

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Desenvolvimento de sistemas nanoestruturados contendo Ritonavir para
administração oral

MOSIELE GIARETTA

PORTO ALEGRE, 2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Desenvolvimento de sistemas nanoestruturados contendo Ritonavir para
administração oral

Dissertação apresentada por **Mosiele Giaretta**
para obtenção do GRAU DE MESTRE em
Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Irene Cledes Kulkamp Guerreiro

Porto Alegre, 2018

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 27 de março de 2018, pela Banca Examinadora constituída por:

Profa. Dra. Bianca Ramos Pezzini
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Dra. Fernanda Poletto
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dra. Valquíria Linck Bassani
Universidade Federal do Rio Grande Sul

CIP - Catalogação na Publicação

Giaretta, Mosiele
Desenvolvimento de sistemas nanoestruturados
contendo Ritonavir para administração oral / Mosiele
Giaretta. -- 2018.
88 f.
Orientadora: Irene Cledes Kulkamp Guerreiro.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, , Porto Alegre, BR-RS, 2018.

1. Nanopartículas. 2. Liberação in vitro. 3. Sabor.
I. Guerreiro, Irene Cledes Kulkamp, orient. II.
Título.

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório 307 da Faculdade de Farmácia da UFRGS. O autor recebeu bolsa de estudos financiada pelo CNPq.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer à professora Dra. Irene Cledes Kulkamp Guerreiro pela confiança em mim depositada, por todo ensinamento transmitido e orientações ao longo deste período.

À todos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pelos ensinamentos.

À professora Dra. Sílvia Stanisçuaski Guterres e à professora Dra. Adriana Pohlmann por conceder os equipamentos necessários à realização deste trabalho.

Ao professor Humberto Gomes Ferraz e Bianca Ramos Pezzini por disponibilizarem amostras de fármaco.

À minha família que, mesmo distante, sempre apoiou e incentivou em todos os momentos, principalmente minha mãe Liane, meu pai Alcindo.

Ao Gustavo Veit, meu porto seguro, pelo amor, dedicação, apoio, confiança e paciência nos momentos de ausência.

Aos colegas de laboratório 307, Mariana Domingues Bianchin, Simone Jacobus Berlitz, Helissara Diefenthaler, Luiz Fernando Alves Paim, Samuel Davies, Germano Prebianca, pela amizade construída, momentos de descontração, disponibilidade e auxílio nos experimentos.

Aos colegas de pós-graduação, Tanise Dalmolin, Leidyana da Costa, Rodrigo Cé, Edilene Gadelha, Margani Fin, pelo conhecimento compartilhado e amizade, e especialmente à Lali Ronsoni por me mostrar o caminho e incentivar nesta jornada.

A todas as pessoas que participaram diretamente ou indiretamente na realização deste trabalho.

Ao CNPq, órgão financiador da bolsa de estudos.

RESUMO

Ritonavir é um fármaco inibidor de protease utilizado como monoterapia ou em combinação com outros antirretrovirais para o tratamento da infecção do Vírus da Imunodeficiência Humana em crianças. A posologia duas vezes ao dia é um desafio para crianças e o gosto amargo metálico torna ainda mais difícil a adesão ao tratamento. O objetivo deste estudo foi desenvolver e avaliar formulações de nanopartículas contendo ritonavir para obter uma liberação prolongada. Três nanopartículas foram preparadas pela técnica de deposição interfacial de polímero pré-formado, utilizando Eudragit RS100. Ritonavir 1 mg/mL foi encapsulado no núcleo composto por ácido oleico, policaprolactona triol 300 ou policaprolactona triol 900. A fase aquosa foi composta por água e polissorbato 80. As suspensões foram caracterizadas quanto a distribuição de tamanho, Span, potencial zeta, pH, teor e eficiência de encapsulação. A morfologia foi avaliada através de microscopia eletrônica de transmissão. Um estudo de degradação em fluido gástrico simulado foi realizado, bem como um estudo da liberação *in vitro*. Mucoadesão também foi avaliada através do tamanho de partícula e potencial zeta. O sabor das formulações foi avaliado através de painel sensorial humano com 10 voluntários. As nanopartículas preparadas com ácido oleico apresentaram tamanho de 139 nm, potencial zeta -9,4 mV, Span 0,93, pH 3,29 e teor de 71 %. Nanopartículas de PCLT 300 apresentaram tamanho médio de 559 nm, potencial zeta 5,9 mV, Span 1,66, pH foi 4,23 e teor foi 73 %. Finalmente, nanopartículas de PCLT 900 apresentaram tamanho médio de 120 nm, Span 0,83, potencial zeta 7,0 mV, pH 4,2 e teor de 81%. O ritonavir foi 100 % encapsulado em todas as formulações. Imagens de microscopia eletrônica de transmissão demonstraram partículas esféricas. A formulação de policaprolactona triol 900 foi estável por 30 dias em temperatura ambiente, enquanto as formulações de ácido oleico e policaprolactona triol 300, 15 dias. A taxa de liberação do ritonavir foi maior e mais rápida para a solução de ritonavir, comparado às nanopartículas. A taxa de degradação da formulação com ácido oleico foi maior comparada às outras formulações. Todas formulações apresentaram propriedades mucoadesivas e a avaliação do sabor indicou que o tamanho de partícula pode influenciar na percepção, já que a nanopartícula com maior tamanho-promoveu piora do sabor.

Palavras-chave: Nanopartículas. HIV. Crianças. Liberação. Ritonavir. Sabor.

ABSTRACT

Development of nanostructured systems containing Ritonavir for oral administration. Ritonavir is a protease inhibitor drug used as monotherapy or in combination with other antiretrovirals for the treatment of pediatric Human Immunodeficiency Virus infection. The twice daily posology is a challenge for children and the bitter metallic taste makes the adherence to the treatment even more difficult. The aim of this study was to develop and evaluate nanoparticle formulations containing Ritonavir for a sustained delivery. Three nanoparticles suspensions were prepared by interfacial deposition of preformed polymer, using Eudragit RS100. Ritonavir 1 mg mL^{-1} was encapsulated in the core composed by oleic acid, polycaprolactone triol 300 or polycaprolactone triol 900. The aqueous phase was composed of water and polysorbate 80. The suspensions were characterized in terms of size distribution, Span, zeta potential, pH, drug content and encapsulation efficiency. The morphology was evaluated by transmission electronic microscopy. A simulated gastric fluid degradation study was performed, as well as an *in vitro* drug release study. Mucoadhesion was also evaluated through particle size and zeta potential. The formulations taste was analyzed through a sensory panel with 10 volunteers. The nanoparticles prepared with oleic acid showed mean size of 139 nm, zeta potential – 9.4 mV, Span was 0.93, pH 3.29 and drug content was 71%. The polycaprolactone triol 300 nanoparticles showed mean size of 559 nm, Span was 1.66, zeta potential was 5.9 mV, pH 4.23, and drug content was 73 %. Finally, the PCLT 900 nanoparticles showed mean size of 120 nm, Span was 0.83, zeta potential was 7.0 mV, pH 4.2, and drug content was 81 %. The ritonavir was 100 % encapsulated in all prepared formulations. Transmission electronic microscopy photomicrographs demonstrated spherical particles. The polycaprolactone triol 900 formulation was stable for 30 days at room temperature, while oleic acid and polycaprolactone triol 300 formulations, 15 days. The release rate of the ritonavir was higher and faster for the free ritonavir than from nanoparticles. The degradation rate of the formulation with oleic acid showed was higher than the other formulations. The formulations tested showed mucoadhesive properties and taste evaluation indicated that particle size may influence taste perception, since the formulation with larger size of the nanoparticles, worsened the taste of suspension.

Keywords: Nanoparticles. HIV. Children. Drug release. Ritonavir. Taste.

