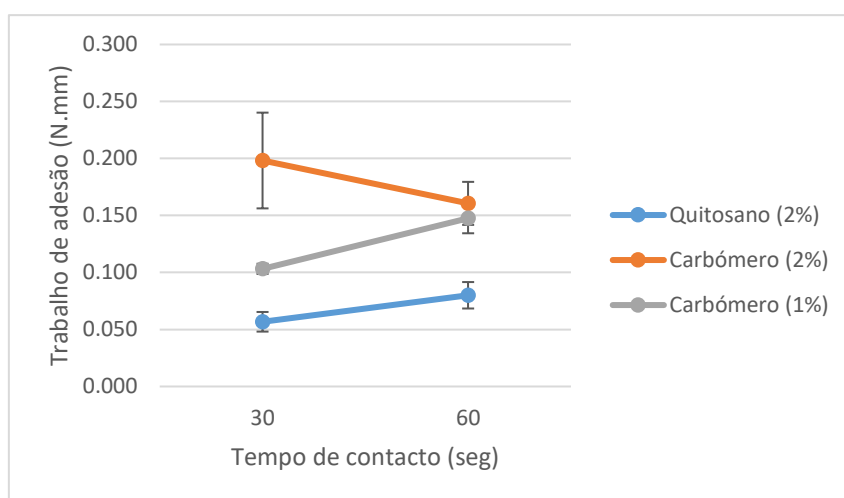


Figura 21. Relação entre o trabalho de adesão, os polímeros adesivos e o tempo de contacto.

Era esperado que com o aumento do tempo de contacto aumentasse também o trabalho de adesão, mas isto não se verificou para as películas com uma camada adesiva com a maior concentração de carbómero. Por essa mesma razão, em relação à mucoadesão a película com uma camada adesiva com a menor concentração de carbómero foi considerada a mais indicada.

Após a incorporação do fármaco, o teste foi repetido. Os resultados encontram-se na Figura 22 onde se verifica que há uma grande variabilidade dos mesmos e uma variação no trabalho de adesão tendo em conta o tempo de contacto, sendo que para uma menor concentração de fármaco há um maior trabalho de adesão para um maior tempo de contacto e para uma maior concentração de fármaco há um maior trabalho de adesão para um menor tempo de contacto. É possível, ainda, verificar que os valores mantêm-se semelhantes o que indica que a incorporação do fluconazol não gerou problemas na mucoadesão das películas.

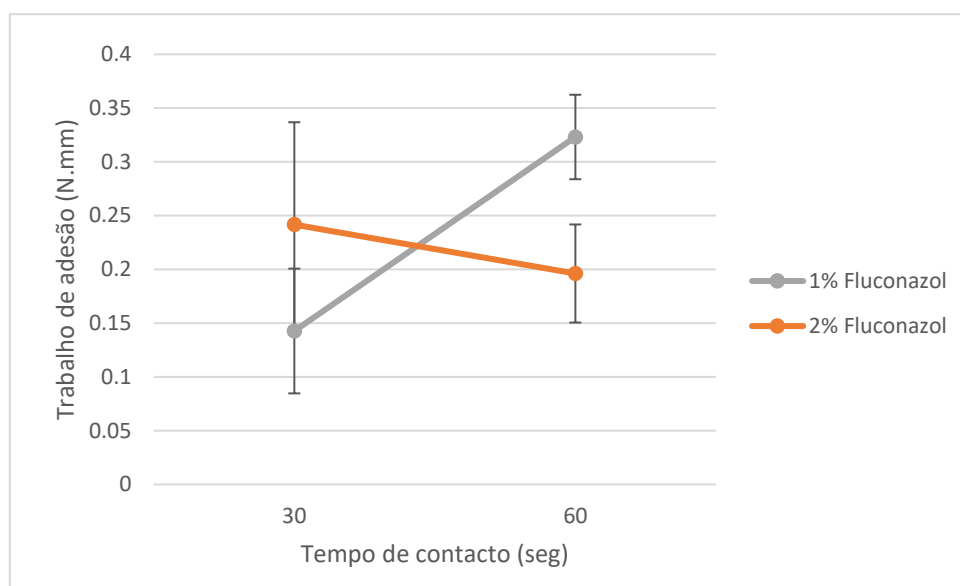


Figura 22. Trabalho de adesão das películas contendo fluconazol.

### 3.7 Capacidade de absorção de água

Os resultados da percentagem de hidratação das películas estão contemplados na Tabela X. As películas apresentaram uma boa percentagem de hidratação, sempre superior a 100%.

Tabela X. Comparação da hidratação das películas.

Formulação	Hidratação (%)
HPMC:EC/Quitosano (2%)	107%
HPMC:EC/Carbómero (2%)	202%
HPMC:EC/Carbómero (1%)	136%

Após incorporação do fármaco, os resultados foram superiores ao placebo como se pode observar na Tabela XI.

