

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

INSTITUTO DE TECNOLOGIA EM FÁRMACOS - FARMANGUINHOS

PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS INDUSTRIAIS FARMACÊUTICAS

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

ISABELA VIOL VALLE

MÉTODOS *IN VITRO* E *IN VIVO* PARA ANÁLISE SENSORIAL DE MEDICAMENTOS

Rio de Janeiro

2017

ISABELA VIOL VALLE

MÉTODOS *IN VITRO* E *IN VIVO* PARA ANÁLISE SENSORIAL DE MEDICAMENTOS

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Pós-graduação em Tecnologias Industriais Farmacêuticas, Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Laís Bastos da Fonseca

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Alessandra Lifstitch Viçosa

Rio de Janeiro

2017

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Medicamentos e Fitomedicamentos/ Farmanguinhos / FIOCRUZ - RJ

V181m Valle, Isabela Viol

Métodos *in vitro* e *in vivo* para análise sensorial de medicamentos. /
Isabela Viol Valle. – Rio de Janeiro, 2017.

ix, 48 f. : il. ; 30 cm.

Orientadoras: Laís Bastos da Fonseca e Alessandra Lifitsch Viçosa.

Monografia (Especialização) – Instituto de Tecnologia em Fármacos-
Farmanguinhos, Pós-graduação em Tecnologia Industriais
Farmacêuticas, 2017.

Bibliografia: f. 43-48

1. Avaliação do Sabor. 2. Análise Sensorial. 3. Mascaramento de
Sabor. 4. Palatabilidade. I. Título.

CDD 615.1

ISABELA VIOL VALLE

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Pós-graduação *Lato sensu* do Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos/FIOCRUZ, como parte dos requisitos finais necessários à obtenção do título de especialista em Tecnologias Industriais Farmacêuticas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Laís Bastos da Fonseca

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Alessandra Lifitch Viçosa

Aprovado em: 17.03.2017

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Laís Bastos da Fonseca

Fundação Oswaldo Cruz

M.Sc. Deise Cristina Drummond Xavier Paes Lopes

Fundação Oswaldo Cruz

M.Sc. Janine Boniatti

Fundação Oswaldo Cruz

RESUMO

VALLE, Isabela Viol. **Métodos *in vitro* e *in vivo* para análise sensorial de medicamentos.** Rio de Janeiro, 2017. Trabalho de conclusão de curso – Pós-Graduação em Tecnologias Industriais Farmacêuticas, Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos, 2017.

O paladar tem um papel importante no desenvolvimento de preparações farmacêuticas orais em relação à aceitabilidade e adesão do paciente e é um dos principais fatores determinantes de sua inserção no mercado farmacêutico e do sucesso comercial das formulações orais. Algumas técnicas de mascaramento de sabor têm sido relatadas na literatura e, no geral, tais técnicas envolvem a adição de edulcorantes diminuindo a sensação do sabor desagradável, impedindo o contato do sabor amargo de alguns fármacos com as papilas gustativas ou anestesiando o paladar dos pacientes temporariamente. A análise sensorial de medicamentos é feita com o intuito de se avaliar a palatabilidade dos medicamentos a fim de prever quais medicamentos possuem ou não um paladar desagradável e, além disso, é um importante parâmetro de qualidade para a avaliação de formulações das quais se deseja mascarar sabor. O objetivo deste trabalho consistiu em uma descrição e avaliação das diferentes metodologias já descritas *in vitro* e *in vivo* relacionadas à análise sensorial de medicamentos. A partir da revisão da literatura, observou-se que a avaliação por painel humano ainda é mais amplamente utilizada e é um método padrão para medir a extensão de mascaramento de sabor e aceitação de fármacos e medicamentos. Entretanto, nos últimos anos, o uso de sensores eletrônicos – línguas eletrônicas – de sabor vêm surgindo em contraste à utilização de painéis humanos decorrente do crescente conhecimento do perfil de segurança e potenciais eventos adversos dos IFAs durante os estágios iniciais de desenvolvimento de medicamentos. Além disso, fatores como preferências pessoais, toxicidade de fármacos, percepção individual do sabor, dentre outros, podem influenciar a avaliação do gosto e gerar certa distorção no julgamento. Outros métodos citados em literatura como os testes espectrofotométricos, testes de dissolução, testes em ratos e em outros animais também podem ser utilizados para tal finalidade. Sabendo-se que o paladar de um fármaco ou formulação está intimamente ligado ou relacionado à adesão do paciente ao tratamento, atualmente são descritos a literatura, muitos métodos para mascaramento de sabor na área farmacêutica. A análise sensorial, por sua vez, ainda é pouco descrita e padronizada, embora alguns testes (*in vitro* e *in vivo*) estejam descritos e se mostrem eficientes nesta avaliação. O painel humano, dentre os artigos analisados foi o teste *in vivo* mais citado e, portanto, o mais utilizado na prática para a avaliação do sabor. Além disso, os sistemas eletrônicos de avaliação surgiram como uma alternativa à participação de humanos evitando problemas relacionados, por exemplo, a intoxicação medicamentosa.

Palavras chave: Avaliação do sabor, análise sensorial, mascaramento de sabor, palatabilidade.

ABSTRACT

VALLE, Isabela Viol. **Métodos *in vitro* e *in vivo* para análise sensorial de medicamentos.** Rio de Janeiro, 2017. Trabalho de conclusão de curso – Pós-Graduação em Tecnologias Industriais Farmacêuticas, Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos, 2017.

Taste plays an important role in the development of oral pharmaceutical preparations. It's related to patient acceptability and adherence and is one of the most important factors related to insertion of medicines in the pharmaceutical market and the commercial success of oral formulations. Some taste masking techniques have been reported in the literature and some techniques involve adding sweeteners to diminish an unpleasant taste sensation, preventing the interaction between bitter taste from some drugs with the taste buds, or temporarily anesthetizing patients's mouth. Sensory analysis of medicines is done with the purpose of evaluating the palatability of the medicines in order to predict the medicines that has an unpleasant taste and, in addition, it is an important parameter of quality for an evaluation of formulations masked by the flavor. The main objective of this work consisted in a description and evaluation of the different *in vitro* and *in vivo* methodologies already described related to sensory analysis of medicines. From the literature review, we note that a human panel evaluation is still more widely used and as a standard method for measuring an extent of masking of taste and acceptance of drugs and medications. However, in recent years the use of electronic sensors - the electronic tongues - of taste arise on the contrast to the use of human panels and to the development of knowledge about the safety profile and potential adverse events of the IFAs during the early stages of drug development . In addition, factors such as personal preferences, drug toxicity, individual taste perception, among others, can influence a taste assessment and create a distortion in the way of judging it. Other methods cited in the literature such as spectrophotometric tests, dissolution tests, tests on rats and in other animals can also be used for this purpose. Knowing that the taste of a drug or formulation is closely related to the patient's adherence to the treatment, is currently described in the literature, many methods for taste masking in the pharmaceutical area. Sensory analysis is still poorly described and standardized, although some tests (*in vitro* and *in vivo*) are described and are efficient in this evaluation. The human panel, among the analyzed articles, was the most *in vivo* test cited and therefore the most used in practice for a taste assessment. In addition, electronic assessment systems arise as an alternative to human involvement on the tests avoiding, for example, drug intoxication.

Key words: *Taste assessment, sensory analysis, taste masking, palatability.*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Métodos de mascaramento de sabor.	19
Figura 2: Sistema eletrônico de avaliação de sabor Insent TS-5000Z (Atsugi-Shi, Japão).	25
Figura 3: Língua eletrônica utilizada para avaliação de sabor.	26
Figura 4: Análise dos componentes principais. As informações do IFA (do inglês, Active Pharmaceutical Ingredient – API) puro são comparadas àquelas de uma formulação sem fármaco (placebo) e formulações com mascaramento do sabor (formulações 1 e 2).	28
Figura 5: Configuração experimental. Cuba equipada com sonda UV.	31
Figura 6: Representação de uma avaliação sensorial pelo método do Painel Humano.	33
Figura 7: Exemplo de escala hedônica facial para a avaliação do paladar.	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Número de citações de cada um dos métodos avaliados.	24
--	-----------

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1:** Perfil das publicações dos artigos relacionados à palatabilidade, mascaramento de sabor e análise sensorial de medicamentos ao longo dos últimos 15 anos.....**22**
- Gráfico 2:** Perfil das publicações dos artigos relacionados aos métodos descritos para análise sensorial de medicamentos ao longo dos últimos 15 anos.....**23**

LISTA DE ABREVIÇÕES

CDO – Comprimidos de desintegração oral

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético

IFA – Insumo farmacêutico ativo

UV – Ultravioleta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. OBJETIVOS	13
2.1. OBJETIVO GERAL	13
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3. JUSTIFICATIVA	14
4. METODOLOGIA.....	15
5. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
5.1. Palatabilidade de medicamentos.....	16
5.2. Mascaramento de sabor de medicamentos	18
5.3. Análise sensorial de medicamentos.....	20
5.3.1. Aspectos gerais	20
5.3.2. Técnicas <i>in vitro</i>	24
5.3.2.1. Sensores multi-canal de sabores	24
5.3.2.2. Métodos espectrofotométricos.....	29
5.3.2.3. Ensaio de dissolução	30
5.3.3. Técnicas <i>in vivo</i>	33
5.3.3.1. Painel sensorial humano.....	33
5.3.3.2. Estudo de palatabilidade em sapos	36
5.3.3.3. Estudo de palatabilidade em ratos	37
5.3.3.4. Outros modelos animais	39
5.3.4. Correlação <i>in vivo</i> x <i>in vitro</i>	39
6. CONCLUSÃO.....	41
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

1. INTRODUÇÃO

A via de administração oral é o método mais comum de administração de muitos fármacos, no entanto, os pacientes tendem a negligenciar certas instruções quando estas são consideradas inconvenientes ou desagradáveis. Especialmente para fármacos orais, o sabor desagradável – não obstante o fato da administração diária frequente – constitui uma das principais razões para os pacientes se absterem da administração regular (JOSHI & PETEREITB, 2013).