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO

Figura 1 – Estrutura do vírus da imunodeficiência humana.....	22
Figura 2 – Ciclo de replicação do VIH e mecanismos de ação dos agentes antirretrovirais.....	26
Figura 3 – Estrutura química do ritonavir.....	28
Figura 4 – Estrutura química do eudragit RS100.....	33

CAPÍTULO I

Figure 1 – Photomicrographs of nanoparticles.....	52
Figure 2 – Stability graphics of formulations.....	53
Figure 3 – Release profile <i>in vitro</i> of ritonavir solution and nanoparticles.....	54
Figure 4 – Degradation profile of ritonavir nanoparticles.....	56
Figure 5 – Size distribution of NP _B -900 before interaction with mucin.....	57
Figure 6 – Size distribution of NP _B -900 after interaction with mucin.....	58
Figure 7 – <i>In Vivo</i> sensory panel chart.....	60

LISTA DE TABELAS

INTRODUÇÃO

Tabela 1 – Posologia pediátrica do ritonavir.....	28
---	----

CAPÍTULO I

Table 1 – Composition of ritonavir nanoparticles.....	44
Table 2 – Screening of lipids based on solubility of RIT.....	49
Table 3 – Characterization of nanoparticles.....	51
Table 4 – Correlation coefficient, model selection criterion, and apparent kinetic constant.....	55

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
1.1	VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA.....	21
1.1.1	Histórico e dados epidemiológicos	21
1.1.2	Transmissão e replicação do vírus	21
1.1.3	Prevenção e diagnóstico	23
1.2	TERAPIA ANTIRRETROVIRAL.....	24
1.2.1	Inibidores da protease	26
1.3	RITONAVIR.....	26
1.4	NANOTECNOLOGIA.....	30
1.5	POLÍMEROS.....	32
1.5.1	Eudragit RS100	32
1.5.2	Policaprolactona triol	33
2	OBJETIVOS	35
2.1	OBJETIVO GERAL.....	37
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	37
3	CAPÍTULO I	39
3.1	INTRODUCTION.....	42
3.2	MATERIALS AND METHODS.....	43
3.2.1	Materials	43
3.2.2	Screening of lipids	43
3.2.3	Swelling experiments of polymer films	43
3.2.4	Preparation of nanoparticles formulations	44
3.2.5	Particle size and size distributions	44
3.2.6	Zeta potential	45
3.2.7	pH measurements	45
3.2.8	RIT content and encapsulation efficiency	45
3.2.9	Transmission electron microscopy	46
3.2.10	Storage stability studies	46
3.2.11	<i>In vitro</i> drug release profiles	46
3.2.12	Degradation study	47
3.2.13	Mucoadhesiveness	48
3.2.14	Taste evaluation <i>in vivo</i>	48
3.2.15	Statistical analysis	48

3.3	RESULTS AND DISCUSSIONS.....	49
3.3.1	Screening of lipids.....	49
3.3.2	Swelling experiments of polymer films.....	49
3.3.3	Nanoparticles formulations.....	49
3.3.4	Storage stability study.....	52
3.3.5	<i>In vitro</i> RIT release profile.....	53
3.3.6	Degradation study in simulated gastric environment.....	55
3.3.7	Mucoadhesiveness.....	57
3.3.8	Taste evaluation <i>in vivo</i>	59
3.4	CONCLUSION.....	61
	REFERENCES.....	61
4	CONCLUSÕES	65
	REFERÊNCIAS	69
	ANEXOS	79
	ANEXO A – Termo de consentimento livre e esclarecido - TCLE.....	81
	ANEXO B – Questionário da análise sensorial.....	85

Esta dissertação foi elaborada em forma de capítulo:

Capítulo I: este capítulo foi escrito na forma de artigo para ser submetido à revista científica na área de nanotecnologia farmacêutica.

1.1 VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA

1.1.1 Histórico e dados epidemiológicos

A epidemia causada pelo vírus da imunodeficiência humana (VIH) foi reconhecida pela primeira vez nos Estados Unidos no início da década de 1981, em moradores de São Francisco e Nova York, que apresentavam Sarcoma de Kaposi, Pneumonia por *Pneumocystis carinii* e comprometimento do sistema imune. Os pesquisadores entenderam que se tratava de uma nova doença infecciosa e transmissível. Em 1983, o agente etiológico foi identificado e tratava-se de um retrovírus humano, atualmente denominado Vírus da Imunodeficiência Humana, HIV. Em 1985, houve um teste sorológico para identificar indivíduos infectados (OLIVEIRA; SANTOS; MELLO, 2001).

Em 2017, dados divulgados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) apontam que aproximadamente 36,7 milhões de pessoas vivem com o HIV em todo o mundo, destes, 2,1 milhões são crianças, dentre os quais apenas 43% recebem terapia antirretroviral (ART). Em 2016, 1 milhão de pessoas morreram em decorrências relacionadas à AIDS em nível mundial (WHO, 2017).

Segundo dados divulgados pela OMS, estima-se que 1,3 milhões de mulheres que vivem com HIV engravidam por ano. E em 2016, 160.000 crianças foram recém infectadas com o vírus. Embora este número seja expressivo, o auge da epidemia alcançou cerca de 500.000 crianças infectadas a cada ano (WHO, 2017).

A infecção por HIV em lactentes resulta em mortalidade precoce para muitos ou cria uma condição crônica ao longo da vida que reduz consideravelmente a expectativa de vida (WHO, 2017).

1.1.2 Transmissão e replicação do vírus

A transmissão do vírus se dá principalmente através do contato sexual, uso compartilhado de seringas e agulhas contaminadas, transfusão sanguínea, transmissão vertical, que é aquela passada da mãe para o filho durante o período da gestação e parto, e transmissão durante a amamentação (mãe portadora do vírus ao amamentar o recém-nascido) (SETHI, 2002).

O vírus HIV pertence à família *Retroviridae*. Morfologicamente, é uma partícula esférica, que mede de 100 – 120 nm de diâmetro, em seu núcleo apresenta duas cópias de RNA, encapsulados por um nucleocapsídeo, capsídeo e um envelope externo composto por uma bicamada fosfolipídica. No seu genoma, possui 3 genes que codificam as proteínas estruturais e enzimas virais, *gag*, *pol* e *env* (BRASIL, 2015; DAS NEVES et al., 2010; LEVY, 2007).

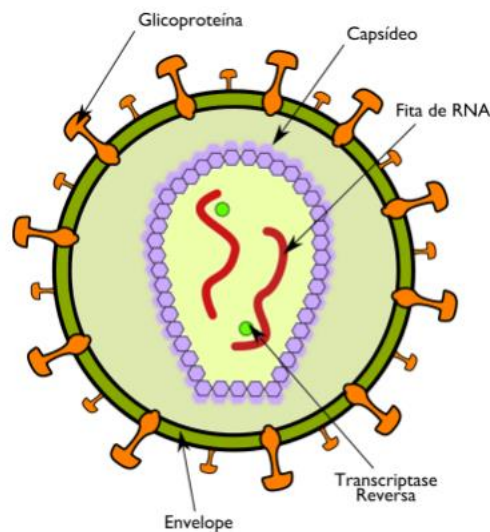


Figura 1 – Estrutura do VIH

Fonte: Ciência informativa (2018).

A partir da entrada do vírus no organismo, ocorre uma alta replicação, na grande maioria das vezes, atingindo órgãos linfáticos (MACHADO, 1998). O VIH apresenta uma habilidade singular de livrar-se da atividade humoral (anticorpos), atacando e eliminando as células T CD4⁺, que são responsáveis pela defesa do organismo, dessa maneira, destruindo de fato o sistema imune do portador do vírus (MARTIN, 1998).

O ciclo de replicação do vírus se dá através da ligação de glicoproteínas virais (gp120), ao receptor específico da superfície celular, principalmente os linfócitos T – CD4, após essa ligação, ocorre a fusão do envelope do vírus com a membrana da célula, entrando no citoplasma e liberando o seu núcleo. A enzima transcriptase reversa transforma a dupla fita de RNA viral em DNA pró-viral, que se une ao material genético da célula hospedeira. O transporte do DNA complementar para o núcleo da célula havendo integração do genoma celular (provírus) é realizado pela enzima integrase. Este provírus é reativado e assim produz RNA mensageiro viral. A

enzima protease produz proteínas virais e as quebra em subunidades. Estas regulam a síntese de novos genomas virais e formam a estrutura externa de novos vírus, podendo permanecerem no fluido extracelular ou infectar novas células (SOUZA; ALMEIDA, 2003).

1.1.3 Prevenção e diagnóstico

A prevenção é um processo de suma importância para o controle da infecção do vírus do HIV não só a nível nacional, como mundial. Recomendações e orientações básicas são necessárias tanto em escolas, iniciando o processo de conscientização precocemente no início do ciclo escolar, quanto em mídias sociais por parte do governo e sociedade para que a informação alcance todas as pessoas (BRASIL, 2008).

Abordagens preventivas objetivam prevenir a transmissão do HIV para outras pessoas, evitar a reinfecção e a aquisição de outros agravos como Sífilis, vírus da hepatite B e/ou hepatite C. Um dos recursos mais importantes é utilização de preservativos e o uso adequado de agulhas e seringas, nunca as reutilizando. A orientação às gestantes portadoras do vírus também é de grande importância, referente à transmissão vertical (BRASIL, 2008).