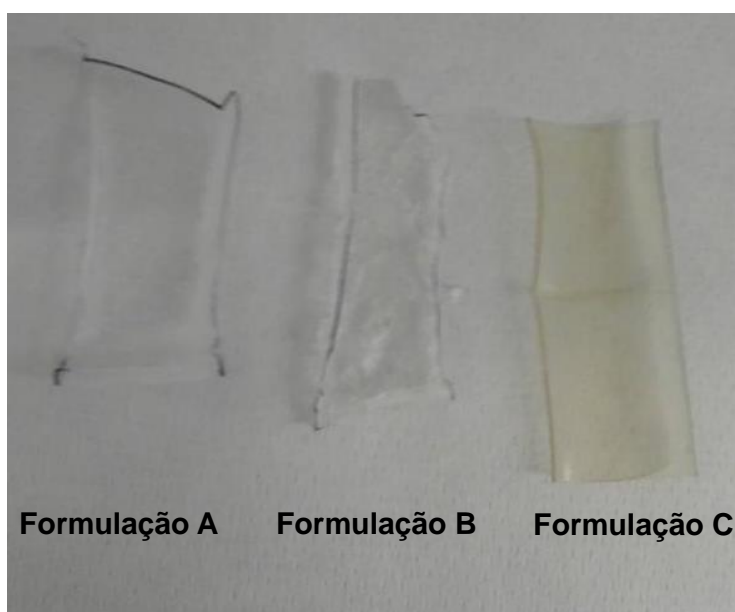
*Tabela XI. Percentagem de hidratação das películas com fluconazol.*

<b>Formulação</b>	<b>Hidratação (%)</b>
<b>Película com fluconazol (1%)</b>	214%
<b>Película com fluconazol (2%)</b>	148%

Os resultados são assim considerados bons, uma vez que a hidratação da película é essencial para a mucoadesão e para a própria libertação do fármaco.

### **3.8 Resistência à dobração**

Nenhuma das películas quebrou após ser dobrada no mesmo local por 300 vezes. É possível observar o estado das películas após as 300 dobragens na Figura 23. Como se pode ver, apenas a película com quitosano ficou marcada, apesar de não ter quebrado.



*Figura 23. Películas após 300 dobragens.*

O mesmo teste foi repetido nas películas com fluconazol, sendo que o resultado foi igual uma vez que as películas não quebraram após 300 dobragens, como se pode ver na Figura 24.

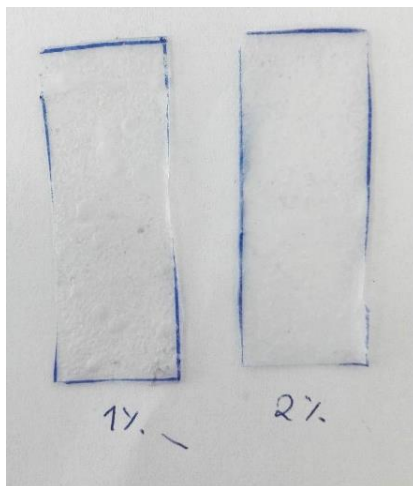


Figura 24. Películas contendo fluconazol após 300 dobragens.

### 3.9 Teor de humidade

O teor de humidade de todas as formulações testadas encontra-se na Tabela XII. Apesar de a literatura indicar como teor de humidade ideal apenas 5%, foi considerado que o teor de humidade das películas testadas foi aceitável permitindo um bom manuseamento, tornando as películas bastante flexíveis.

Tabela XII. Teor de humidade das películas.

Formulação	Teor de humidade
HPMC:EC/Quitosano (2%)	24,37%
HPMC:EC/Carbómero (2%)	24,50%
HPMC:EC/Carbómero (1%)	19,85%
Película com fluconazol (1%)	22,73%
Película com fluconazol (2%)	19,99%

### 3.10 pH superficial

Todas as películas apresentaram um pH entre 5 e 6. Esta é considerada uma boa característica das películas uma vez que este teste serviu apenas para confirmar que estas não são nem muito ácidas nem muito básicas de forma a evitar reações adversas na mucosa oral.

### 3.11 Libertação do fluconazol *in vitro*

Antes do ensaio de dissolução, foram medidos os espectros de absorção do fluconazol e dos excipientes da formulação. Através da análise do espectro de absorção do fluconazol (Figura 25) podemos verificar que o melhor comprimento de onda para a quantificação do fluconazol seria 260 nm.