Assim sendo, o paladar tem um papel importante no desenvolvimento de preparações farmacêuticas orais em relação à aceitabilidade e adesão do paciente e é um dos principais fatores determinantes à sua inserção no mercado farmacêutico e ao sucesso comercial das formulações orais (KHAN *et al.*, 2015).

Em formulações pediátricas, a questão da palatabilidade de medicamentos torna-se ainda mais importante, uma vez que é frequente crianças não tomarem medicamentos adequadamente devido ao sabor desagradável e, desta forma, a não adesão ao tratamento pode levar ao agravamento da doença (SUTHAR & PATEL, 2011).

O desenvolvimento de formulações pediátricas requer a compreensão da estabilidade físico-química e do sabor do produto farmacêutico e, além disso, o mascaramento de propriedades organolépticas desagradáveis do insumo farmacêutico ativo (IFA) cria outro nível de complexidade durante o desenvolvimento de uma formulação. Ainda hoje, há uma dificuldade relacionada ao desenvolvimento de formulações pediátricas já que existe uma escassez de evidências disponíveis e de ensaios clínicos em crianças. Tal fato se dá devido às limitações do conhecimento farmacocinético nas diferentes faixas etárias, bem como pela escassez de formulações adequadas para os diferentes estágios de desenvolvimento tecnológico (COELHO *et al.*, 2013).

Tendo em vista que a maioria dos IFAs tem sabor amargo e a grande parte das formulações pediátricas são administradas oralmente nas formas de suspensão, cápsulas, xaropes, soluções, comprimidos efervescentes, grânulos orais e pós orais para mistura com alimentos ou bebidas, há a necessidade de modulações desses sabores (CAMPBELL *et al.*, 2012).

Por outro lado, vale ressaltar, também, que a forma de dosagem não deve tornar-se demasiadamente atrativa para a criança (por exemplo, semelhante a um doce como um

comprimido revestido com açúcar) para não aumentar o risco de envenenamento acidental. A preferência das crianças por sabores é determinada pelas experiências individuais e pela cultura. Desta forma, o mascaramento do sabor não precisa, necessariamente, dar ao medicamento um bom sabor, mas sim, apenas um gosto aceitável (WHO, 2011).

Existem cinco tipos básicos de paladar: salgado, azedo, doce, amargo e umami. Frequentemente, pode-se observar uma correlação entre a percepção do paladar e a estrutura química das moléculas em questão. Os sais de baixo peso molecular (isto é, cloreto de sódio) têm um sabor salgado, enquanto as substâncias contendo azoto (isto é, alcalóides) induzem uma percepção amarga. Os compostos com grupos hidroxila, por sua vez, tendem a apresentar um sabor mais doce conforme maior o número de grupos hidroxila na molécula (BADGUJAR *et al.*, 2011).

Dentre as diferentes sensações gustativas, o amargor é a mais repulsivo no quesito adesão do paciente. Para a administração oral, em particular, a adesão depende significativamente do sabor da forma de dosagem. Desta forma, mascarar o sabor amargo é um parâmetro chave para melhorar a adesão do paciente, bem como eficácia terapêutica de medicamentos orais (JOSHI & PETEREITB, 2013).

Tendo em vista que grande parte dos IFAs têm, de fato, sabor amargo e, assim, exigem um mascaramento de sabor, as indústrias farmacêuticas investem tempo e recursos financeiros no desenvolvimento de produtos com paladar agradável em prol de uma melhor relação medicamento-paciente (KHAN *et al.*, 2015).

Algumas técnicas de mascaramento de sabor têm sido relatadas na literatura, dentre as quais pode-se citar: revestimento de partículas de fármaco e formulações finais (Ex.: comprimidos) com polímeros insolúveis em água ou com solubilidade dependentes do pH (SHARMA & LEWIS, 2010; SONAWANE *et al.*, 2010; PANDEY *et al.*, 2010); complexação com resinas de troca iônica, microencapsulação de fármacos (XU *et al.*, 2008; LI *et al.*, 2012); inclusão em ciclodextrinas; modificação química como a formação de pró-fármacos, dentre outros (SZEJTLI *et al.*, 2006; CASTRO *et al.*, 2010). No geral, tais técnicas envolvem a adição de edulcorantes diminuindo a sensação do sabor desagradável, impedindo o contato do sabor amargo de alguns fármacos com as papilas gustativas ou anestesiando o paladar dos pacientes temporariamente (KHAN *et al.*, 2015).

A avaliação da palatabilidade de medicamentos é feita a partir da análise sensorial dos mesmos. No geral, essa análise é caracterizada por avaliações feitas com quaisquer substâncias capazes de gerar excitação aos órgãos do sentido humano, sejam eles alimentos, fármacos, produtos químicos, drogas, dentre outros (ANAND *et al.*, 2008). Esta análise é parte essencial do desenvolvimento e controle de qualidade de formulações orais no cotidiano da indústria farmacêutica (WOERTZ *et al.*, 2010). Além disso, esses ensaios são extremamente úteis para os fabricantes uma vez que revelam a percepção clara dos consumidores em relação ao produto.

A avaliação quantitativa da palatabilidade é um importante componente no processo de desenvolvimento de formulações. O teste de sensação humana é um dos principais métodos utilizados para avaliar a palatabilidade das formulações orais. No entanto, o uso de voluntários humanos para testes de avaliação de sabor requer que os voluntários sejam precisos além da existência da problemática relacionada às questões éticas (administração de algumas classes de fármacos). O uso de sensores de sabor artificiais diminuiriam tais dificuldades. Atualmente, sensores eletrônicos de sabor estão descritos na literatura para avaliar a palatabilidade de muitos tipos de medicamentos. Estes sensores têm demonstrado sua capacidade de prever com precisão a intensidade de amargura, por exemplo, experimentada anteriormente pelos sentidos humanos (HARAGUCHI *et al.*, 2016).

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo principal deste trabalho consiste na descrição das diferentes metodologias *in vitro* e *in vivo* já apresentadas em literatura relacionadas à análise sensorial de medicamentos de importância na indústria farmacêutica.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a problemática existente em relação a palatabilidade de medicamentos;
- Identificar e descrever algumas das estratégias relacionadas ao mascaramento de sabor dos medicamentos;
- Identificar, descrever e comparar as principais técnicas de estudo *in vitro* e *in vivo* envolvidas na análise sensorial de medicamentos.

3. JUSTIFICATIVA

O paladar tem um papel fundamental no desenvolvimento de preparações farmacêuticas orais e está intimamente relacionado à aceitabilidade e adesão do paciente ao tratamento, principalmente levando-se em consideração os pacientes pediátricos. Melhorar o paladar de fármacos com sabor desagradável é um grande desafio no desenvolvimento de formulações na indústria farmacêutica. A análise sensorial de medicamentos é um instrumento aplicado nas áreas de Pesquisa & Desenvolvimento de indústrias farmacêuticas com o intuito de se realizar uma triagem no desenvolvimento de medicamentos palatáveis. Os métodos *in vitro* poderiam atuar como parte de um estudo preliminar dos medicamentos com melhores sabores para que, posteriormente, somente àqueles mais promissores fossem testados *in vivo* e submetidos à uma pesquisa clínica. Neste contexto, o conhecimento dos métodos disponíveis para esses tipos de avaliação torna-se importante tendo em vista que, se bem-sucedido, o mascaramento de sabor de fármacos de sabor desagradável influencia diretamente na eficácia terapêutica, levando-se em consideração a adesão ao tratamento e a administração correta e regular dos medicamentos.

4. METODOLOGIA

Revisões bibliográficas, no geral, são definidas como o processo de busca, análise e descrição de informações contidas em trabalhos previamente publicados relacionados à um determinado tópico em busca de resposta a uma pergunta específica. Essa busca bibliográfica pode ser feita em livros, artigos de periódicos, artigos de jornais, registros históricos, relatórios, teses e dissertações, dentre outros, e alguns tipos de revisões são descritas, dentre elas a narrativa, sistemática ou integrativa (MENDES *et al.* 2008).

A revisão integrativa – metodologia utilizada neste trabalho – permite a combinação de dados da literatura empírica e teórica os quais podem ser direcionados à definição de conceitos, identificação de lacunas nas áreas de estudos, revisão de teorias e análise de metodologias relacionadas à um determinado tópico (MENDES *et al.*, 2008).

No presente trabalho, as buscas foram realizadas em quatro bases de dados bibliográficas – *SciFinder*, *Web Of Science*, *Science Direct* e *PubMed*. As palavras chave utilizadas foram “*taste masking*”, “*taste assessment*” e “*sensory analysis*”. A pesquisa realizada corresponde ao período de 2002 a 2017, totalizando quinze anos retroativos e, além disso, foram selecionados artigos na língua inglesa com foco na indústria farmacêutica e análise sensorial de fármacos e medicamentos.

5. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

5.1. Palatabilidade de medicamentos

A adesão terapêutica de medicamentos pode ser definida como a capacidade global do paciente de utilizar um medicamento conforme o previsto. A aceitabilidade de um medicamento pode ter um impacto significativo nesta adesão e, conseqüentemente, na segurança e eficácia do produto. No geral, a aceitabilidade é determinada pelas características relacionadas ao indivíduo e ao medicamento, dentre as quais podem-se destacar: a palatabilidade; a capacidade de deglutição (tamanho e forma, idade); a complexidade de manipulação, se necessária; a dose requerida (volume, número de comprimidos); a frequência de dosagem e a duração do tratamento; dentre outros (PEIN *et al.*, 2014).

Dentre os fatores descritos acima relacionados, as possíveis variáveis referentes a adesão ou não do paciente ao tratamento, a palatabilidade é um dos mais relevantes. A palatabilidade é definida como a apreciação global de um medicamento em relação às suas propriedades organolépticas tais como cheiro, sabor, textura, dentre outros, e é um dos principais elementos da aceitação de medicamentos por pacientes. É determinada pelas características de seus componentes (IFAs e excipientes) e pela forma como o IFA é apresentado na formulação (WALSH *et al.*, 2014).