O diagnóstico do HIV é realizado através de exame sorológico baseado no aparecimento de anticorpos Anti-HIV após a exposição ao vírus. Antes de iniciar a testagem, o paciente deve ser esclarecido quanto as formas de transmissão, significado dos resultados dos exames, e sobre a chamada janela imunológica, que é o período entre a infecção pelo HIV, até a primeira detecção de anticorpos Anti-HIV, que durante uma infecção recente, podem estar em níveis mais baixos e não serem detectados (BRASIL, 2008).

Em crianças e recém-nascidos, a identificação precoce é essencial para dar início a terapia antirretroviral e tomar os cuidados necessários quanto ao aparecimento de infecções oportunistas. Todos os recém-nascidos expostos ao HIV devem receber profilaxia com antirretrovirais, o qual deverá ser administrado logo após o nascimento (BRASIL, 2017a).

Os testes para detecção podem ser classificados como ensaios de triagem e ensaios confirmatórios. O teste de triagem utilizado no Brasil é o Elisa, que foi desenvolvido para detectar todos os indivíduos infectados, e é um ensaio

considerado muito sensível, produzindo poucos resultados falso-negativo. Já os ensaios confirmatórios, identificam os indivíduos que não estão infectados, mas tem resultados reativos nos ensaios de triagem. Imunofluorescência indireta, Imunoblot e Western blot são os ensaios confirmatórios utilizados, e são considerados muito específicos, gerando poucos resultados falso-positivo (ABERG et al., 2009; BRASIL, 2008; DAMHORST et al., 2013).

1.2 TERAPIA ANTIRRETROVIRAL

No ano de 1996, houve um uso generalizado de combinações efetivas de medicamentos antiretrovirais inicialmente denominada terapia antiretroviral altamente ativada ou HAART, ou referido como cART, nos Estados Unidos e Europa Ocidental (WING, 2016).

A terapia antirretroviral consiste no uso de medicamentos altamente eficazes em controlar e inibir a replicação viral do HIV de forma completa e duradoura, evitando ao máximo, altos níveis de toxicidade, o que implica na administração concomitante de múltiplos fármacos (RAFFANTI; HAAS, 2001).

Uma das principais causas da não adesão de pacientes ao tratamento é a complexidade do esquema terapêutico, dentre outras. Isso resulta em uma falha terapêutica muito significativa que pode ocasionar a morte. Estudos relatam que para atingir uma ótima resposta ao tratamento com inibidores de protease mais inibidores nucleosídicos da transcriptase reversa, é necessária uma adesão de pelo menos 95 % (RAFFANTI; HAAS, 2001).

Dentre os fatores que influenciam na adesão ao tratamento em crianças, podemos citar os cuidadores, que são as pessoas responsáveis em administrar os medicamentos em crianças mais novas. Estes devem sempre receber orientações referente à preparação, doses e horário de administração. Outro fator é a apresentação e palatabilidade da formulação. Alguns medicamentos não apresentam forma líquida ou seu sabor não é tolerado (BRASIL, 2017a).

Em muitos casos, é comum o aparecimento de vírus resistentes a alguns fármacos em pacientes em início de tratamento, dessa maneira, é prudente ter em mente a possibilidade de novas opções de tratamento (RAFFANTI; HAAS, 2001).

Mais de 30 medicamentos para o tratamento do HIV estão disponíveis para combater a infecção pelo vírus. Estes estão divididos em classes terapêuticas de

acordo com a sua ação, tais como, inibidores de fusão, inibidores da protease, inibidores da transcriptase reversa, inibidores da integrase e inibidores da maturação. O determinante para a escolha do fármaco a ser utilizado são fatores como o estágio da doença, custo da terapia, características do paciente como a idade, seus efeitos toxicológicos e reações adversas e a resistência do fármaco à doença (CUNICO; GOMES; VELLASCO JUNIOR, 2008; DE CLERCQ, 2007; HAMMER et al., 2008).

São chamados fármacos inibidores de fusão aqueles que atacam e impedem o vírus de entrar nas células de defesa do organismo. O fármaco representante da classe é enfuvirtida (T20), que impede a fusão do vírus com a membrana celular (CUNICO; GOMES; VELLASCO JUNIOR, 2008).

Os fármacos inibidores de integrase são aqueles que apresentam atividade inibitória desta enzima, que é a responsável pela inserção do DNA do HIV ao DNA humano, inibindo assim, a replicação do vírus e sua capacidade de infectar novas células. Esta classe tem sido empregada como primeira opção no tratamento inicial de pacientes com o vírus. Seus representantes são raltegravir e dolutegravir (CUNICO; GOMES; VELLASCO JUNIOR, 2008; LOPES, 2016).

Os inibidores da transcriptase reversa atuam sobre a enzima da transcriptase reversa, deixando a cadeia de DNA que o vírus cria dentro da célula de defesa do organismo, defeituosa. Dessa forma, o vírus não se reproduz. Os fármacos pertencentes a esta classe são abacavir, lamivudina, zidovudina (CUNICO; GOMES; VELLASCO JUNIOR, 2008).

Inibidores da maturação destacam-se como uma nova classe de medicamentos para a terapia. O beverimat era o fármaco que estava em desenvolvimento, mas não apresentou eficácia esperada nos estudos fase II por polimorfismos. A molécula BMS-966176 está sendo estudada e testada (LOPES, 2016).

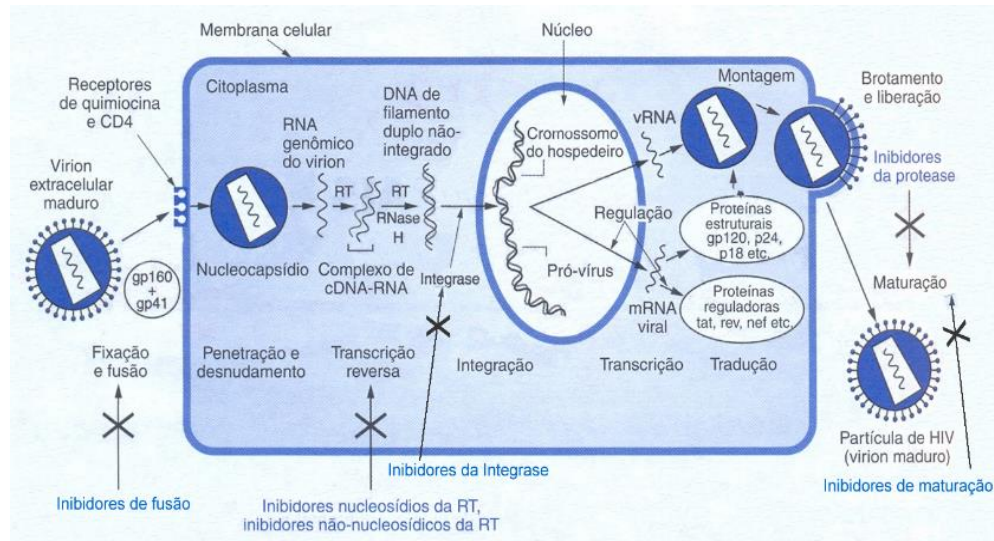


Figura 2 – Ciclo de replicação do VIH, mostrando os locais de ação dos agentes antirretrovirais

Fonte: Raffanti; Haas (2001).

1.2.1 Inibidores da Protease

O fármaco inibidor de protease é um dos componentes mais importantes na terapia de combinação de antirretrovirais. Em comparação com a terapia a base de inibidor de transcriptase reversa não nucleosídico, o inibidor de protease apresenta menor nível de resistência. Porém, efeitos colaterais associados a estes fármacos, prejudicam a adesão ao tratamento, sendo um grande obstáculo no tratamento de pacientes infectados (LV; CHU; WANG, 2015).

No ciclo de replicação do vírus HIV, a protease é uma enzima essencial para que ocorra a maturação viral. Devido a este papel importante, ela se torna um alvo muito popular para desenvolver um novo fármaco. Atualmente, existem vários fármacos pertencentes a esta classe, alguns deles são indinavir, ritonavir, saquinavir, nelfinavir, amprenavir, lopinavir, atazanavir e darunavir, e seus efeitos colaterais no tratamento a longo prazo incluem dislipidemia e doenças cardiovasculares (LV; CHU; WANG, 2015).

1.3 RITONAVIR

O ritonavir (RIT), aprovado pelo FDA (Food and Drug Administration), em março de 1996, é um inibidor competitivo peptidomimético de protease, do vírus da imunodeficiência humana, voltado exclusivamente para o tratamento da AIDS como

monoterapia ou em combinação com outros fármacos denominados como análogos de nucleosídeos (CINTRA, 2001).