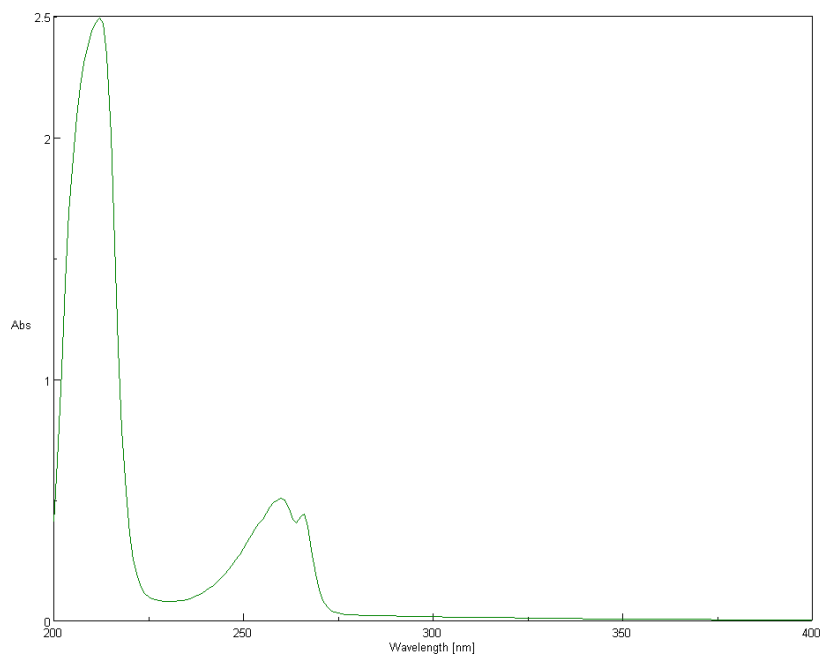


Figura 25. Espectro de absorção do fluconazol.

Em relação aos excipientes, a absorvância máxima aos 260 nm ficava abaixo dos 0.05 e assim, não era expectável que provocassem alterações na medição. Posto isto, decidiu-se avançar com o doseamento das amostras através da espectrofotometria UV-Vis.

Após esta avaliação foram preparadas soluções-padrão para a elaboração de uma curva de calibração. Tendo em conta a concentração de fluconazol nas películas foi estimada a quantidade total de fármaco que poderia ser libertada, e qual a concentração

máxima que poderia ser atingida durante o ensaio de dissolução. As soluções foram preparadas tendo em conta esse valor (Tabela XIII).

Tabela XIII. Concentrações das soluções-padrão.

Solução-padrão	Concentração de fluconazol
120%	0,288 mg/ml
100%	0,240 mg/ml
80%	0,192 mg/ml
60%	0,144 mg/ml
40%	0,096 mg/ml
20%	0,048 mg/ml

Foi medida a absorvância das soluções-padrão e elaborada uma curva de calibração (Figura 26). Através da equação dada por esta reta, foram calculadas as quantidades de fluconazol presentes nas recolhas feitas durante o ensaio de dissolução.

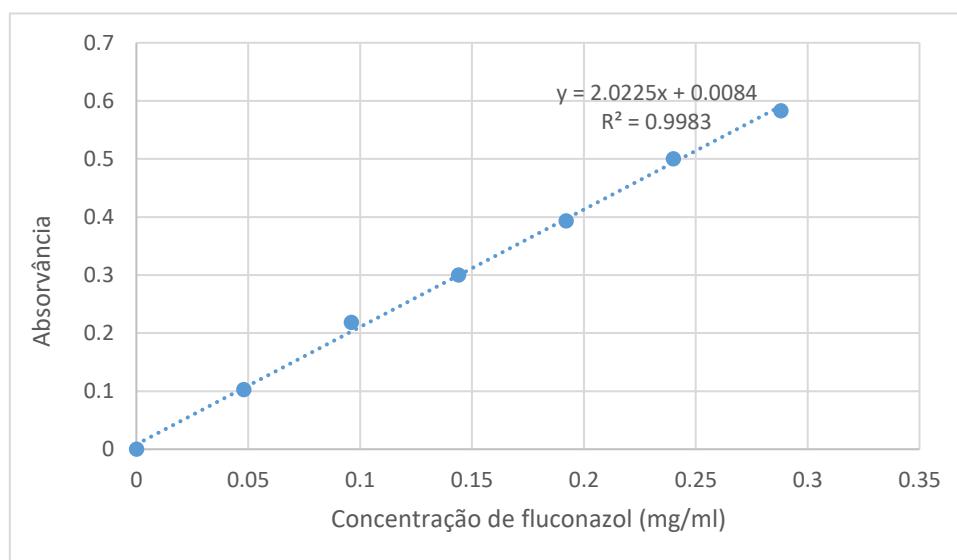


Figura 26. Curva de calibração do fluconazol.

Na Figura 27 é possível visualizar o perfil de libertação do fluconazol *in vitro*. Ambas as formulações atenderam a uma libertação prolongada, sendo necessárias cerca de 3 horas para se libertar a totalidade do fármaco que a película contém. Como se pode verificar, a libertação percentual do fármaco foi muito semelhante para ambas as fórmulas.