A palatabilidade aceitável é uma questão essencial, porém, não primordial no desenvolvimento de formulações para adultos. Além da facilidade de deglutição de medicamentos, a aplicação de estratégias simples de mascaramento de sabor tais como revestimento seriam suficientes para o cumprimento do esquema terapêutico por parte destes pacientes (WALSH *et al.*, 2014).

Na população pediátrica, por outro lado, a questão da palatabilidade e aceitação do sabor tornam-se questões centrais devido ao fato de que esta população representa um grupo diverso de pacientes, apresentando diferenças relacionadas à fatores biológicos e fisiológicos em relação aos adultos. De fato, as crianças não podem ser consideradas adultos de pequeno porte tendo em vista que os sistemas sensoriais amadurecem com o tempo e suas respostas a certos gostos diferem acentuadamente dos adultos. Dentre estas diferenças estão a preferência acentuada para sabor doce e uma maior rejeição em relação ao sabor amargo (MENNELLA *et al.*, 2005; MENNELLA & BEAUCHAMP, 2008).

Além da sensibilidade ao gosto, os pacientes pediátricos também apresentam dificuldade de deglutição e, conseqüentemente, dificuldade de administração de formas farmacêuticas sólidas orais. Tal fato faz com que, cada vez mais, outras formas farmacêuticas tais como líquidos orais, comprimidos mastigáveis, comprimidos dispersíveis, dentre outros, sejam prescritos e, por isso, haja uma maior necessidade de desenvolvimento de tais formulações levando-se em consideração a sua aceitabilidade em relação ao sabor (WALSH *et al*, 2014).

Dentre os vários tipos de formas farmacêuticas existentes no mercado, as formas orais sólidas (comprimidos, cápsulas) são as mais comuns. Essas formulações tem diversas vantagens, dentre as quais, pode-se citar a precisão da dose, alta estabilidade, a possibilidade de modificação do perfil de liberação do fármaco, dentre outras. Em relação a sua palatabilidade, entretanto, se a formulação tem um sabor amargo, a aderência do paciente e a efetiva farmacoterapia podem ser prejudicadas (HARAGUCHI *et al*, 2016). Os comprimidos de desintegração oral (CDO), por exemplo, são prescritos pela sua facilidade de deglutição tendo em vista que se desintegram, instantaneamente, na presença de pequenas quantidades de saliva na boca. Por outro lado, se um CDO contém fármacos ou algum componente de sua formulação de sabor desagradável, a aplicação de técnicas de mascaramento de sabor eficientes são necessárias e podem ser consideradas essenciais para a melhora da palatabilidade do fármaco visando a adesão do paciente ao tratamento (NISHIYAMA *et al*, 2016).

Na pediatria, especificamente, devido as características inerentes aos pacientes, as formas farmacêuticas líquidas podem ser consideradas as mais adequadas e as mais prescritas considerando-se o fato de que estas formulações são mais fáceis de engolir e proporcionariam flexibilidade de dosagem. No entanto, o uso de líquidos orais pode estar associado a numerosos problemas, incluindo a estabilidade química, física e/ou microbiana limitada, necessidade de dispositivo de dosagem, risco de erros na medição da dose, sedimentação e distribuição não homogênea da substância medicamentosa, problemas relacionados ao transporte e, além disso, o sabor desagradável pode, também, ser realçado. A administração de formulações líquidas ou àquelas que se dissolvem ainda na boca gera um contato do IFA e/ou dos excipientes com os receptores sensoriais orais ainda maior, aumentando a percepção do sabor e a possibilidade de rejeição do paciente (PEIN *et al*, 2014).

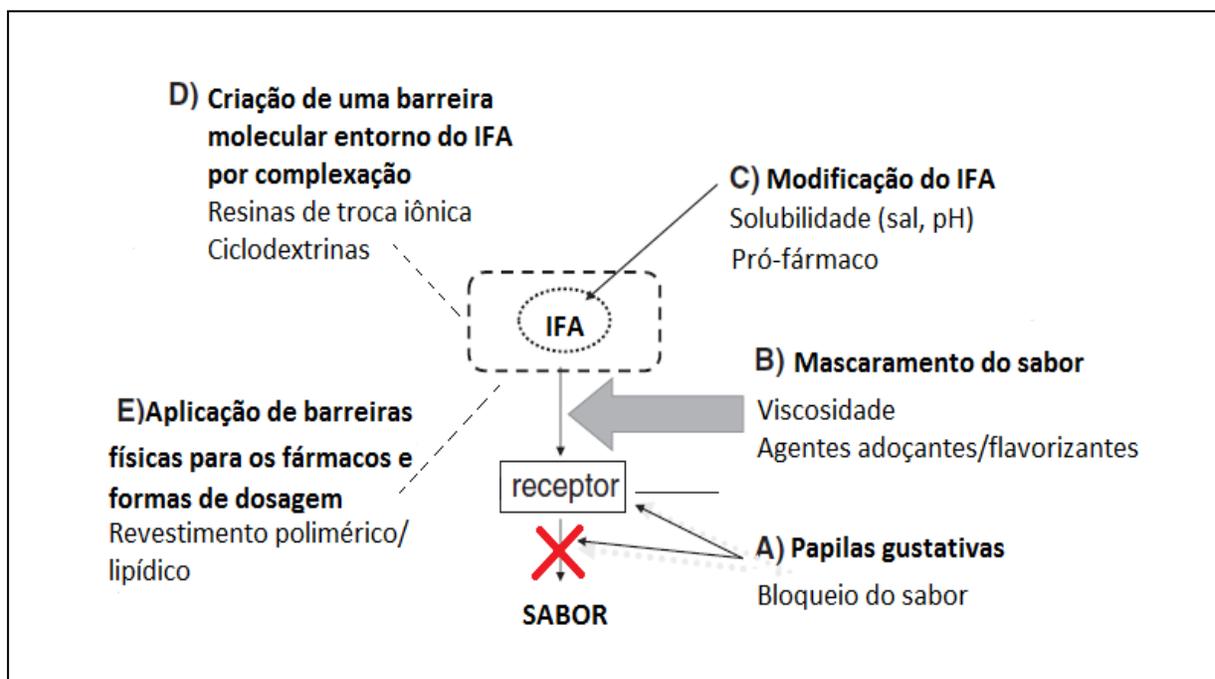
Pesquisas mostram que o gosto desagradável de um medicamento é uma barreira importante para o cumprimento da farmacoterapia tanto em adultos (cerca de 90% dos pacientes com doença aguda e 80% dos pacientes com doença crônica) quanto em crianças. Na pediatria, a palatabilidade aceitável é primordial para formulações e é considerada uma questão chave quando se desenvolvem formas farmacêuticas de uso oral; além disso, diferenças na percepção do paladar, sensibilidade e nível de tolerância entre adultos e crianças fazem a avaliação do paladar e o desenvolvimento de medicamentos pediátricos palatáveis mais complexo (WALSH *et al.*, 2014).

5.2. Mascaramento de sabor de medicamentos

A administração oral de fármacos é considerada a via de administração preferencial daquelas atualmente disponíveis. O sabor de uma formulação oral, particularmente de formulações contendo fármacos de sabor amargo, para crianças ou para adultos, tem um impacto importante em relação à adesão à terapia medicamentosa. O mascaramento de sabor é um desafio importante na administração de fármacos, uma vez que os mesmos se dissociam na cavidade oral dos pacientes em grande proximidade com as papilas gustativas, e está, desta forma, relacionada a adesão ao tratamento pelos pacientes (RAJESH *et al.*, 2015).

O principal objetivo da utilização das técnicas de mascaramento de sabor é ocultar o sabor aversivo de IFA(s) e/ou formulações no geral ou prevenir as interações dos IFA(s) dissolvidos com os receptores de sabor na cavidade oral. Uma visão geral das técnicas de mascaramento do sabor é apresentada na figura 1 (WALSH *et al.*, 2014).

Figura 1: Métodos de mascaramento de sabor.



Fonte: Adaptado de Walsh *et al.*, 2014.

Os métodos para o mascaramento de sabor, especialmente o sabor amargo – sabor desagradável mais comum em fármacos e medicamentos – podem ser divididos em três tipos: *mascaramento físico*, *mascaramento bioquímico* e *mascaramento funcional* (MIRAJKAR *et al.*, 2012). O mascaramento físico é um dos métodos mais importantes e comumente utilizados. Neste caso, pode-se utilizar polímeros ou até a encapsulação de fármacos como uma barreira física a fim de se evitar o contato do componente ativo ou de outros componentes da formulação com sabor desagradável com os receptores responsáveis pela percepção do gosto (SUGIURA *et al.*, 2012).

Os métodos bioquímicos são caracterizados por uma modificação química da molécula, incluindo os pró-fármacos e as inclusões de fármacos em ciclodextrinas, por exemplo, evitando o contato de componentes com sabor indesejável com as papilas gustativas (SHARMA & CHOPRA, 2010). Sivaneswari e colaboradores (2016) propuseram a complexação do fármaco antiepilético levetiracetam à resinas (tendo em vista o seu forte sabor amargo) e posterior veiculação em uma suspensão levando-se em consideração a facilidade de administração em

pacientes pediátricos; os resultados apresentados pelos autores apontam sucesso no mascaramento de sabor avaliando-se a formulação final (SIVANESWARI *et al.*, 2016).

O mascaramento funcional é uma das técnicas mais simples usadas no mascaramento do sabor. Os edulcorantes, aromas e outros excipientes são usualmente utilizados como aditivos para a supressão da amargura; a existência de diversos tipos de edulcorantes, incluindo aqueles aditivos alimentares, desempenham um papel central no mascaramento de sabor. Segundo dados da Agência de Produtos Farmacêuticos e Médicos do Japão, cerca de 25% das formulações orais comumente usadas incluem aspartame e sacarina em sua formulação, indicando que os edulcorantes de alta potência são amplamente utilizados para o mascaramento do amargor na indústria farmacêutica (WU *et al.*, 2016).