Apresenta-se como pó branco, lipofílico, livremente solúvel em metanol, etanol, solúvel em isopropanol, ligeiramente solúvel em acetona, muito pouco solúvel em acetonitrila e praticamente insolúvel em água. Além disso, apresenta sabor amargo-metálico (ABBOTT, 2018; BUDAVARI, 2001; WHO, 2005). Conforme o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), o RIT pertence à classe IV, caracterizando-se como um fármaco de baixa solubilidade e baixa permeabilidade (LINDENBERG; KOPP; DRESSMAN, 2004).

Sua fórmula molecular é C₃₇H₄₈N₆O₅S₂ e massa molecular 720,96 g/mol. O seu nome químico é éster 5-tiazolil-metil do ácido (5S, 8S, 10S, 11S)-10-hidroxi-2-metil-5-(1-metiletil)-1-[2-(1=metiletil)-4-tiazoli]-3,6-dioxo-8,11-bis(fenilmetil)-2,4,7,12-tetra-azatridecano-13-óico (RAFFANTI; HAAS, 2001).

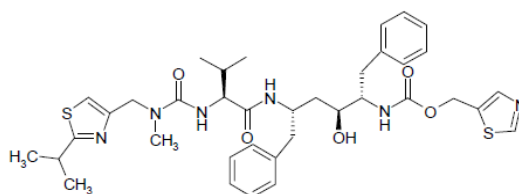
No mercado farmacêutico, o medicamento de referência do RIT é produzido pelo laboratório Abbott, com nome comercial de Norvir[®], nas apresentações solução oral 80mg/mL e cápsula mole 100 mg (BAUER et al., 2001). A administração é via oral, na dose de 600 mg duas vezes ao dia par adultos, totalizando uma dose diária de 1.200 mg (KOROLKOVAS, 2004). A solução oral contém excipientes como álcool etílico (43,2 %), água deionizada, óleo de rícino, propilenoglicol e aromatizantes (ABBOTT, 2018).

Para administração em crianças, o RIT deve ser utilizado em combinação com outros antirretrovirais. A dose recomendada em crianças com mais de 1 mês de idade é de 350 a 400 mg/m² de superfície corporal, por via oral, duas vezes por dia e não deve exceder 600 mg (7,5 mL) duas vezes por dia. Deve ser levada em consideração a quantidade total de álcool, a fim de evitar a toxicidade (ABBOTT, 2018). Dados sobre a área de superfície corporal irão guiar o médico quanto a posologia pediátrica (Tabela 1).

Tabela 1 – Guia para doses pediátricas de ritonavir

Posologia pediátrica ritonavir				
Área de superfície corporal (m ²)	2 doses diárias 250 mg/m ²	2 doses diárias 300 mg/m ²	2 doses diárias 350 mg/m ²	2 doses diárias 400 mg/m ²
0,20	0,6 mL (50 mg)	0,75 mL (60 mg)	0,9 mL (70 mg)	1,0 mL (80 mg)
0,25	0,8 mL (62,5 mg)	0,9 mL (75 mg)	1,1 mL (87,5 mg)	1,25 mL (100 mg)
0,50	1,6 mL (125 mg)	1,9 mL (150 mg)	2,2 mL (175 mg)	2,5 mL (200 mg)
0,75	2,3 mL (187,5 mg)	2,8 mL (225 mg)	3,3 mL (262,5 mg)	3,75 mL (300 mg)
1,00	3,1 mL (250 mg)	3,75 mL (300 mg)	4,4 mL (350 mg)	5 mL (400 mg)
1,25	3,9 mL (312,5 mg)	4,7 mL (375 mg)	5,5 mL (437,5 mg)	6,25 mL (500mg)
1,50	4,7 mL (375 mg)	5,6 mL (450 mg)	6,6 mL (525 mg)	7,5 mL (600 mg)

O RIT é um agente antirretroviral que apresenta atividade seletiva pela protease do HIV, fazendo com que as partículas virais produzidas sejam imaturas e, portanto, incapazes de iniciar um novo ciclo de infecção celular. O fármaco é mais ativo contra o HIV-1 do que contra o HIV-2 (ROITT; BROSTOFF, 1989).

**Figura 3 – Estrutura química do Ritonavir**

Fonte: Chemical book (2018).

Uma das características do RIT é o polimorfismo. Num primeiro momento, foi identificado apenas uma forma de cristal de RIT (monoclínico). Essa forma não é suficientemente biodisponível para administração oral no estado sólido, precisando assim, ser reformulado na forma de solução oral ou cápsula preenchida com solução hidroalcoólica contendo o fármaco dissolvido (BAUER et al., 2001). Posteriormente, foram identificadas cinco formas polimórficas, incluindo a anterior (MORISSETTE et al., 2003).

Substâncias e compostos farmacêuticos que apresentam polimorfismo necessitam de atenção especial no que tange a qualidade e o desempenho do fármaco, como a biodisponibilidade, estabilidade e dissolução. O aparecimento inesperado de uma nova forma polimórfica pode trazer com ela sérias

consequências comerciais, como o atraso no desenvolvimento de um produto e interrupção da produção comercial (INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION - ICH, 1999; RAW et al., 2004).

O RIT pode ser utilizado por adultos e crianças para o tratamento da infecção do HIV. Reduz significativamente os níveis plasmáticos de RNA do HIV-1 em pacientes com cepas sensíveis. Foi o primeiro fármaco a trazer benefício na sobrevivência dos pacientes com a doença em fase avançada. Estudos clínicos comprovaram a eficácia do fármaco em combinação com outro inibidor da protease (GISOLF et al., 2000; TAVEL; MILLER; MASUR, 1999).

Seu mecanismo de ação consiste em ligar-se reversivelmente ao sítio ativo da protease, inibindo o processamento do polipeptídeo e consequentemente a maturação do vírus. Dessa maneira, todo vírus produzido durante o tratamento com RIT, se torna imaturo e consequentemente não infeccioso. Casos de mutação e resistência ao fármaco são descritos durante a replicação viral em pacientes que fazem uso do mesmo (RAFFANTI; HAAS, 2001).

No que tange a absorção, o RIT é absorvido por via oral, alcançando uma biodisponibilidade próxima a 100 % quando administrado concomitante a alimentos (TAVARES, 1996; RAFFANTI; HAAS, 2001). Segundo dados do fabricante, quando o RIT é administrado junto com as refeições, a sua absorção foi 13 % maior quando comparado com uma administração em jejum (ABBOTT, 2018).

Sua metabolização ocorre no fígado principalmente pelas isoformas do citocromo P450, como a CYP3A4. Após esse processo, é eliminado do organismo através da urina e fezes, 11 e 86 %, respectivamente. O tempo de meia-vida é de 3 a 5 horas e a ligação às proteínas plasmáticas como albumina e sérica e glicoproteína- α 1 ácida humana é de 98 a 99 % (ABBOT, 2018; KOROLKOVAS, 2004; RAFFANTI; HAAS, 2001).

Alguns fármacos como saquinavir e lopinavir, possuem sua biodisponibilidade oral bem limitada, com isso, fez com que se estudasse o efeito e utilizasse o RIT como potencializador farmacocinético para aumentar as concentrações plasmáticas destes fármacos inibidores de protease. Assim, a administração em conjunto de dois fármacos como RIT e lopinavir aumenta o tempo de meia-vida, a área sob a curva plasmática e as concentrações mínimas do fármaco (RAFFANTI; HAAS, 2001).

Em relação aos efeitos adversos do RIT, cabe ressaltar que dependem da dose, e os principais sintomas descritos são dor abdominal, náuseas, diarreia,

anorexia e alterações no paladar. Não são raros o aparecimento de parestesias periféricas e peitorais. O escalonamento da dose nas primeiras semanas de tratamento, garante ao paciente uma diminuição dos sintomas e reações adversas, quando comparado a utilização integral da dose no início do tratamento. É melhor tolerado quando administrado junto com alimentos, e em longo prazo, também pode contribuir com o aparecimento de placas de ateroma, pois provoca elevações dependentes da dose dos níveis séricos de colesterol e triglicerídeos (RAFFANTI; HAAS, 2001).

Devido ao efeito inibitório da CYP3A4 causado pelo RIT, os níveis plasmáticos de alguns fármacos tendem a aumentar consideravelmente. Dentre estes, estão a amiodarona, propafenona, pimozida, cisaprida, triazolam e midazolam. Dessa forma, está contraindicado o uso destes fármacos concomitante ao ritonavir, devido ao risco de arritmias cardíacas fatais e sedação prolongada, dependendo do fármaco utilizado. Outro fármaco a ser considerado e evitado é a rifabutina, que administrado junto ao RIT, pode causar toxicidade. Por possuir álcool em sua composição, a administração com dissulfiram pode ocasionar algumas reações desagradáveis, devido a este fármaco ser indicado para o tratamento do alcoolismo (RAFFANTI; HAAS, 2001).