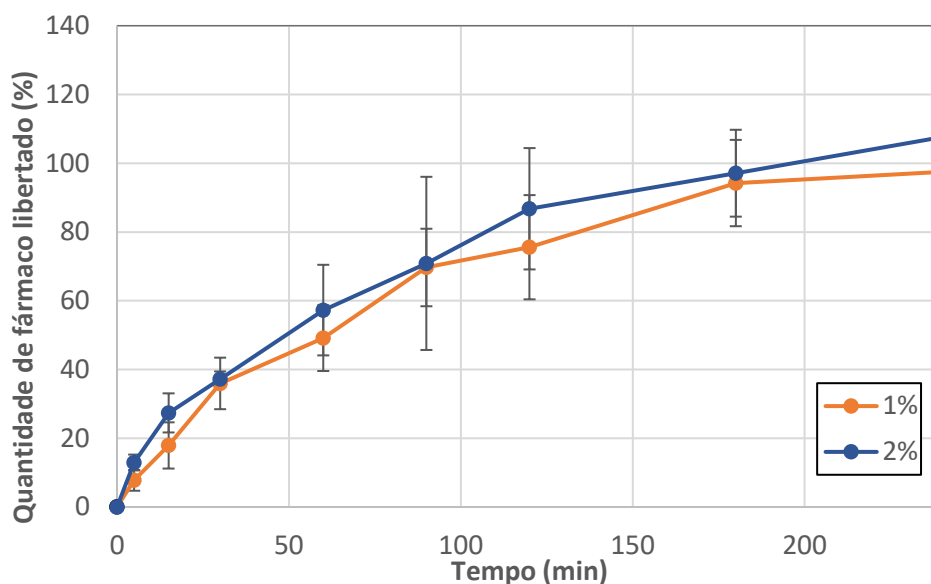


Figura 27. Representação da liberação *in vitro* do fluconazol.

De acordo com os resultados obtidos pela análise do modelo de liberação de Korsmeyer-Peppas (Tabela XIV) podemos verificar que o principal mecanismo responsável pela liberação do fármaco será a difusão *Fickiana* ( $n \approx 0,5$ ). O modelo de Fick tem como base a ideia de que a substância ativa se difunde no sentido da menor concentração, ou seja, do local com maior concentração para o local com menor concentração. A velocidade com que a difusão acontece é diretamente proporcional ao gradiente de concentração. Assim, a velocidade de liberação do fluconazol a partir das películas bucais não será constante, mas sim proporcional à raiz quadrada do tempo decorrido desde o início da liberação.

Tabela XIV. Resultados do modelo de Korsmeyer-Peppas para a liberação do fluconazol.

Parâmetros	1%	2%
<b>b</b>	-14,2114	-11,2244
<b>a</b>	10,0569	11,7510
<b>n</b>	0,4596	0,4325
<b>R<sup>2</sup></b>	0,9860	0,9968
<b>R<sub>ajustado</sub><sup>2</sup></b>	0,9832	0,9961

## 4 Conclusões

Pela análise dos resultados obtidos pode concluir-se que o objetivo deste projeto (formulação de películas bucais contendo fluconazol) foi atingido. Foi possível formular películas bucais mucoadesivas com características favoráveis apesar de serem necessários alguns ajustamentos para ser possível a sua utilização como medicamentos para uso humano, como por exemplo, melhoramento das características organolépticas e da estabilidade. Uma vez que esse não era o objetivo principal deste trabalho, apenas a base da formulação foi idealizada e caracterizada.

Como foi referido anteriormente, após vários testes, foi escolhida a película placebo mais adequada para posterior incorporação do fármaco e caracterização. Para a incorporação do fármaco, testaram-se duas concentrações diferentes do mesmo. Ambas as concentrações foram incorporadas nas películas sem alterar expressivamente as características das mesmas.

Foi estudada a libertação *in vitro* das películas contendo fluconazol e os resultados obtidos corresponderam ao que era esperado, apresentando uma libertação prolongada, atingido-se a libertação da totalidade do fármaco contido na forma farmacêutica após aproximadamente 3 horas. O tempo de libertação parece ser o ideal para uma forma farmacêutica bucal, uma vez que durante a aplicação da mesma, o doente deve evitar comer.

A formulação bucal escolhida, de forma a permitir uma libertação prolongada do fármaco, não se dissolve completamente na boca. Por essa razão, o doente teria que retirar o adesivo após as 3 horas de aplicação, no entanto, como o adesivo entra em processo de gelificação através do contacto com a saliva, este pode ser facilmente retirado bochechando com água.

O aspeto, a espessura, a resistência, a extensibilidade, a mucoadesividade, entre outras características, demonstraram ser indicadas para este tipo de forma farmacêutica.