As estratégias relacionadas ao mascaramento de sabor descritas devem ser eficientes, mas também devem evitar qualquer efeito negativo ao organismo tais como, irritação da mucosa, rugosidade na boca ou o impedimento da deglutição. Outro aspecto importante é o fato que tais estratégias não devem influenciar negativamente na biodisponibilidade do IFA, por exemplo, de vir a impedir a sua liberação da formulação (WALSH *et al.*, 2014).

5.3. Análise sensorial de medicamentos

5.3.1. Aspectos gerais

O sabor é um fator importante no desenvolvimento de formas de dosagem oral, especialmente para os comprimidos mastigáveis e orodispersíveis. Os fármacos com um sabor inaceitável são difíceis de engolir, resultando em uma má adesão do paciente e subsequente redução na utilidade de tais formulações. Portanto, o mascaramento do sabor é essencial para ocultar o sabor desagradável dos IFA(s) e formulações e desempenha um papel importante na adesão ao esquema terapêutico, especialmente para fármacos utilizados por lactantes, idosos, mulheres grávidas e crianças (NOORJAHAN *et al.*, 2014).

A avaliação do sabor desempenha um papel central na caracterização de novas formulações farmacêuticas com sabor mascarado. O procedimento de avaliação, normalmente, envolve três características a serem consideradas: qualidade gustativa, intensidade gustativa (potência) e intensidade percebida ao longo do tempo (perfil temporal). Assim, a percepção do sabor global reflete no sabor inicial, no sabor residual e na textura das formulações. Portanto,

ensaios de avaliação do sabor são parte essencial do desenvolvimento e controle de qualidade de produtos farmacêuticos orais os quais são adaptados à necessidade de populações especiais (pediatria, geriatria, pacientes que sofrem de doenças psicológicas, pessoas com problemas de deglutição, etc.) (ANAND *et al.*, 2008).

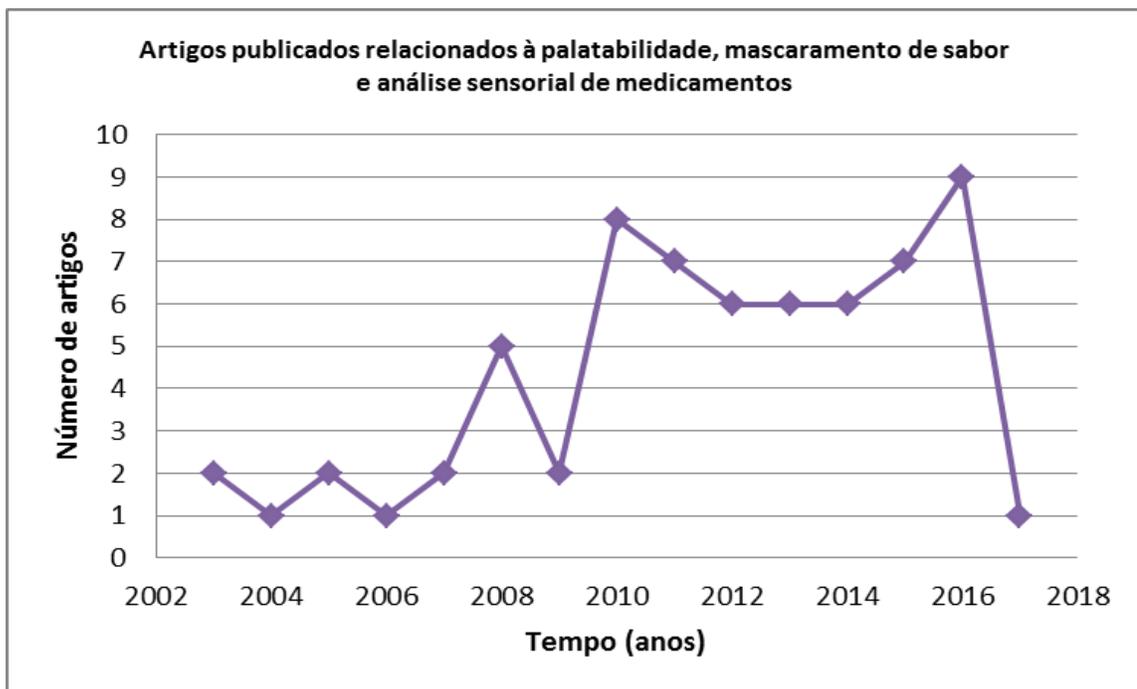
Diversas abordagens para a avaliação do paladar podem ser classificadas em três grupos: abordagens fisiológicas, estudos *in vitro* e sistemas biomiméticos de detecção do paladar. A maioria dos ensaios de avaliação de sabor são realizados em voluntários adultos mesmo para formulações comercialmente disponíveis para crianças; o gosto de fármacos e formulações raramente são estudadas em crianças devido a questões de segurança (ANAND *et al.*, 2008; WU *et al.*, 2016).

Em contraste às técnicas farmacêuticas bem estabelecidas para a obtenção de formulações com sabor agradável, os ensaios para a avaliação do sabor ainda necessitam de uma descrição precisa. Este desequilíbrio entre o grande número de técnicas descritas para o mascaramento de sabor e a escassa descrição da análise destes sabores se dá pela falta de testes padrão de avaliação e a inexistência de especificações. Embora algumas revisões venham abordando a avaliação dos efeitos de mascaramento do sabor nos últimos anos, os aspectos críticos que acompanham a avaliação das formas de dosagem oral raramente são discutidos (PEIN *et al.*, 2014).

Ainda hoje, não existe um protocolo padronizado para a avaliação do sabor ou do mascaramento do sabor de fármacos e medicamentos. Ao invés disso, os protocolos descritos na literatura diferem nos seus procedimentos, particularmente no que se refere aos painéis sensoriais humanos, à administração da formulação do fármaco e à avaliação dos efeitos de mascaramento do sabor (PEIN *et al.*, 2014).

Os artigos analisados para a elaboração deste trabalho, em sua maioria, abordam aspectos relacionados a palatabilidade, ao mascaramento de sabor – e as respectivas técnicas disponíveis atualmente para a supressão ou diminuição do sabor desagradável ou percepção do mesmo – e aos métodos e técnicas utilizadas, no geral, para a análise sensorial de fármacos e medicamentos. O gráfico 1 abaixo mostra o perfil destas publicações referentes aos tópicos acima citados ao longo dos anos.

Gráfico 1: Perfil das publicações dos artigos relacionados à palatabilidade, mascaramento de sabor e análise sensorial de medicamentos ao longo dos últimos 15 anos.



Fonte: Própria.

Conforme observado, há um aumento no número de publicações relacionadas à questão da palatabilidade de medicamentos ao longo dos anos. Tal perfil pode ser explicado com base no fato de que há uma tendência atual por parte da indústria farmacêutica pela busca do bem-estar do paciente e pela adesão ao tratamento. Essa busca influencia, diretamente, no sucesso de vendas no mercado farmacêutico e no consequente aumento do investimento em pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos e/ou formulações.

O perfil temporal crescente de publicações também pode ser observado no gráfico 2, o qual apresenta os 25 artigos selecionados os quais descrevem e discutem, especificamente, os métodos para análise sensorial de medicamentos. Há, como observado, um aumento do número de publicações ao longo dos anos que tratam de questões relacionadas a avaliação do sabor de fármacos e medicamentos.

Gráfico 2: Perfil das publicações dos artigos relacionados aos métodos descritos para análise sensorial de medicamentos ao longo dos últimos 15 anos.



Fonte: Própria.

Inicialmente, os métodos para a análise sensorial se dividem em métodos *in vitro* e métodos *in vivo*. A tabela 1 abaixo apresenta os métodos citados nos artigos, bem como a quantidade de artigos analisados nos quais cada técnica específica foi citada. O número de citações mostra, no geral, a importância de cada um dos métodos, sua respectiva visibilidade na literatura e, indiretamente, sua respectiva e possível aplicação – na prática – na indústria farmacêutica em relação ao desenvolvimento de novos fármacos/formulações e análise do sucesso do mascaramento de sabor nos mesmos ou em fármacos e medicamentos já existentes. Foram selecionados os 25 artigos considerados mais relevantes relacionados especificamente à descrição de métodos disponíveis para a análise sensorial de medicamentos.

Tabela 1: Número de citações de cada um dos métodos avaliados.

<i>Técnicas in vitro</i>	Número de artigos	Porcentagem (%)
Língua eletrônica	17	68
Teste de dissolução	7	28
Espectrofotometria	3	12
<i>Técnicas in vivo</i>	Número de artigos	Porcentagem (%)
Painel Humano	11	44
Palatabilidade em ratos	3	12
Palatabilidade em sapos	1	4
Palatabilidade em outros animais	3	12
Total de artigos analisados:	25	

Fonte: Própria.

A seguir, serão apresentados os métodos listados anteriormente e o princípio de avaliação de cada um deles em relação ao sabor de medicamentos e a eficácia do mascaramento de sabor em formulações as quais foram submetidas à algumas das técnicas elucidadas, também, anteriormente.

5.3.2. Técnicas *in vitro*

5.3.2.1. Sensores multi-canal de sabores

Na última década, inúmeros relatos na literatura sobre o uso dos sensores multi-canal de sabores vêm sendo reportados para avaliar o sabor de IFAs e produtos farmacêuticos. Esta mudança para o uso de sensores eletrônicos de sabor – comumente chamados de *Língua eletrônica* (do inglês, *Electronic Tongue – e-Tongue*) – em contraste à utilização de painéis humanos (vide item 5.3.3.1) para análise sensorial decorre do crescente conhecimento do perfil de segurança e potenciais eventos adversos dos IFAs durante os estágios iniciais de desenvolvimento de medicamentos (CAMPBELL *et al.*, 2012; JOSHI & PETEREITB, 2013).