Da mesma forma, deve ser evitada a administração concomitante ao RIT, de fármacos que induzem a atividade da CYP3A4, o que leva a uma diminuição dos níveis plasmáticos do antirretroviral, como exemplo podemos citar a rifampicina, que pertence a classe dos antibióticos (RAFFANTI; HAAS, 2001).

1.4 NANOTECNOLOGIA

A área das ciências farmacêuticas engloba um setor que cresce constantemente no âmbito do desenvolvimento de novas tecnologias em escala nanométrica ou micrométrica, a nanotecnologia farmacêutica, que envolve as etapas de desenvolvimento, caracterização e aplicação destes sistemas para alavancar um direcionamento a um sítio específico e conseguir uma liberação prolongada (SAKATA et al., 2007).

Carreadores nanotecnológicos surgiram como opção em mudanças na distribuição de fármacos antirretrovirais, conferindo a estes sistemas, vantagens farmacológicas quando comparados aos fármacos, como, por exemplo, o

reconhecimento imunológico e a passagem através de barreiras biológicas (PARBOOSING et al., 2012).

Sistemas nanotecnológicos para administração de terapia antirretroviral estão diretamente envolvidos com a modulação da farmacocinética das moléculas incorporadas. A absorção, distribuição e eliminação do fármaco são determinadas pelas propriedades dos nanossistemas, como tamanho, carga da partícula e superfície, e não pelas propriedades do fármaco convencional (LI; HUANG, 2008).

A nanotecnologia tem demonstrado ter capacidade para melhorar a permeabilidade, solubilidade, estabilidade e farmacocinética dos antirretrovirais, conferindo liberação prolongada ou efetivo combate ao vírus HIV. Tais características se sobressaem para conferir benefício em reduzir a dosagem administrada, podendo melhorar a adesão do paciente ao tratamento. Também podem reduzir a toxicidade dos medicamentos, desde que seja assegurada a qualidade dos materiais empregados e das técnicas de preparo (EMANUELI; GUERREIRO, 2017; PHILLIPS; TSOUKAS, 1992).

A maioria dos medicamentos utilizados na terapia antirretroviral em crianças tem um gosto desagradável, o que leva na maioria dos casos a falta de adesão ao tratamento (SOSNIK; CHIAPPETTA; CARCABOSO, 2009).

Micro e nanoencapsulação são usadas muitas vezes para mascarar o sabor amargo de alguns fármacos. O uso de uma matriz polimérica pode impedir a liberação do fármaco na cavidade oral, liberando no trato gastrointestinal e evitando o sabor amargo na boca, dessa forma é um nanossistema adequado para utilização no tratamento de crianças, aumentando a adesão (XU; BOVET; ZHAO, 2008).

Apesar dos principais avanços na segurança, potência e aceitabilidade de medicamentos antirretrovirais, ainda se necessita de inovações e melhorias. Considerando que foram realizados muitos progressos no desenvolvimento de antirretrovirais, regimes terapêuticos e formulações, é necessária desenvolver uma dose fixa simples e robusta. A pesquisa sobre doses ideais de medicamentos deve ter como objetivos informar sistemas, minimizando a toxicidade, interações entre fármacos e redução de custos. Muita inovação ainda é exigida no desenvolvimento de formulações antirretrovirais adequadas e sistemas harmonizados, incluindo formulações simples e saborosas para lactentes e crianças, sistemas para adolescentes para melhorar a aceitabilidade e adesão, e formulações orais e injetáveis de ação prolongada para melhorar adesão e supressão viral (WHO, 2017).

1.5 POLÍMEROS

Materiais poliméricos têm sido usados há muito tempo pela indústria farmacêutica, para fornecer revestimento, como barreiras de proteção (EDGAR et al., 2001). Também são utilizados para melhorar a aparência e mascarar o sabor desagradável de alguns fármacos, melhorando assim a adesão ao tratamento. Nas últimas duas décadas, tem sido muito empregado para fornecer revestimento polimérico que confere uma liberação prolongada e/ou entérica aos medicamentos (SAKELLARIOU; ROWE, 1995).

A mistura de alguns polímeros é uma alternativa para o desenvolvimento de novos materiais, modificando propriedades como a biodegradabilidade, resistência, elasticidade, bem como a variação do perfil de difusão do fármaco, sendo determinada pela miscibilidade ou não entre os polímeros utilizados no sistema (KANIS; SOLDI, 2012).

1.5.1 Eudragit RS100

Eudragit RS100 (EUD) é um polímero catiônico, muito utilizado na tecnologia farmacêutica para o revestimento de comprimidos e na preparação de formas farmacêuticas orais de liberação controlada. É um copolímero de poli (etilacrilato, metacrilato de metil e metacrilato de clorotrimetil-amônio-etil), que possui grupos de amônio quaternário entre 4 – 8 %, característica que lhe confere a carga positiva na superfície, assim podendo interagir com fármacos ou superfície celular de tecidos alvos com cargas negativas e maximizar a absorção celular do fármaco. Sua composição o torna insolúvel mas permeável em pH fisiológico, pois é capaz de inchar e tornar-se permeável em água, tornando-o um bom material para a liberação controlada de fármacos (BODMEIER; CHEN, 1989; VACHON; NAIRN, 1995).

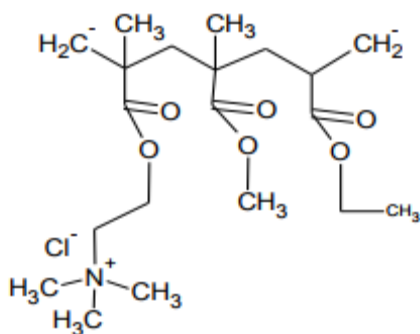


Figura 4 – Estrutura química do eudragit RS100

Fonte: Shodh ganga (2018).

Também demonstra características como boa estabilidade, sem efeitos toxicológicos, é um polímero pH independente e indicado para formar a estrutura da matriz. Apresenta-se como grânulos incolores, claros e com um leve odor de amina. É solúvel em metanol, etanol, álcool isopropil, acetona, acetato de etila e cloreto de metileno, e praticamente insolúvel em éter de petróleo, hidróxido de sódio 1 N e água. Sua massa molecular é 32.000 g/mol (SONJE; CHANDRA, 2013).

1.5.2 Policaprolactona triol

O polímero policaprolactona triol (PCLT) é um poliéster alifático biodegradável, muito semelhante a policaprolactona (PCL), sua baixa massa molecular e os grupos hidroxila terminais conferem maior caráter hidrofílico a molécula. Sua solubilidade em água é moderada e possui ponto de fusão em torno de 33° C (KANIS; GENEROSO; SOLDI, 2007).

Estudos recentes demonstram que justamente por ter estas características, o PCLT favorece a intercalação dentro das cadeias de polímero e a formação de ligação química entre eles. Desta forma, quando combinado com outro polímero como eudragit RS 100 (EUD), pode fornecer um efeito de plastificação ao sistema, implicando em uma liberação prolongada do fármaco (KANIS; GENEROSO; SOLDI, 2007).

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma formulação de nanopartículas de RIT para uso oral pediátrico, visando a obtenção de uma formulação nanotecnológica inovadora com perfil de liberação prolongado.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver formulações de nanopartículas contendo RIT, com núcleos diferentes, obtendo nanopartículas inovadoras;
- Caracterizar as nanopartículas de RIT, avaliando parâmetros como morfologia, aspectos macroscópicos, diâmetro médio da partícula, potencial zeta, teor do fármaco, pH, índice de polidispersão e taxa de encapsulação;
- Analisar a estabilidade das nanopartículas, através do diâmetro médio, pH, teor e potencial zeta;
- Avaliar o perfil de liberação *in vitro* das formulações desenvolvidas, comparando com o fármaco livre;
- Avaliar o perfil de degradação das formulações frente a meio gástrico simulado;
- Realizar painel sensorial para avaliar o sabor das formulações das nanopartículas desenvolvidas.

Este trabalho obteve êxito no desenvolvimento de nanopartículas constituídas de núcleo polimérico inovador contendo RIT através da técnica de deposição interfacial do polímero pré-formado. As formulações obtidas apresentaram características físico-químicas adequadas, demonstrando que a adição de fármaco não implicou em alterações nas nanopartículas.

Todas formulações apresentaram tamanho nanométrico e taxa de encapsulação de 100 %, demonstrando viabilidade tecnológica no desenvolvimento de nanopartículas poliméricas de núcleo oleoso bem como de núcleo polimérico. A formulação NP_R-900 apresentou estabilidade de 30 dias em temperatura ambiente, enquanto as formulações NP_R-AO, que apresentou degradação do fármaco, e NP_R-300 demonstrou tendência a sedimentação, apresentaram estabilidade de 15 dias.