## 5 Referências bibliográficas

1. Sudhakar Y, Kuotsu K, Bandyopadhyay AK. Buccal bioadhesive drug delivery-- a promising option for orally less efficient drugs. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*. 2006;114(1):15-40.
2. Zhang H, Zhang J, Streisand JB. Oral mucosal drug delivery: clinical pharmacokinetics and therapeutic applications. *Clin Pharmacokinet*. 2002;41(9):661-80.
3. Ginsburg JMC, A. *Essentials of Human Physiology* 1996.
4. Madhav NV, Shakya AK, Shakya P, Singh K. Orotransmucosal drug delivery systems: a review. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*. 2009;140(1):2-11.
5. Sue P. Humphrey RTW. A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. 2001;85(2):162 - 9.
6. Schuenk MS, E.; Schumacher, U. Thieme: *Atlas of Anatomy*: Thieme; 2010.
7. Harris D, Robinson JR. Drug delivery via the mucous membranes of the oral cavity. *J Pharm Sci*. 1992;81(1):1-10.
8. Hao J, Heng PW. Buccal delivery systems. *Drug Dev Ind Pharm*. 2003;29(8):821-32.
9. Dentistry P. Oral mucosa [Available from: <https://pocketdentistry.com/12-oral-mucosa>. Consultado em 20/08/2018.
10. Rathbone MJ, Pather I, Şenel S. Overview of Oral Mucosal Delivery. 2015:17-29.
11. Hearnden V, Sankar V, Hull K, Juras DV, Greenberg M, Kerr AR, et al. New developments and opportunities in oral mucosal drug delivery for local and systemic disease. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2012;64(1):16-28.
12. Hoogstraate JAJ, Wertz PW, Wertz PW. Drug delivery via the buccal mucosa. *Pharmaceutical Science & Technology Today*. 1998;1(7):309-16.
13. Infarmed. *Farmacopeia portuguesa 9: edição oficial*. Lisboa: Infarmed.
14. EDQM - CE. Standard Terms 2016 [Available from: <https://standardterms.edqm.eu>. Consultado em 04/07/2018.
15. Preis M, Knop K, Breitreutz J. Mechanical strength test for orodispersible and buccal films. *Int J Pharm*. 2014;461(1-2):22-9.
16. Infarmed. Infomed - Base de dados de medicamentos 2016 [Available from: <http://www.infarmed.pt/infomed/inicio.php>. Consultado em 13/03/2018.

17. Mansuri S, Kesharwani P, Jain K, Tekade RK, Jain NK. Mucoadhesion: A promising approach in drug delivery system. *Reactive and Functional Polymers*. 2016;100:151-72.
18. Carvalho FC, Bruschi ML, Evangelista RC, Gremião MPD. Mucoadhesive drug delivery systems. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2010;46:1-17.
19. Nicolazzo JAR, B.L.; Finnin, B.C. Buccal penetration enhancers - How do they really work? *Journal of Controlled Release* 2005;105:1 - 15.
20. Lee JW, Park JH, Robinson JR. Bioadhesive-based dosage forms: the next generation. *J Pharm Sci*. 2000;89(7):850-66.
21. Llabot JM, Palma SD, Manzo RH, Allemandi DA. Design of novel antifungal mucoadhesive films Part I. Pre-formulation studies. *Int J Pharm*. 2007;330(1-2):54-60.
22. Asane GS, Nirmal SA, Rasal KB, Naik AA, Mahadik MS, Rao YM. Polymers for mucoadhesive drug delivery system: a current status. *Drug Dev Ind Pharm*. 2008;34(11):1246-66.
23. Nafee NA, Ismail FA, Boraie NA, Mortada LM. Mucoadhesive buccal patches of miconazole nitrate: in vitro/in vivo performance and effect of ageing. *Int J Pharm*. 2003;264(1-2):1-14.
24. Yehia S, El-Gazayerly O, Basalious E. Fluconazole Mucoadhesive Buccal Films: In Vitro/In Vivo Performance. *Current Drug Delivery*. 2009;6(1):17-27.
25. Perumal VA, Lutchman D, Mackraj I, Govender T. Formulation of monolayered films with drug and polymers of opposing solubilities. *Int J Pharm*. 2008;358(1-2):184-91.
26. Juliano C, Pala CL, Cossu M. Preparation and characterisation of polymeric films containing propolis. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2007;17(3):177-81.
27. Wong CF, Yuen KH, Peh KK. An in-vitro method for buccal adhesion studies: importance of instrument variables. *Int J Pharm*. 1999;180(1):47-57.
28. Dixit RP, Puthli SP. Oral strip technology: overview and future potential. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*. 2009;139(2):94-107.
29. Morales JO, McConville JT. Manufacture and characterization of mucoadhesive buccal films. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik eV*. 2011;77(2):187-99.
30. Montvale TP. *Physicians Desk Reference*2005. 2605 p.
31. Wishart DS, Feunang YD, Guo AC, Lo EJ, Marcu A, Grant JR, et al. DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018. *Nucleic acids research*. 2018;46(D1):D1074-D82.