Os sistemas de detecção de sabor eletrônicos comercialmente disponíveis são fornecidos pela Insent (Atsugi-Shi, Japão) e AlphaMOS (Toulouse, França). Os sensores da Insent são dedicados aos sabores percebidos pelos humanos (salinidade, acidez, doçura, umami e amargura). Além disso, há um sensor que é sensível à adstringência. Ao medir a amostra, registra-se a alteração do potencial de membrana o qual é medido pelo caráter lipofílico da substância analisada - quanto mais lipofílico for, mais será absorvido na membrana e maior será o valor resultante. Este valor corresponde à percepção humana de substâncias (KOBAYASHI *et al.*, 2010). A amargura de alguns medicamentos e aminoácidos já foi avaliada utilizando este sistema, e os resultados sugerem que o sensor pode ser útil para tal finalidade (HARAGUCHI *et al.*, 2016). Em 2003, Uchida e colaboradores avaliaram o sabor de antibióticos incluindo a claritromicina utilizando este sistema, e os resultados obtidos apontaram para uma boa correlação em relação àqueles obtidos no teste de sensação gustativa humana (USHIDA *et al.*, 2003). A figura 2 abaixo mostra o sensor Insent.

Figura 2: Sistema eletrônico de avaliação de sabor Insent TS-5000Z (Atsugi-Shi, Japão).



Fonte: <http://www.insent.co.jp/en/index.html>.

A língua eletrônica α Astree (AlphaMOS, França) utiliza um conjunto de sete sensores para avaliar os sabores dos IFAs e dos medicamentos. Os sensores são revestidos com membranas orgânicas específicas (Ex.: lipídeos/polímeros) com diferentes características físico-químicas as quais interagem com compostos iônicos e/ou neutros presentes nas soluções amostra e distinguem o sabor correspondente por um princípio similar ao da fisiologia humana; estas respostas são dadas na forma de potencial elétrico (CAMPBELL *et al.*, 2012; TOKUYAMA *et al.*, 2009; JOSHI & PETEREITB, 2013; GITTINGS *et al.*, 2014; WOERTZ *et al.*, 2011). Na presença de compostos dissolvidos, os sensores, então, medem a diferença potenciométrica existente entre cada um dos sensores e um eletrodo de referência.

A língua eletrônica também já foi desenvolvida no Brasil. O sensor brasileiro foi desenvolvido pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), vinculada ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, em parceria com a Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. A utilização deste sensor representa um avanço no controle de qualidade para a indústria alimentícia, vinícolas e estações de tratamento de água, entretanto, ainda não há histórico na literatura sobre a utilização da língua eletrônica brasileira na indústria farmacêutica (EMBRAPA, 2013). A figura 3 mostra a língua eletrônica desenvolvida no Brasil.

Figura 3: Língua eletrônica utilizada para avaliação de sabor.



Fonte: EMBRAPA, 2013.

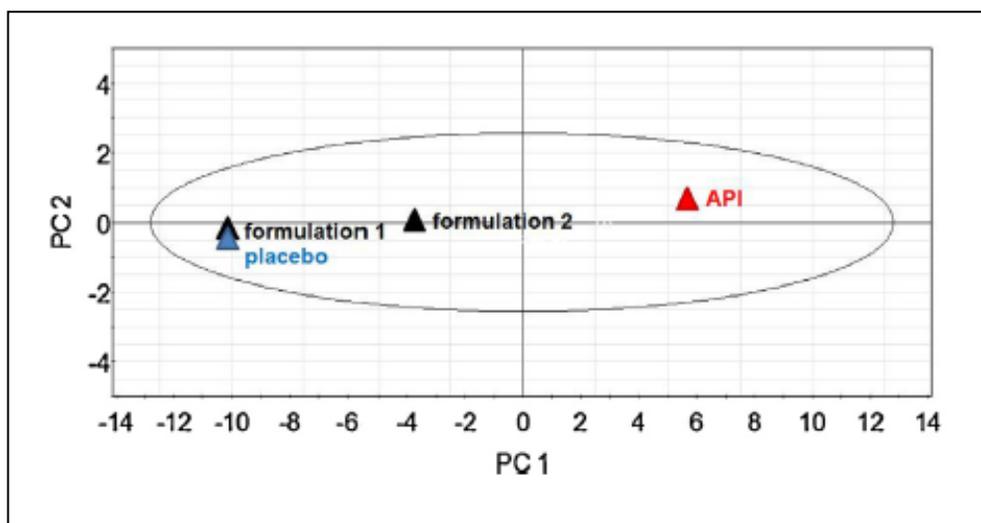
Em relação a α Astree, Tokuyama e colaboradores (2009) previram a intensidade do amargor de comprimidos de dispersão oral de famotidina e demonstraram uma boa correlação entre o sabor predito pela análise do componente principal e as intensidades de amargor obtidas no teste de sensibilidade humana. Ito e colaboradores (2011) previram a amargura de anti-histamínicos e os efeitos de mascaramento de edulcorantes utilizando a língua eletrônica. Maniruzzaman (2014), Wei (2015) e Nakamura (2015) e colaboradores também utilizaram a língua eletrônica como uma ferramenta para a avaliação de sabor *in vitro* (HARAGUCHI *et al.*, 2016; TOKUYAMA *et al.*, 2009; ITO *et al.*, 2011; MANIRUZZAMAN *et al.*, 2014; WEI *et al.*, 2015; NAKAMURA *et al.*, 2015).

A utilização racional de sistemas eletrônicos de detecção do paladar para determinar efeitos de mascaramento do sabor baseia-se na sua abordagem multi-sensor não específica, que permite medir a atividade das moléculas dentro de uma formulação. Juntamente à capacidade dos seus sensores de se ligar ou interagir com diferentes estruturas químicas, eles permitem assumir uma impressão geral em vez de apenas determinar a concentração do IFA. Espera-se melhores resultados para a determinação das propriedades de mascaramento do sabor se existir uma dependência entre as concentrações do IFA, o sabor desagradável e o sinal do sensor. Com base no princípio de medição potenciométrica isto é mais provável para moléculas carregadas. Neste caso, espera-se, então, que as diferenças nos sinais dos sensores se baseiem em concentrações de IFA mais baixas devido a um mascaramento do sabor bem-sucedido (ONO *et al.*, 2011).

As propriedades de mascaramento de sabor são avaliadas comparando os sinais da amostra com os da formulação placebo e do fármaco puro utilizando estatísticas univariadas ou, em geral, multivariadas (WOERTZ *et al.*, 2011). A *Análise de Componentes Principais* (do inglês, *Principal Component Analysis – PCA*) tem como objetivo reduzir as informações dos sensores multidimensionais. A informação principal é dada em um gráfico bidimensional ou tridimensional, no qual uma formulação pode ser considerada com um sabor agradável se a distância em relação à formulação placebo for pequena ou muito próxima. Consequentemente, espera-se um mascaramento de sabor sem êxito, quanto mais próxima for a distância em relação ao IFA puro. Estas distâncias entre as formulações e o IFA puro no gráfico são chamadas de distâncias euclidianas (WOERTZ *et al.*, 2010) e a porcentagem em cada eixo mostra a quantidade de informação captada pelo componente principal (LENIK *et al.*, 2016).

A figura 4 abaixo mostra um mapa de PCA representando as saídas de um sensor eletrônico em um gráfico bidimensional; as informações apresentadas pelo IFA puro foram comparadas àquelas de uma formulação placebo e formulações que passaram por um processo de mascaramento do sabor (formulações 1 e 2). O IFA representa o sabor desagradável, enquanto a formulação livre de fármaco (placebo) exhibe o sabor desejado; ou seja, quanto menor for a distância entre a formulação placebo e as formulações que passaram por um processo de mascaramento de sabor no gráfico, mais eficiente terá sido o mascaramento e melhor será o sabor da formulação em comparação ao IFA puro (PEIN *et al.*, 2014). No caso apresentado abaixo, o mascaramento de sabor da formulação 1 foi mais eficiente em relação ao da formulação 2 uma vez que, no gráfico, a formulação 1 está mais próxima da formulação placebo em relação à formulação 2.

Figura 4: Análise dos componentes principais. As informações do IFA (do inglês, Active Pharmaceutical Ingredient – API) puro são comparadas àquelas de uma formulação sem fármaco (placebo) e formulações com mascaramento do sabor (formulações 1 e 2).



Fonte: PEIN *et al.*, 2014.

A avaliação quantitativa da palatabilidade é um componente importante no processo de desenvolvimento de formulações. O teste de sensação humana é um método importante para avaliar a palatabilidade de formulações, no entanto, o uso de voluntários humanos para testes de sabor requer que os voluntários sejam precisos, ao passo que, além disso, questões éticas podem impedir o teste de sabor humano de alguns fármacos ativos como, por exemplo, os anti-neoplásicos. O uso de um sensor de sabor eletrônico acaba com essas dificuldades. Os

sensores de sabor para a avaliação da amargura de diversos tipos de medicamentos têm demonstrado sua capacidade de prever com precisão a intensidade da amargura anteriormente comprovada pelos sentidos humanos (HARAGUCHI *et al.*, 2016).

5.3.2.2. Métodos espectrofotométricos

Os métodos espectrofotométricos baseiam-se em uma estimativa da concentração da substância ativa em uma solução aquosa filtrada e preparada de forma reprodutível. Se a concentração estiver abaixo de um limiar conhecido, pode concluir-se que nenhum sabor será percebido *in vivo*. Os testes espectrofotométricos podem ser particularmente adequados para o controle de qualidade de rotina das formas de dosagem fabricadas, embora, até hoje, ainda não existam legislações que regulamentem e exijam o controle de qualidade relacionado ao sabor de fármacos e medicamentos (JOSHI & PETEREITB, 2013).

Entretanto, o uso racional da espectroscopia ultravioleta (UV) para a determinação de efeitos de mascaramento do sabor deve se basear em duas suposições: (1) uma substância precisa estar dissolvida para gerar a percepção de um sabor desagradável; e (2) somente o IFA – e nenhum dos excipientes nesta formulação – deve ser o responsável pelo gosto percebido. De fato, na maioria dos casos, o sabor desagradável da formulação está relacionado ao IFA e tal fato faz com que haja aumento na percepção do sabor conforme uma maior quantidade de IFA é liberada da formulação. Contudo, se um ou mais excipientes contribuem para o sabor desagradável, a determinação analítica da concentração de IFA torna-se insuficiente (GUFFON *et al.*, 2012).