O estudo de liberação em meio gástrico simulado demonstrou que as nanopartículas de RIT apresentaram uma liberação muito mais lenta em comparação ao fármaco na sua forma livre. Através da modelagem matemática, foi possível observar fenômenos de liberação distintos para as formulações com núcleo de PCLT e ácido oleico. A degradação em mesmo meio indica uma maior taxa de degradação da formulação NP_R-AO, podendo justificar sua baixa taxa de liberação. Os resultados obtidos na mucoadesão indicam que as nanopartículas se ligam a mucina provocando um efeito mucoadesivo, prolongando o tempo de permanência do fármaco no organismo.

Em relação a avaliação do sabor, as formulações com menor tamanho apresentaram sabor semelhante, comparado à solução de RIT, enquanto a formulação de PCLT 300 que possui tamanho maior, apresentou uma piora no sabor relatada pelos voluntários, o que sugere que esta característica pode influenciar na percepção do sabor.

Avaliando os resultados obtidos, a formulação NP_R-900 demonstrou ser a mais adequada, com um perfil de liberação prolongado e estável durante 30 dias.

Como perspectivas deste trabalho, salienta-se a realização da língua eletrônica e um estudo de toxicidade das nanopartículas.

ABBOTT LABORATORIES. **NORVIR® (ritonavir capsules) Soft Gelatin (ritonavir oral solution)**. North Chicago, 2001. Disponível em: <http://www.rxabbvie.com/pdf/norvirtab_pi.pdf>. Acesso em: fev. 2018.

ABERG, J. A. et al. Primary care guidelines for the management of persons infected with human immunodeficiency virus: 2009 update by the HIV medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. **Clin Infect Dis**, v. 49, n. 5, p. 651-681, 2009.

BAUER, J. et al. Ritonavir: an extraordinary example of conformational polymorphism. **Pharm Res**, v. 18, p. 859-866. 2001.

BIANCHIN, M. D. et al. Radar charts based on particle sizing as an approach to establish the fingerprints of polymeric nanoparticles in aqueous formulations. **J Drug Deliv Sci Technol**, v. 30, p. 180-189. 2015.

BODMEIER, R.; CHEN, H. Preparation and characterization of microspheres containing the anti-inflammatory agents, indomethacin, ibuprofen, and ketoprofen. **J Control Release**, v. 10, p. 167-175, 1989.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Programa Nacional de DST e Aids. **Recomendações para terapia antiretroviral em adultos infectados pelo HIV**. 7. ed., Brasília, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Doenças Sexualmente Transmissíveis, Aids e Hepatites Virais. **Manual técnico para o diagnóstico da infecção pelo HIV**. 2. ed. Brasília, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Crianças e Adolescentes**. Brasília, 2017a.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico HIV AIDS**. 2017b.

BUDAVARI, S. **The Merck Index**. 13th ed. New York, 2001. 1479 p.

CHEMICAL BOOK. **155213-67-5(Ritonavir) Product Description**. Disponível em: <https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_US_CB0119429.aspx>. Acesso em: fev. 2018.

CIÊNCIA INFORMATIVA. **AIDS: da descoberta da doença à descoberta da origem**. Disponível em: <http://cienciainformativa.com.br/pt_BR/aids-da-descoberta-da-doenca-a-descoberta-da-origem/>. Acesso em: fev. 2018.

CINTRA, P. **Atualização Terapêutica**. 20. ed. São Paulo: Artes Médicas, 2001. 273–278 p.

CUNICO, W.; GOMES, C. R. B.; VELLASCO JUNIOR, W. T. HIV – recentes avanços na pesquisa de fármacos. **Quim Nova**, v. 31, n. 8, p. 2111-2117, 2008.

CONTRI, R. V. et al. Simultaneous control of capsaicinoids release from polymeric nanocapsules. **J Nanosci Nanotechnol**, v. 11, n. 3, p. 2398-2406, 2011.

CONTRI, R. V. et al. The use of nanoencapsulation to decrease human skin irritation caused by capsaicinoids. **Int J Nanomed**, v. 9, p. 951-962, 2014.

CHAVES, P. D. et al. Carvedilol-loaded nanocapsules: Mucoadhesive properties and permeability across the sublingual mucosa. **Eur J Pharm Biopharm**, v. 114, p. 88-95, 2017.

DAMHORST, G. L.; WATKINS, N. N.; BASHIR, R. Micro and nanotechnology for HIV/AIDS diagnostics in resource-limited settings. **IEEE Trans Biomed Eng**, v. 60, n. 3, p. 715-726, 2013.

DANDAGI, P. M. et al. Taste Masked Quinine Sulphate Loaded Solid Lipid Nanoparticles for Flexible Pediatric Dosing. **Ind J Pharm Edu Res**, v. 48, p. 93-99, 2014.

DAS NEVES, J. et al. Nanotechnology-based systems for the treatment and prevention of HIV/AIDS. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 62, n. 4, p. 458-477, 2010.

DE CLERCQ, E. The design of drugs for HIV and HCV. **Nat Rev Drug Discov**, v. 6, n. 12, p. 1001-1028, 2007.

DESTACHE, C.J. et al. Combination antiretroviral drugs in PLGA nanoparticle for HIV-I. **BMC Infect Dis**, v. 9, p. 198, 2009.

EDGAR, K. J. et al. Advances in cellulose ester performance and application. **Prog Polym Sci**, v. 26, p. 1605–1688, 2001.

EMANUELLI, J.; GUERREIRO, I. C. K. O manejo da infecção pelo HIV: os problemas atuais e as novas promessas da nanotecnologia. **Rev Bras Farm**, v. 98, n. 3, p. 2162-2183, 2017.

FESSI, H. et al. Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. **Int J Pharm**, v. 55, n. 1, p. R1-R4, 1989.

FIEL, L. A. et al. Labeling the oily core of nanocapsules and lipid-core nanocapsules with a triglyceride conjugated to a fluorescent dye as a strategy to particle tracking in biological studies. **Nanoscale Res Lett**, v. 9, n. 1, p. 233, 2014.

GILSONI, R. J. et al. Chitosan-g-oligo(epsilon-caprolactone) polymeric micelles: microwave-assisted synthesis and physicochemical and cytocompatibility characterization. **J Mater Chem B**, v. 3, p. 4853-4864, 2015.

GISOLF, E. H. et al. The effect of treatment intensification in HIV-infection: a study comparing treatment with ritonavir/saquinavir and ritonavir/saquinavir/stavudine. Prometheus Study Group. **AIDS**, v. 14, n. 4, p. 405-413, 2000.

GRIEBINGER, J. et al. Methods to determine the interactions of micro- and nanoparticles with mucus. **Eur J Pharm Biopharm**, v. 96, p. 464-476, 2015.

GUO, S. et al. Novel in situ self-assembly nanoparticles for formulating a poorly water-soluble drug in oral solid granules, improving stability, palatability, and bioavailability. **Int J Nanomedicine**, v. 11, p. 1451-1460, 2016.

HAMMER, S. M. et al. Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2008 recommendations of the International AIDS Society-USA panel. **JAMA**, v. 300, n. 5, p. 555-570, 2008.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION. ICH Harmonized tripartite Guideline. **Specifications: test procedures and acceptance criteria for new drug substances and new drug products: chemical substances**. In: International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 1999.

JÄGER, A. et al. Physico-chemical characterization of nanocapsule polymeric wall using fluorescent benzazole probes. **Int J Pharm**, v. 338, p. 297-305, 2007.

KANIS, L. A.; GENEROSO, M.; SOLDI, V. Filmes de poli (etileno-co-metil acrilato)/poli (caprolactona triol): caracterização e propriedades mecânicas. **Lat Am J Pharm**, v. 26, n. 5, p. 700-705, 2007.

KANIS, L. A.; SOLDI, V. Poli (ethylene-co-methylacrylate)/poly (caprolactone) triol blends for drug delivery systems: characterization and drug release. **Quim Nova**, v. 35, n. 2, p. 297-300, 2012.

KOROLKOVAS, A. **Dicionário Terapêutico Guanabara**. 2003/2004 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

KUCHENBECKER, R. S. Antivirais. In: FUCHS, F. D.; WANNMACHER, L. **Farmacologia Clínica – Fundamentos da Terapêutica Racional**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 392-399 p.

KÜLKAMP, I. C. et al. Estabilização do ácido lipoico via encapsulação em nanocápsulas poliméricas planejadas para aplicação cutânea. **Quim Nova**, v. 32, n. 8, p. 2078-2084, 2009.

LEVY, J. A. **HIV and the Pathogenesis of AIDS**. USA: American Society for Microbiology, 2007. ISBN 1555813933.