32. Akpan A, Morgan R. Oral candidiasis. *Postgrad Med J*. 2002;78(922):455-9.
33. Charlier C, Hart E, Lefort A, Ribaud P, Dromer F, Denning DW, et al. Fluconazole for the management of invasive candidiasis: where do we stand after 15 years? *J Antimicrob Chemother*. 2006;57(3):384-410.
34. Richardson K. The discovery and profile of fluconazole. *J Chemother*. 1990;2(1):51-4.
35. Servier. Powerpoint image bank 2016 [Available from: <https://smart.servier.com/>]. Consultado em 29/08/2018.
36. Marques M, Löbenberg R, Almukainzi M. Simulated Biological Fluids with Possible Application in Dissolution Testing 2011. 15-28 p.
37. Nair AB, Kumria R, Harsha S, Attimarad M, Al-Dhubiab BE, Alhaider IA. In vitro techniques to evaluate buccal films. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*. 2013;166(1):10-21.
38. Averineni RK, Ganesan S, Mutalik S, Nayak U, Shavi G, Armugam K, et al. Development of mucoadhesive buccal films for the treatment of oral sub-mucous fibrosis: A preliminary study 2009. 199-207 p.
39. Li C, Bhatt PP, Johnston TP. Evaluation of a mucoadhesive buccal patch for delivery of peptides: in vitro screening of bioadhesion. *Drug Dev Ind Pharm*. 1998;24(10):919-26.
40. Thirawong N, Nunthanid J, Puttipatkhachorn S, Sriamornsak P. Mucoadhesive properties of various pectins on gastrointestinal mucosa: an in vitro evaluation using texture analyzer. *Eur J Pharm Biopharm*. 2007;67(1):132-40.
41. Wong C, Yuen K, Peh K. Formulation and evaluation of controlled release Eudragit buccal patches. *International Journal of Pharmaceutics*. 1999;178(1):11-22.
42. Eroglu H, Sargon MF, Oner L. Chitosan formulations for steroid delivery: effect of formulation variables on in vitro characteristics. *Drug Dev Ind Pharm*. 2007;33(3):265-71.
43. Nafee N, Ahmed Boraie M, Ahmed Ismail F, Mohamed Mortada L. Design and characterization of mucoadhesive buccal patches containing Cetylpyridinium chloride 2003. 199-212 p.
44. Bottenberg P, Cleymaet R, Muynck C, Remon JP, Coomans D, Michotte Y, et al. Development and Testing of Bioadhesive, Fluoride-containing Slow-release Tablets for Oral Use. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 1991;43(7):457-64.
45. Costa P, Sousa Lobo JM. Modeling and comparison of dissolution profiles. *European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*. 2001;13(2):123-33.

46. Higuchi T. Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspension. *Journal of pharmaceutical sciences*. 1961;50:874-5.
47. Higuchi T. Mechanism of Sustained-Action Medication. Theoretical Analysis of Rate of Release of Solid Drugs Dispersed in Solid Matrices. *Journal of pharmaceutical sciences*. 1963;52:1145-9.
48. Korsmeyer RW, Peppas NA, editors. *Macromolecular and modeling aspects of swelling-controlled systems*. New York: Marcel Dekker; 1983.
49. Korsmeyer RW, Gurny R, Doelker E, Buri P, Peppas NA. Mechanisms of Solute Release from Porous Hydrophilic Polymers. *International journal of pharmaceutics*. 1983;15(1):25-35.
50. Alanazi FK, Abdel Rahman AA, Mahrous GM, Alsarra IA. Formulation and physicochemical characterisation of buccoadhesive films containing ketorolac. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2007;17(3):183-92.
51. Naz K, Shahnaz G, Ahmed N, Qureshi NA, Sarwar HS, Imran M, et al. Formulation and In Vitro Characterization of Thiolated Buccoadhesive Film of Fluconazole. *AAPS PharmSciTech*. 2017;18(4):1043-55.

## 6 Anexos

Anexo 1. Lista de formulações que não formaram uma película

Formulação	Excipientes
D	95,5% H <sub>2</sub> O 1% HPMC K15M 1% Carbómero 2,5% Glicerina
E	95,5% H <sub>2</sub> O 1% HPMC K15M 1% Carbómero 2,5% PEG 400
F	95,5% H <sub>2</sub> O 1% HPMC K15M 1% Carbómero 2,5% Propilenoglicol
G	85% Etanol 5% Etilcelulose 5% HPMC 5% Glicerina
H	95,5% H <sub>2</sub> O 2% Eudragit RS PO 2,5% Glicerina
I	95,5% H <sub>2</sub> O 2% Eudragit RL PO 2,5% Glicerina

Anexo 2 – Análise estatística do efeito plastificante - Distância.