Além disso, os resultados baseados neste método são considerados ainda mais valiosos se a concentração obtida for comparada com o limiar humano. Por exemplo, Bora e colaboradores (2008) mostraram que a concentração de ondansetrona após o tempo de dissolução de 5 minutos estava abaixo do limiar da percepção humana determinado a partir de um painel de gosto humano (BORA *et al.*, 2008). Shiino e colaboradores (2010) definiram uma liberação de fármaco abaixo do limiar humano nos primeiros 10 minutos de dissolução como critérios de mascaramento de sabor bem-sucedido (SHIINO *et al.*, 2010).

5.3.2.3. Ensaios de dissolução

Uma das formas descritas para a avaliação da eficiência do mascaramento de sabor de IFAs e medicamentos está relacionada à uma redução ou total inibição da interação do IFA e/ou dos excipientes com as papilas gustativas orais (SOHI *et al.*, 2004). Desta forma, a inibição da liberação dos compostos ativos na cavidade oral pode ser considerada uma etapa crítica em relação a palatabilidade de medicamentos.

A cavidade oral, como um local de dissolução, é muitas vezes negligenciado devido ao rápido trânsito oral das formas de dosagem convencionais quando engolidas. Contudo, tais formulações (Exemplo: comprimidos e cápsulas) são de aplicação limitada na população pediátrica e geriátrica e a popularidade das formas de dosagem oral alternativas que residem na boca durante tempo significativo está aumentando (GITTINGS *et al.* 2015).

Muitas formulações alternativas, tais como películas orais, comprimidos sublingual e bucal e CDO dependem da desintegração e posterior dissolução na saliva. Pelo contrário, as formas de dosagem oral que passam pelo processo de mascaramento de sabor, frequentemente, visam reduzir a dissolução do fármaco na saliva de modo a evitar o contato entre o IFA e as papilas gustativas. A saliva, portanto, desempenha um papel crítico na dissolução e no desempenho destas formulações. No entanto, não há consenso sobre as características chave da saliva humana que podem afetar a dissolução e, como resultado, é difícil selecionar ou desenvolver um meio de dissolução para melhor representar a saliva humana na avaliação destas formas de dosagem (GITTINGS *et al.*, 2015).

Uma série de parâmetros podem ser considerados como influentes na dissolução *in vitro*. O pH, a capacidade tamponante e a tensão superficial são identificados como alguns dos fatores mais importantes. Além disso, a viscosidade pode também ser considerada influente em muitos casos, bem como os fatores hidrodinâmicos não relacionados ao meio, como volume, fluxo, agitação e equipamentos (WANG *et al.*, 2009).

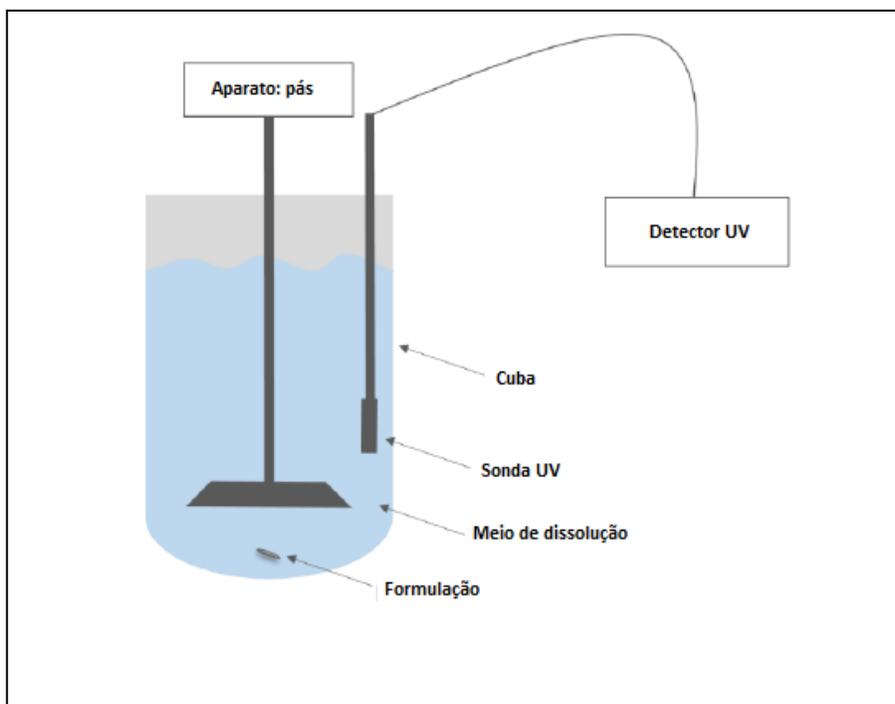
Algumas estratégias relacionadas à proteção do IFA e sua conseqüente liberação tardia da formulação já estão descritas em literatura (PREIS *et al.*, 2014; RAJESH *et al.*, 2015; WALSH *et al.*, 2014). Neste contexto, os ensaios de dissolução podem ser utilizados com o intuito de prever o quanto do fármaco será dissolvido e liberado da sua forma farmacêutica em um intervalo específico de tempo e, desta forma, presumir a possível intensidade

(concentração) da interação IFA (s) – papilas gustativas e sua respectiva ação em relação a palatabilidade de determinado fármaco (PETROVICK *et al.*, 2016).

Tradicionalmente, os testes de dissolução de fármacos são utilizados para avaliar a taxa de liberação de fármacos para fins de controle de qualidade. Por isso, muitas vezes, as descrições dos ensaios não citam condições biorelevantes (volume e composição do meio de dissolução, por exemplo) para avaliação *in vitro* de formulações. No entanto, a utilização de condições adequadas permitiria uma avaliação mais confiável (KHAYDUKOVA *et al.*, 2016).

A análise de mascaramento de sabor por de testes de dissolução é feita a partir da utilização de sondas de fibra óptica de espectroscopia UV os quais podem ser facilmente implementados e adaptados aos equipamentos para o teste de dissolução (Figura 5). A utilização dessas sondas permite medições de concentração em tempos curtos. Tal fato torna-se benéfico para uma avaliação fiável, tendo em vista que o tempo de permanência de formulações orais na boca humana destinadas à deglutição é de cerca de 30s (KHAYDUKOVA *et al.*, 2016; KUENTZ, 2015).

Figura 5: Configuração experimental. Cuba equipada com sonda UV.



Fonte: Adaptado de KHAYDUKOVA *et al.*, 2016.

Neste contexto, em 2003 Siewert e colaboradores elucidaram que a liberação de uma quantidade $\leq 10\%$ de fármaco dentro dos primeiros 5 minutos de dissolução indica um mascaramento de sabor bem-sucedido (SIEWERT *et al.*, 2003). Contudo, esses 5 minutos podem ser considerados um tempo irreal para uma forma de dosagem sólida oral. Em um estudo feito com crianças com transtorno de déficit de atenção, hiperatividade e autismo, Beck e colaboradores (2005) definiram que um tempo de deglutição bem-sucedido e seguro, de fato, não deve exceder 30 segundos. Desta forma, Pein e colaboradores (2014) sugeriram 30 segundos de dissolução, tempo recomendável para a investigação das propriedades de mascaramento do sabor de formas de dosagem oral sólidas. No entanto, este limiar arbitrário é altamente dependente do limiar de percepção humana de cada substância de fármaco individualmente e os métodos de dissolução como tal não são aplicáveis para avaliar os efeitos de mascaramento do sabor com base na adição de edulcorantes (PEIN *et al.*, 2014; PETROVICK *et al.*, 2016; BECK *et al.*, 2005).

Os principais meios de dissolução utilizados neste tipo de análise são a saliva artificial e a água purificada. Embora a saliva humana seja constituída por 99% de água, suas propriedades físico-químicas são baseadas nos eletrólitos incluídos, proteínas e pequenas moléculas orgânicas. Assim, a composição química da saliva natural é muito complexa e conhecida por ser influenciada por vários fatores, como idade, estado de saúde ou dieta. A saliva artificial é constituída, geralmente, por soluções heterogêneas, principalmente levando-se em consideração a mimetização do valor de pH e da capacidade tamponante em relação à saliva natural. No entanto, não há um consenso, ainda, sobre quais seriam as características essenciais de uma saliva humana que poderiam afetar a dissolução. Como resultado, é difícil selecionar ou desenvolver um meio de dissolução *in vitro* universal que melhor represente a saliva humana na avaliação de formas orais de dosagem (GITTINGS *et al.*, 2015).

A correlação dos dados obtidos em testes de liberação e dissolução *in vitro* com o teste de painel de sabor humano pode ser feita por comparação da concentração de fármaco liberado ou dissolvido com o limiar de amargor humano percebido utilizando-se concentrações de fármaco semelhantes às dos testes de dissolução ao longo do tempo (MOHAMED-AHMED *et al.*, 2016).

5.3.3. Técnicas *in vivo*

5.3.3.1. Painel sensorial humano

Os painéis humanos são testes de análise sensorial feitos com voluntários humanos, adultos saudáveis. O número de voluntários no geral variam de 4 à 30 e a idade dos mesmos, se citada, é, em média, de 18 à 29 anos. A percepção do sabor nos seres humanos difere com base na sua nacionalidade, hábitos alimentares e idade. Assim, a falta de informação sobre as composições e estruturas etárias do grupo de análise reduz a significância dos resultados (PEIN *et al.*, 2014). A figura 6 representa a organização de um painel sensorial humano.

Figura 6: Representação de uma avaliação sensorial pelo método do Painel Humano.



Fonte: <http://thiemt.com/laboratory>.

Inicialmente, o protocolo do estudo é preparado e posteriormente submetido ao Comitê Ético Institucional. Os voluntários humanos são identificados e selecionados a partir de parâmetros de inclusão e exclusão do estudo tais como idade, uso de medicações, consumo de álcool, gravidez, uso de cigarro, alergia, percepção prejudicada do paladar, higiene dental, dentre outros. Os voluntários são informados sobre o procedimento de estudo, a toxicidade do fármaco ou formulação e os riscos envolvidos e, além disso, detalhes do voluntário (nome, idade, sexo, etc.) são mantidos em sigilo e fornecidos somente aos comitês. Os voluntários devem abster-se de comer, beber ou mascar chiclete durante, pelo menos, uma hora antes do teste (ANAND *et al.*, 2008).