LI, S. D.; HUANG, L. Pharmacokinetics and biodistribution of nanoparticles. **Mol Pharm**, v. 5, n. 4, p. 496-504, 2008.

LIN, D. et al. Palatability, adherence and prescribing patterns of antiretroviral drugs for children with human immunodeficiency virus infection in Canada.

Pharmacoepidemiol Drug Saf, v. 20, n. 12, p. 1246-1252, 2011.

LINDENBERG, M.; KOPP, S.; DRESSMAN, J. B. Classification of orally administered drugs on the World Health Organization model list of essential medicines according to the biopharmaceutics classification system. **Eur J Pharm Biopharm**, v. 58, n. 2, p.265-278, 2004.

LOPES, M. I. B. F. Tratando HIV no futuro: novas drogas antirretrovirais. **Braz J Infect Dis**, v. 2, n. 3, p. 91-95, 2016.

LOZOYA-AGULLO, I. et al. PLGA nanoparticles are effective to control the colonic release and absorption on ibuprofen. **Eur J Pharm Sci**, v. 115, p. 119-125, 2018.

LV, Z.; CHU, Y.; WANG, Y. HIV protease inhibitors: a review of molecular selectivity and toxicity. **HIV AIDS (Auckl)**, v. 7, p. 95-104, 2015.

MACHADO, A. R. L. Antivirais. In: FUCHS, F. D.; WANNMACHER, L. **Farmacologia Clínica – Fundamentos da Terapêutica Racional**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. cap. 34, p. 293-305.

MANSURI, S. et al. Mucoadhesion: A promising approach in drug delivery system. **React Funct Polym**, v. 100, p. 151-172, 2016.

MARTIN, A. R. Antiviral Agents. In: BEALE Jr, J. M.; BLOCK, J. H (Org.). **Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry**. 10. ed. Philadelphia: Lippincott – Raven Publishers, 1998.

MENNELLA, J. A.; MATHEW, P. S.; LOWENTHAL, E. D. Use of Adult Sensory Panel to Study Individual Differences in the Palatability of a Pediatric HIV Treatment Drug. **Clin Ther**, v. 39, n. 10, p. 2038-2048, 2017.

MOAZENI, M. et al. Time to overcome fluconazole resistant *Candida isolates*: Solid lipid nanoparticles as a novel antifungal drug delivery system. **Colloids Surf B Biointerfaces**, v.142, p. 400-407, 2016.

MORISSETTE, S. L. et al. Elucidation of crystal form diversity of the HIV protease inhibitor ritonavir by high-throughput crystallization. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 100, n. 5, p. 2180-2184, 2003.

MÜLLER, R. H.; MÄDER, K.; GOHLA, S. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery – a review of the state of the art. **Eur J Pharm Biopharm**, v. 50, n. 1, p. 161-177, 2000.

NIKAM, V. K. et al. Eudragit a versatile polymer: a review. **Pharmacologyonline**, v. 1, p. 152-164, 2011.

NOLDEN, A. A.; MCGEARY, J. E.; HAYES, J. E. Differential bitterness in capsaicin, piperine, and ethanol associates with polymorphisms in multiple bitter taste receptor genes. **Physiol Behav**, v. 156, p. 117-127, 2016.

OLIVEIRA, M. A.; SANTOS, E. M.; MELLO, J. M. C. AIDS, ativismo e regulação de ensaios clínicos no Brasil: protocolo 28. **Cad Saude Publica**, v. 17, n. 4, p. 863-875, 2001.

OLIVEIRA, C. P. et al. An algorithm to determine the mechanism of drug distribution in lipid-core nanocapsule formulations. **Soft Matter**, v. 9, p. 1141-1150, 2013.

PARBOOSING, R. et al. Nanotechnology and the Treatment of HIV Infection. **Viruses**, v. 4, n. 4, p. 488-520, 2012.

PHILLIPS, N. C.; TSOUKAS, C. Liposomal encapsulation of azidothymidine results in decreased hematopoietic toxicity and enhanced activity against murine acquired immunodeficiency syndrome. **Blood**, v. 79, n. 5, p. 1137-1143, 1992.

RAFFANTI, S.; HAAS, D. W. Antimicrobianos: Agentes antirretrovirais In: GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Mcgraw-Hill, 2001. cap. 51.

RAO, K. S. et al. TAT-conjugated nanoparticles for the CNS delivery of anti-HIV drugs. **Biomaterials**, v. 29, n. 33, p. 4429-4438, 2008.

RAW, A. S. et al. Regulatory considerations of pharmaceutical solid polymorphism in Abbreviated New Drug Applications (ANDAs). **Adv Drug Deliv Rev**, v.56, n. 3, p.397-414, 2004.

ROITT, I.; BROSTOFF, D. M. **Imunologia**. 2. ed., São Paulo: Manole, 1989. cap. 3.

SAKATA, S. et al. Programming control of intelligent drug releases in response to single and binary environmental stimulation signals using sensor and electroresponsive hydrogel. **Radiat Phys Chem**, v. 76, n. 4, p.733-737, 2007.

SAKELLARIOU, P.; ROWE, R. C. Interactions in cellulose derivative films for oral drug delivery. **Prog Polym Sci**, v. 20, n. 5, p. 889–942, 1995.

SANTOS, S. S. et al. Clotrimazole-loaded Eudragit® RS100 nanocapsules: Preparation, characterization and in vitro evaluation of antifungal activity against *Candida* species. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl**, v. 33, n. 3, p. 1389-1394, 2013.

SCHIFFMAN, S. S. et al. Effect of protease inhibitors on the sense of taste. **Nutrition**, v. 15, n. 10, p. 767-772, 1999.

SETHI, M. L. Antiviral Agents and Protease Inhibitors. In: FOYE, W. O. **Foye's Principles of Medicinal Chemistry**. 5. ed. Philadelphia, 2002.

- SHODH GANGA. **EUDRAGIT RS 100**. Disponível em: <http://shodhganga.inflibnet.ac.in/bitstream/10603/25034/6/chapter_4_polymer_profile..pdf>. Acesso em: fev. 2018.
- SONJE, A.; CHANDRA, A. Comprehensive review on Eudragit polymers. **Int Res J Pharm**, v.4, n. 5, p. 71-74, 2013.
- SOSNIK, A.; CHIAPPETTA, D. A.; CARCABOSO, A. M. Drug delivery systems in HIV pharmacotherapy: What has been done and the challenges standing ahead. **J Control Release**, v. 138, n. 1, p. 2-15, 2009.
- SOSNIK, A.; DAS NEVES, J.; SARMENTO, B. Mucoadhesive polymers in the design of nano-drug delivery systems for administration by non-parenteral routes: A review. **Prog Polym Sci**, v. 39, p. 2030-2075, 2014.
- SOSNIK, A. et al. Mucoadhesive thermo-responsive chitosan-g-poly(N-isopropylacrylamide) polymeric micelles via a one-pot gamma-radiation-assisted pathway. **Colloids Surf B: Biointerfaces**, v. 136, p. 900-907, 2015.
- SOSNIK, A.; AUGUSTINE, R. Challenges in oral drug delivery of antiretrovirals and the innovative strategies to overcome them. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 103, p. 105-120, 2016.
- SOUZA, M. V. N.; ALMEIDA, M. V. Drogas anti-VIH: passado, presente e perspectivas futuras. **Quim Nova**, v. 26, n. 3, p. 366-372, 2003.
- TAMILVANAN, S. et al. In vitro adsorption of plasma proteins onto the surface (charges) modified-submicron emulsions for intravenous administration. **Eur J Pharm Biopharm**, v. 59, n. 1, p. 1-7, 2005.
- TAVARES, W. **Manual de Antibióticos e Quimioterápicos Antiinfeciosos**. 2. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 1996.
- TAVEL, J. A.; MILLER, K. D.; MASUR., H. Guide to major clinical trials of antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus-infected patients: protease inhibitors, non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, and nucleoside reverse transcriptase inhibitors. **Clin Infect Dis**, v. 28, n.3, p. 643-676, 1999.
- TEUBL, B. J. et al. The oral cavity as a biological barrier system: Design of an advanced buccal in vitro permeability model. **Eur J Pharm Biopharm**, v. 84, n. 2, p. 386-393, 2013.
- VACHON, M. G.; NAIRN, J. G. Physicochemical evaluation of acetylsalicycyl acid-Eudragit[®] RS100 microspheres prepared using a solvent partition method. **J Microencapsul**, v. 12, n. 3, p. 287-305, 1995.
- VYAS, S. P.; SUBHEDAR, R.; JAIN, S. Development and characterization of emulsomes for sustained and targeted delivery of an antiviral agent to liver. **J Pharm Pharmacol**, v. 58, n. 3, p. 321-326, 2006.