Tests of Normality							
	Codigo	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
D	Glicerina	0,370	3	.	0,786	3	0,081
	PEG 400	0,324	3	.	0,877	3	0,314
	PG	0,272	3	.	0,946	3	0,554
	S/ plastificante	0,201	3	.	0,994	3	0,857

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
D	Based on Mean	5,179	4	9	0,019
	Based on Median	0,889	4	9	0,509
	Based on Median and with adjusted df	0,889	4	4,950	0,533
	Based on trimmed mean	4,589	4	9	0,027

Multiple Comparisons						
Dependent Variable: D						
Tukey HSD						
(I) Codigo	(J) Codigo	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Glicerina	PEG 400	3,14011	2,67932	0,659	-5,4400	11,7202
	PG	21,31294*	2,67932	0,000	12,7328	29,8931
	S/ plastificante	24,76256*	2,67932	0,000	16,1824	33,3427
PEG 400	Glicerina	-3,14011	2,67932	0,659	-11,7202	5,4400
	PG	18,17283*	2,67932	0,001	9,5927	26,7530
	S/ plastificante	21,62244*	2,67932	0,000	13,0423	30,2026
PG	Glicerina	-21,31294*	2,67932	0,000	-29,8931	-12,7328
	PEG 400	-18,17283*	2,67932	0,001	-26,7530	-9,5927
	S/ plastificante	3,44961	2,67932	0,595	-5,1305	12,0297
S/ plastificante	Glicerina	-24,76256*	2,67932	0,000	-33,3427	-16,1824
	PEG 400	-21,62244*	2,67932	0,000	-30,2026	-13,0423
	PG	-3,44961	2,67932	0,595	-12,0297	5,1305

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

### Homogeneous Subsets

<b>D</b>			
Tukey HSD <sup>a</sup>			
Codigo	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
S/ plastificante	3	1,7939	
PG	3	5,2435	
PEG 400	3		23,4163
Glicerina	3		26,5564
Sig.		0,595	0,659
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.			

### Anexo 3 - Análise estatística do efeito plastificante - Força.

<b>Tests of Normality</b>							
	Codigo	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
F	Glicerina	,178	3	.	,999	3	,956
	PEG 400	,219	3	.	,987	3	,781
	PG	,338	3	.	,852	3	,246
	S/ plastificante	,212	3	.	,990	3	,812
a. Lilliefors Significance Correction							

<b>Test of Homogeneity of Variances</b>					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
F	Based on Mean	3,235	3	8	,082
	Based on Median	2,109	3	8	,177
	Based on Median and with adjusted df	2,109	3	2,834	,286
	Based on trimmed mean	3,161	3	8	,086

Multiple Comparisons						
Dependent Variable: F						
Tukey HSD						
(I) Codigo	(J) Codigo	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Glicerina	PEG 400	2,38713	4,37641	0,945	-11,6277	16,4019
	PG	-14,54157*	4,37641	0,042	-28,5564	-0,5268
	S/ plastificante	-2,31138	4,37641	0,950	-16,3262	11,7034
PEG 400	Glicerina	-2,38713	4,37641	0,945	-16,4019	11,6277
	PG	-16,92870*	4,37641	0,020	-30,9435	-2,9139
	S/ plastificante	-4,69851	4,37641	0,714	-18,7133	9,3163
PG	Glicerina	14,54157*	4,37641	0,042	0,5268	28,5564
	PEG 400	16,92870*	4,37641	0,020	2,9139	30,9435
	S/ plastificante	12,23019	4,37641	0,089	-1,7846	26,2450
S/ plastificante	Glicerina	2,31138	4,37641	0,950	-11,7034	16,3262
	PEG 400	4,69851	4,37641	0,714	-9,3163	18,7133
	PG	-12,23019	4,37641	0,089	-26,2450	1,7846

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

### Homogeneous Subsets

F			
Tukey HSD <sup>a</sup>			
Codigo	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
PEG 400	3	15,7487	
Glicerina	3	18,1358	
S/ plastificante	3	20,4472	20,4472
PG	3		32,6774
Sig.		0,714	0,089
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.			

Anexo 4 – Análise estatística do efeito do polímero - Distância.

Tests of Normality							
	Codigo	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
D	Alginato	0,312	3	.	0,896	3	0,373
	EC	0,260	2	.			
	HPMC	0,300	3	.	0,913	3	0,428
	Quitosano	0,376	3	.	0,773	3	0,052
	HPMC:EC	0,357	3	.	0,814	3	0,149
a. Lilliefors Significance Correction							

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
D	Based on Mean	5,179	4	9	0,019
	Based on Median	0,889	4	9	0,509
	Based on Median and with adjusted df	0,889	4	4,950	0,533
	Based on trimmed mean	4,589	4	9	0,027