Os voluntários humanos são treinados para entender a maneira correta de conduzir a avaliação do sabor sem considerar suas preferências pessoais. No treinamento, aspectos relacionados à aplicação e degustação da amostra, classificação de intensidade, uso de escala apropriada, dentre outros, são expostos e esclarecidos. Os ensaios de avaliação do sabor são concebidos de forma a avaliar parâmetros como sabor (doce, salgado, amargo), sabor residual (amargo, salgado, azedo, umami, adstringência, dormência, frescor), aroma, textura e sensação na boca (delicado, grosso, viscoso, arenoso) (ANAND *et al.*, 2008).

O ensaio dos parâmetros acima mencionados pode ser efetuado por meio de testes de discriminação, testes de escala, testes afetivos, métodos descritivos, dentre outros.

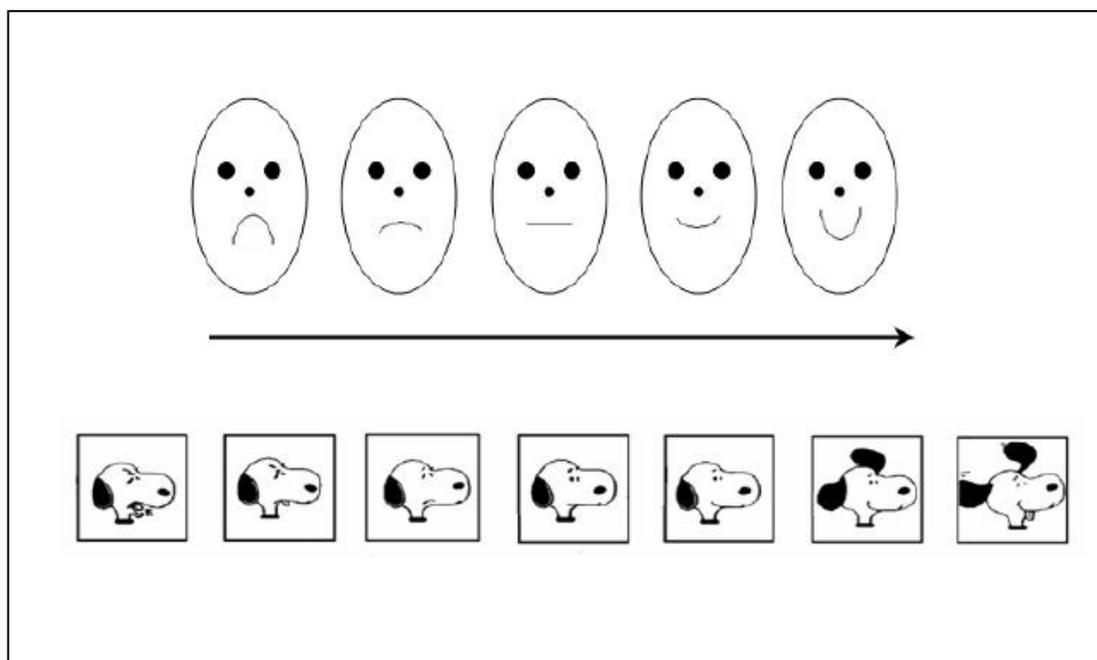
Escores ou escalas são as formas mais populares para a avaliação do sabor das formulações. A maioria das escalas usa sistemas numéricos, enquanto algumas usam outros sistemas de pontuação. Alguns sistemas de pontuação atribuem números baixos a formulações saborosas ou agradáveis e números altos a um gosto muito desagradável, enquanto outros são correlacionados a pontuação de forma contrária. A correta avaliação inter-estudos, desta forma, deve levar em consideração as diferentes escalas para que estas possam ser orientadas comparativamente (DAVIES & TULEU, 2008).

Algumas escalas oferecem uma alternativa para a análise da percepção do paladar. Na escala análoga visual (do inglês, *Visual Analog Scale – VAS*), por exemplo, a análise se inicia em um ponto de partida rotulado como "sem gosto" e um ponto final marcado como "gosto forte". A vantagem desta escala é a sua aplicabilidade para avaliar diferentes tipos de sabores, como amargor, doçura, salinidade, adstringência e acidez, mas também para descrever a sensação da boca (por exemplo, rugosidade) ou a palatabilidade geral (NAKANO *et al.*, 2013).

Além disso, esta escala pode ser usada para crianças de seis anos ou mais (DAVIES & TULEU, 2008).

Para crianças mais novas (entre 3 e 6 anos), Davies e Tuleu (2008) relataram sobre escalas hedônicas faciais como sistemas de pontuação aplicáveis. Esta escala permite a expressão de preferências correlacionando-as com imagens (Figura 7) que retratam expressões faciais (DAVIES & TULEU, 2008; ANAND *et al.*, 2008).

Figura 7: Exemplo de escala hedônica facial para a avaliação do paladar.



Fonte: ANAND *et al.*, 2008.

A escala de magnitude rotulada (do inglês, *Labeled Magnitude Scale – LMS*) é outro sistema de pontuação o qual foi introduzido por Green e colaboradores (GREEN *et al.*, 1993, 1996). Esta escala é rotulada com os descritores verbais "pouco detectáveis", "fraco", "moderado", "forte", "muito forte" e "mais forte imaginável". Esta escala, no entanto, não reflete intensidades percebidas entre os indivíduos e, portanto, não poderia ser usado para a correspondência dessa magnitude tendo em vista que o sabor "fraco" para um indivíduo pode não ser para outro (ANAND *et al.*, 2008).

Embora o teste de sensação gustativa humana seja o principal método para a avaliação *in vivo* da palatabilidade, este método está associado a dificuldades e limitações. É necessário que exista um método estatístico bem estabelecido a fim de que se evite erros e se diminua a variabilidade entre os voluntários e suas respectivas percepções de sabor, uma vez que problemas relacionados a reprodutibilidade e confiabilidade são comumente observados neste tipo de teste (HARAGUCHI *et al*, 2016; JOSHI & PETEREITB, 2013). Além disso, o efeito de fármacos altamente potentes não pode ser excluído, fato este que coloca em questão os benefícios práticos e científicos do painel humano. Deve-se levar em consideração, também, o estresse sensorial possivelmente gerado por este tipo de análise. Conforme anteriormente mencionado, grande parte dos fármacos apresenta um sabor muito amargo e esta sensação certamente não é agradável para quem o está avaliando.

Em relação aos pacientes pediátricos, as diretrizes da Agência Europeia de Medicamentos (do inglês, *European Medicines Agency – EMA*) indicam que, quando possível, a aceitabilidade do medicamento deve ser estudada em crianças e estes dados devem ser considerados como parte da pesquisa clínica. No entanto, o mais comum é que essa análise sensorial seja estudada por outros meios como revisão de referências bibliográficas ou estudos de painéis humanos com adultos treinados (EMA, 2013). Não são dadas orientações sobre os métodos de ensaio e os critérios de aceitação o que implica que qualquer proposta devidamente justificada pode ser aceita. Além disso, a diretriz não aborda explicitamente medições *in vitro* para avaliações de sabor como a utilização da língua eletrônica, por exemplo. Evidências atuais indicam que este método pode ser valioso para a indústria farmacêutica ao se avaliar o efeito das técnicas de mascaramento do sabor durante o desenvolvimento do produto (VAN RIET-NALES *et al.*, 2017).

5.3.3.2. Estudo de palatabilidade em sapos

Este método é praticado em sapos-boi adultos anestesiados, mais especificamente, na região intraperitoneal. O nervo glossofaríngeo é dissecado, cortado proximalmente e ligado a um amplificador com um integrador eletrônico. A configuração permite a detecção quantitativa dos impulsos nervosos e correlaciona a altura do pico com a intensidade da detecção do sabor quando se aplica uma substância de teste (KATSURGI & KASHIWAYANAGI, 1997; JOSHI &

PETEREITB, 2013). No entanto, como este teste gera o sacrifício do animal, não é, por sua vez, um dos testes mais recomendados para a análise sensorial de medicamentos.

5.3.3.3. Estudo de palatabilidade em ratos

Como alternativa ao painel humano de sabor e à língua eletrônica, métodos os quais estão entre os mais citados na literatura disponível sobre análise sensorial de medicamentos, as formulações submetidas ao mascaramento de sabor podem ser avaliadas em animais (PREIS *et al.*, 2014). Ratos, camundongos, gatos e cães são comumente utilizados para tais testes de preferência de sabor. Sabe-se que os roedores (ratos e camundongos) são particularmente úteis para estudos de percepção do paladar uma vez que partilham de vários comportamentos e características fisiológicas com os seres humanos como, por exemplo, sensibilidades gustativas (TIWARI *et al.*, 2015).

Dentre os testes disponíveis, o teste de monitoramento da frequência de lambição é um dos comumente usados para a determinação das preferências de sabor e das propriedades de concentração–resposta de estímulos de sabor por animais (NOORJAHAN *et al.*, 2014). Além disso, outro modo de avaliação em ratos é feito levando-se em consideração o volume de água ingerido pelos animais em comparação ao volume das soluções em análise ingerido em resposta a palatabilidade das mesmas (TIWARI *et al.*, 2015). Ambos os testes acima citados também são confirmados por uma observação comportamental dos animais.

No teste de frequência de lambição, há a apresentação de uma solução de substância amarga à ratos a qual poderá causar uma diminuição da taxa de lambição em relação à água; a frequência de lambição da água pode ser considerada como linha de base; ou 100%. Esta frequência pode ser quantificada e apresenta uma correlação com a concentração: à medida que a concentração de substância amarga na solução aumenta, a taxa de lambição diminui. Além disso, outros comportamentos aversivos, como agitação da cabeça, são reações hedônicas que também são dependentes da concentração e podem ser registradas como resposta negativa ao estímulo amargo (NOORJAHAN *et al.*, 2014).