WANG, L. et al. Preparation and evaluation of taste masked oral suspension of arbidol hydrochloride. **Asian J Pharm Sci**, v. 10, n. 1, p. 73-79, 2015.

WING, J. E. HIV and Aging. **Int J Infect Diseases**, v. 53, p. 61-68, 2016.

WHO, World Health Organization. **RITONAVIR**: Final text for inclusion in *The International Pharmacopoeia*. 2005.

WHO, World Health Organization. **Global Health Sector Strategy on HIV 2016-2021**. 2017.

XU, J.; BOVET, L. L.; ZHAO, K. Taste masking microspheres for orally disintegrating tablets. **Int J Pharm**, v. 359, n. 1-2, p. 63-69, 2008.

ANEXO A



Termo de consentimento livre e esclarecido - TCLE

Avaliação de mascaramento de sabor nos medicamentos antirretrovirais ritonavir nanoencapsulados

Justificativa: A avaliação de mascaramento de sabor se faz necessária para comprovação das propriedades da nova formulação proposta e é importante para avaliação de potencialidade de futuros consumidores, preferência e aceitação do produto.

Objetivo: Analisar o sabor das formulações, e citar qual julga mais agradável.

Para participar da pesquisa preciso (critérios de inclusão): ser maior de 18 anos, participar de treinamento e conhecer o objetivo da pesquisa.

Não posso participar da pesquisa caso (critérios de exclusão): minha idade não esteja dentro da faixa estabelecida, já apresentei alergia a algum dos componentes da formulação, seja fumante e/ou gestante.

Quanto tempo que terei de ficar disponível e quantas sessões serão necessárias: A análise de sabor terá uma sessão de 60 minutos aproximados. Será necessária apenas uma sessão.

Detalhes sobre todos os procedimentos: Inicialmente os pesquisadores do projeto irão abordá-lo apresentando o projeto, os objetivos e procedimentos, conforme convite prévio. Se você aceitar participar da pesquisa e atender os critérios de inclusão, assinará este documento e em seguida participará da análise. Todos participantes analisarão amostras contendo o ativo, não havendo amostras placebo.

Local onde será realizado: O local de avaliação dos produtos será na Faculdade de Farmácia da UFRGS ou no Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRGS. A fim de minimizar as interferências dos distintos locais nas avaliações, será respeitado que o grupo de avaliação de cada produto utilize o mesmo local. O ressarcimento dos custos de deslocamento não será necessário pois o grupo de voluntários será composto da população local e/ou transeuntes.

Equipamentos ou instrumentos que serão utilizados: Durante a realização da análise sensorial, serão utilizados como ferramenta conta gotas para controlar a quantidade de formulação aplicada dos produtos.

É preciso vestir alguma roupa ou sapato apropriado: Não há necessidade de vestimenta específica.

Quais as medidas a serem obtidas? A variável avaliada será o sabor amargo.

Realização da análise sensorial: Você irá receber um minicomprimido e uma seringa contendo 0,5 mL de uma suspensão. A amostra deverá ser colocada na boca (não engolir), onde deverá permanecer por 15 segundos que serão cronometrados. Posteriormente você irá cuspir a amostra em recipiente fornecido e receberá água mineral para lavar a boca e cuspir novamente. Após isto, você

deverá marcar na escala, que será explicada previamente, o sabor que julga representar a intensidade do sabor sentido.

Quais os riscos e desconfortos que podem ocorrer? Os riscos para as análises são mínimos, se considerados os critérios de seleção dos voluntários e as concentrações dos fármacos que estão abaixo de 5 % da dose mínima tóxica, e as matérias-primas utilizadas nos produtos são aprovadas para uso pela ANVISA, o que comprova a segurança das mesmas. Além disso, o tempo de contato das formulações com a mucosa oral é de no máximo 15 segundos. Após isso a amostra será cuspidada e o avaliador receberá água para lavagem da boca. A ocorrência de reações adversas não é esperada, porém caso ocorra qualquer tipo de reação adversa durante o estudo, os voluntários serão instruídos a avisarem imediatamente aos pesquisadores e proceder a limpeza do local com água abundante. Caso seja necessário, o voluntário será assistido por um médico, sob a responsabilidade e custeio dos pesquisadores, conforme descrito no TCLE e será preenchido e encaminhado ao CEP um formulário de eventos adversos.

Quais os meus benefícios e vantagens em fazer parte deste estudo? A participação é voluntária, e não irá receber nenhum tipo de benefício por participar da pesquisa, como brindes, lanches, entre outros. Você terá a possibilidade de utilizar produtos inovadores, formulados com insumos e tecnologia de ponta, e estará ajudando no desenvolvimento e aperfeiçoamento da ciência brasileira.

Quais as pessoas responsáveis e que estarão me acompanhando durante os procedimentos práticos deste estudo? As pesquisadoras envolvidas no projeto (Mariana Domingues Bianchin e Mosiele Giaretta) irão acompanhar durante todo o procedimento estando à disposição para quaisquer esclarecimentos e/ou ajuda antes, durante e após as análises.

Existe algum questionário que preciso preencher? Sou obrigado a responder a todas as perguntas? Para a análise de sabor será pedido o preenchimento de um questionário, conforme explicado pelos pesquisadores no momento do convite. Não há obrigatoriedade de resposta e você pode se retirar da pesquisa sem nenhum prejuízo ou constrangimento.

Como minha privacidade será assegurada? Os nomes dos voluntários não serão divulgados na pesquisa e os dados são sigilosos, assegurados pela Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. O interesse da pesquisa é o número total de opiniões e não a opinião individual.

Se eu tiver alguma reação à aplicação dos produtos, como devo proceder? Caso haja algum incômodo, coceira e/ou irritação na pele durante as análises, o voluntário deverá parar imediatamente e lavar a região com água abundante. Os responsáveis acompanharão o voluntário e as medidas necessárias serão providenciadas. Caso seja necessário, o voluntário será ressarcido de possíveis gastos com tratamento médico em função de reações causadas comprovadamente pelo produto da pesquisa.

A coleta de dados em Porto Alegre será realizada por alunos da Faculdade de Farmácia da UFRGS. Os dados da pesquisa ficarão guardados sob a responsabilidade da Prof. Dra. Irene Guerreiro, na Faculdade de Farmácia da UFRGS, por um período de 5 anos. Após este prazo os mesmos serão destruídos. As informações coletadas serão para uso exclusivo no presente projeto de pesquisa. No caso de dúvidas ou para mais informações o (a) Sr. (a) poderá entrar em contato com a pesquisadora

responsável Professora Dra. Irene Cledes Kùlkamp Guerreiro, pelo telefone (51) 3308 5416 ou com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (51) 3308 3738.

Uma via deste Termo é destinada ao participante e outra aos pesquisadores, após as respectivas assinaturas.

Assinatura do Participante

Assinatura do Pesquisador(a)

Porto Alegre, ____ de _____ de 2018.

ANEXO B

Questionário de análise sensorial

Teste de painel sensorial humano

Identificação alfa-numérica: _____ Data: __/__/__

Você está recebendo amostras codificadas contendo ritonavir 1 mg/mL. Será oferecido 0,5 mL de cada amostra. Mantenha a suspensão na língua durante 15 segundos, sem engolir, sempre descartando após o término do tempo, e então lave a boca com água entre uma amostra e outra, e marque na escala de acordo com a intensidade do sabor do medicamento em cada uma das formulações, onde:

- Amargura não detectável, (sem sabor amargo);
- Ligeiramente amargo (pouco amargo);
- Amargo (moderadamente amargo);
- Muito amargo (amargura extrema).

sempre indicando o código de cada formulação em cada escala.

Amostra 1

Código: _____

<input type="checkbox"/> amargura não detectável	<input type="checkbox"/> ligeiramente amargo	<input type="checkbox"/> amargo	<input type="checkbox"/> muito amargo
---	---	---------------------------------	--

Amostra 2

Código: _____

<input type="checkbox"/> amargura não detectável	<input type="checkbox"/> ligeiramente amargo	<input type="checkbox"/> amargo	<input type="checkbox"/> muito amargo
---	---	---------------------------------	--

Amostra 3

Código: _____

<input type="checkbox"/> amargura não detectável	<input type="checkbox"/> ligeiramente amargo	<input type="checkbox"/> amargo	<input type="checkbox"/> muito amargo
---	---	---------------------------------	--

Amostra 4

Código: _____

<input type="checkbox"/> amargura não detectável	<input type="checkbox"/> ligeiramente amargo	<input type="checkbox"/> amargo	<input type="checkbox"/> muito amargo
---	---	---------------------------------	--