Multiple Comparisons							
Tukey HSD							
Dependent Variable	(I) Codigo	(J) Codigo	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
D	Alginato	EC	22,90800*	6,58516	0,042	0,7649	45,0511
		HPMC	-5,62933	5,88995	0,868	-25,4347	14,1761
		Quitosano	0,23167	5,88995	1,000	-19,5737	20,0371
		HPMC:EC	20,67500*	5,88995	0,040	0,8696	40,4804
	EC	Alginato	-22,90800*	6,58516	0,042	-45,0511	-0,7649
		HPMC	-28,53733*	6,58516	0,012	-50,6805	-6,3942
		Quitosano	-22,67633*	6,58516	0,044	-44,8195	-0,5332
		HPMC:EC	-2,23300	6,58516	0,997	-24,3761	19,9101
	HPMC	Alginato	5,62933	5,88995	0,868	-14,1761	25,4347
		EC	28,53733*	6,58516	0,012	6,3942	50,6805
		Quitosano	5,86100	5,88995	0,851	-13,9444	25,6664
		HPMC:EC	26,30433*	5,88995	0,010	6,4989	46,1097
	Quitosano	Alginato	-0,23167	5,88995	1,000	-20,0371	19,5737
		EC	22,67633*	6,58516	0,044	0,5332	44,8195
		HPMC	-5,86100	5,88995	0,851	-25,6664	13,9444
		HPMC:EC	20,44333*	5,88995	0,043	0,6379	40,2487
	HPMC:EC	Alginato	-20,67500*	5,88995	0,040	-40,4804	-0,8696
		EC	2,23300	6,58516	0,997	-19,9101	24,3761
		HPMC	-26,30433*	5,88995	0,010	-46,1097	-6,4989
		Quitosano	-20,44333*	5,88995	0,043	-40,2487	-0,6379

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

### Homogeneous Subsets

D				
Tukey HSD <sup>a,b</sup>				
Codigo	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
EC	2	0,8070		
HPMC:EC	3	3,0400	3,0400	
Quitosano	3		23,4833	23,4833
Alginato	3		23,7150	23,7150
HPMC	3			29,3443
Sig.		0,996	0,051	0,871

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.727.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

Anexo 5 – Análise estatística do efeito do polímero - Força.

Tests of Normality							
	Codigo	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
F	Alginato	0,255	3	.	0,963	3	0,628
	EC	0,260	2	.			
	HPMC	0,179	3	.	0,999	3	0,951
	Quitosano	0,356	3	.	0,817	3	0,156
	HPMC:EC	0,322	3	.	0,881	3	0,327
a. Lilliefors Significance Correction							

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
F	Based on Mean	5,731	4	9	0,014
	Based on Median	0,808	4	9	0,550
	Based on Median and with adjusted df	0,808	4	3,084	0,592
	Based on trimmed mean	5,003	4	9	0,021

Multiple Comparisons							
Tukey HSD							
Dependent Variable	(I) Codigo	(J) Codigo	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
F	Alginato	EC	3,93975	3,81743	0,835	-8,8967	16,7762
		HPMC	-12,17652*	3,41441	0,037	-23,6578	-0,6953
		Quitosano	-8,25575	3,41441	0,195	-19,7370	3,2255
		HPMC:EC	-19,40459*	3,41441	0,002	-30,8858	-7,9233
	EC	Alginato	-3,93975	3,81743	0,835	-16,7762	8,8967
		HPMC	-16,11627*	3,81743	0,014	-28,9527	-3,2799
		Quitosano	-12,19550	3,81743	0,064	-25,0319	0,6409
		HPMC:EC	-23,34433*	3,81743	0,001	-36,1807	-10,5079
	HPMC	Alginato	12,17652*	3,41441	0,037	0,6953	23,6578
		EC	16,11627*	3,81743	0,014	3,2799	28,9527
		Quitosano	3,92076	3,41441	0,779	-7,5605	15,4020
		HPMC:EC	-7,22807	3,41441	0,291	-18,7093	4,2532
	Quitosano	Alginato	8,25575	3,41441	0,195	-3,2255	19,7370
		EC	12,19550	3,81743	0,064	-0,6409	25,0319
		HPMC	-3,92076	3,41441	0,779	-15,4020	7,5605
		HPMC:EC	-11,14883	3,41441	0,058	-22,6301	0,3324
	HPMC:EC	Alginato	19,40459*	3,41441	0,002	7,9233	30,8858
		EC	23,34433*	3,81743	0,001	10,5079	36,1807
		HPMC	7,22807	3,41441	0,291	-4,2532	18,7093
		Quitosano	11,14883	3,41441	0,058	-0,3324	22,6301

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

### Homogeneous Subsets

F				
Tukey HSD <sup>a,b</sup>				
Codigo	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
EC	2	0,5610		
Alginato	3	4,5007	4,5007	
Quitosano	3		12,7565	12,7565
HPMC	3			16,6773
HPMC:EC	3			23,9053
Sig.		0,803	0,227	0,072

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.727.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.