Em um estudo feito por Noorjahan e colaboradores (2014), após 24 horas de privação de água, os ratos foram primeiramente autorizados a beber água e, em seguida, tiveram acesso às soluções teste (soluções de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA)) em diferentes concentrações e em tempo fixos específicos. Posteriormente, a frequência de lambição das

soluções teste foram contadas e comparadas às da água, a qual foi considerada 100%. Obteve-se uma frequência de lambição elevada de 86% para uma solução 1 mg/mL de EDTA indicando que a solução não exibia um sabor tão desagradável. Em soluções com concentrações de 5mg/mL e 10mg/mL de EDTA, no entanto, obteve-se uma frequência de 50% e 36%, respectivamente, indicando uma menor aceitação devido à elevada concentração da substância. Dessa forma, os ratos mostraram uma diminuição dependente da concentração na frequência de lambição.

Após a aplicação de técnicas de mascaramento de sabor em ambas as soluções não muito aceitas pelos animais, uma nova análise da frequência de lambição foi feita. Os resultados mostram um aumento na frequência de lambição para, aproximadamente, 80%, indicando que os métodos de mascaramento de sabor foram, de fato, eficazes (NOORJAHAN *et al.*, 2014).

No teste de avaliação do volume de amostra ingerido, inicialmente avalia-se o volume total de água consumido no final de um tempo determinado para o experimento. Em seguida, avalia-se o volume total ingerido de uma solução teste a qual deseja-se saber a aceitação e palatabilidade, também ao final do mesmo tempo definido anteriormente. Caso a ingestão seja semelhante ou próxima a da água, há indícios da aceitabilidade por parte dos animais e consequente gosto aceitável da formulação. O contrário também é verdadeiro.

Em um estudo feito por Tiwari e colaboradores (2015), no dia 1, o volume total de água consumida no final de 30 minutos de experimento foi de, aproximadamente, 15 mL e não foram observados movimentos bucais, indicando que a percepção do sabor da água pelos ratos era relativamente neutra. No dia 2, utilizou-se uma solução de água e frutose como uma solução teste para a avaliação do sabor doce. O volume total consumido no final de 30 minutos de experimento foi de, aproximadamente, 15 mL e observou-se uma reação hedônica normal, isto é, protrusões rítmicas centrais da língua e protrusões laterais (discretas e não rítmicas), além de lambidas da pata. O volume da solução de água e frutose consumida e o comportamento dos ratos indicaram que os ratos gostaram do sabor da frutose. Quando os ratos tiveram acesso livre a uma solução de citrato de cafeína, ao final de 30 minutos, observou-se uma diminuição dependente da concentração no consumo da solução de ensaio. O comportamento de aversão ao gosto também foi observado, dentre os quais pode-se destacar o enrugamento do nariz, a limpeza da pata, a sacudida da cabeça, o batimento da pata e o isolamento (TIWARI *et al.*, 2015).

5.3.3.4. Outros modelos animais

Os peixes e as drosófilas têm sido recentemente utilizados na avaliação de sabor de fármacos puros, tendo em vista que estes animais têm receptores semelhantes aos dos mamíferos. A análise da preferência de sabor em peixes é realizada pela observação e pontuação da classificação de consumo de fármacos marcados com corantes fluorescentes; a quantificação de fármaco (corante) ingerido e, conseqüentemente, a preferência pelo sabor de determinada amostra, é medida utilizando-se um microscópio de fluorescência (KAPSIMALI *et al.*, 2013; LIMAN *et al.*, 2014).

Além da utilização de peixes para a análise de sabores, alguns estudos mostram que a *Drosophila melanogaster* pode distinguir entre diferentes qualidades de sabor (doce, amargo e salgado). Esse sabor pode ser avaliado por: (1) registro eletrofisiológico da atividade elétrica nervosa apresentada como resposta a determinado saborizante; (2) ensaios de alimentação comportamental no qual as moscas ficam restritas à alimentação durante 22 à 24 horas seguido de alimentação com uma solução de saborizante; (3) ensaio de sobrevivência; e (4) medição da probóscide após a aplicação do saborizante nas patas dianteiras (MOHAMED-AHMED *et al.*, 2016).

Estes ensaios comportamentais utilizando moscas drosófilas e peixes podem ser ferramentas promissoras para a avaliação do sabor aversivo dos IFAs. No entanto, até então, nenhuma correlação com dados obtidos com humanos foi feita em relação à este estudo (MOHAMED-AHMED *et al.*, 2016).

5.3.4. Correlação *in vivo* x *in vitro*

Alguns autores correlacionaram os resultados da análise sensorial de fármacos e medicamentos *in vitro* com resultados obtidos *in vivo* (BORA *et al.*, 2008; HOANG THI *et al.*, 2012; KAYUMBA *et al.*, 2007; SADRIEH *et al.*, 2005; SHIINO *et al.*, 2010; TOKUYAMA *et al.*, 2009). No geral, os resultados obtidos em estudos comparativos com detecção eletrônica do sabor revelaram estar de acordo com àqueles encontrados nos painéis humanos.

Em estudos feitos por Kayumba e colaboradores (2007), avaliou-se a predição do amargor de substâncias pelos métodos da língua eletrônica e perfil de dissolução do fármaco por análise UV e o método do painel humano (utilizando-se uma escala numérica). A partir da

análise dos resultados, concluiu-se que os dados obtidos pela língua eletrônica correspondem mais fielmente aos dados *in vivo* do que os resultados obtidos no perfil de dissolução do fármaco. No entanto, deve-se levar em consideração que não foram fornecidos detalhes sobre os fármacos, nem sobre as informações base para a aplicação do painel, tais como características dos voluntários e procedimento de treinamento, por exemplo (PEIN *et al.*, 2014; KAYUMBA *et al.*, 2007).

Eckert e colaboradores (2013) avaliaram os efeitos variáveis dos sabores e seus resultados revelam uma maior seletividade e sensibilidade dos métodos analíticos *in vitro* da língua eletrônica e HPLC/UV em comparação aos resultados com base em um painel humano profissional. Os métodos analíticos detectaram pequenas diferenças quanto à composição dos ingredientes, enquanto que os participantes do painel puderam apenas diferenciar as amostras mais divergentes (ECKERT *et al.*, 2013).

6. CONCLUSÃO

O método mais utilizado até então para se determinar as propriedades de mascaramento do paladar têm sido o painel humano. A avaliação das propriedades de mascaramento do sabor por esse tipo de análise são considerados eficazes e, dentre os métodos analisados, foi um dos métodos mais citados e descritos em literatura, sendo superado, apenas, pelo método da língua eletrônica.

Por outro lado, embora o teste de sensação gustativa humana seja o principal método para a avaliação *in vivo* da palatabilidade, este método está associado a dificuldades e limitações tendo em vista problemas relacionados a reprodutibilidade e, também, àqueles relacionados á efeitos de fármacos altamente potentes e possivelmente tóxicos.

Nos últimos anos, o surgimento dos sensores de sabor eletrônicos (língua eletrônica) vieram como alternativa aos testes em humanos. Esses sensores de sabor podem ser utilizados para a avaliação da amargura de diversos tipos de medicamentos e têm demonstrado sua capacidade de prever com precisão a tal intensidade anteriormente comprovada pelos sentidos humanos.

Alguns estudos analisados na revisão bibliográfica indicam que os sistemas eletrônicos na avaliação do sabor podem potencialmente auxiliar ou substituir os painéis sensoriais humanos comumente aplicados na análise de rotina e no desenvolvimento de formulações farmacêuticas. No entanto, deve ser enfatizado que o efeito de mascaramento de sabor identificado deve ser interpretado com cautela, uma vez que grande parte dos resultados ainda não foram suportados pela análise por painel sensorial humano.

Além disso, uma outra questão a se avaliar seria o fato de que espera-se que haja uma maior seletividade e sensibilidade dos métodos analíticos *in vitro* em comparação aos resultados *in vivo*, tendo em vista que o mascaramento de sabor só pode ser assumido se a quantidade liberada de IFA não exceder o limiar de percepção humana dentro do tempo de dissolução pré-definido. Portanto, deve-se verificar se o limite analítico de quantificação do método aplicado é, de fato, ainda menor em relação ao limiar de percepção humana.

Outros métodos foram citados e descritos e, cada um deles, tem sua relevância e aplicação na análise sensorial de medicamentos, entretanto, nenhum deles permaneceu dentre os mais mencionados na literatura. Com base nesta revisão, portanto, os métodos mais úteis

para a avaliação do sabor amargo foram: painel sensorial humano e sistemas eletrônicos de detecção do paladar – Insent e α Astree.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANAND, V.; KATARIA, M.; KHARB, V. *et al.* Taste assessment trials for sensory analysis of oral pharmaceutical products. *Pak. J. Pharm. Sci.*, v. 21, n.4, p. 438-450, 2008.
- BADGUJAR, B.P.; MUNDADA, A.S. The technologies used for developing orally disintegrating tablets: A review. *Acta Pharm.* 61, 117–139, 2011.
- BECK, M.H.; CATALDO, M.; SLIFER, K.J. *et al.* Teaching children with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) and autistic disorder (AD) how to swallow pills. *Clin. Pediatrics* 44, 515–526, 2005.
- BORA, D.; BORUDE, P., BHISE, K. Taste masking by spray-drying technique. *AAPS PharmSciTech* 9, 1159–1164, 2008.
- CAMPBELL, G.A.; JOSEPH, A.; CHARLES, A. *et al.* Evaluating the taste masking effectiveness of various flavors in a stable formulated pediatric suspension and solution using the Astree™ electronic tongue. *Powder Technology* 224:109–123, 2012.
- CASTRO, A.D.; SILVA JR., N.P.; CURY, B.S.F. *et al.* A new approach to the granulation of β -cyclodextrin inclusion complexes, *Chem. Eng. J.* 164, 316–321, 2010.
- COELHO, H.L.L.; REYB, L.C.; MEDEIROS, M.S.G. *et al.* A critical comparison between the World Health Organization list of essential medicines for children and the Brazilian list of essential medicines (Rename). *J. Pediatr (Rio J)*, 89(2):171–178, 2013.
- DAVIES, E.H.; TULEU, C. Medicines for children: a matter of taste. *J. Pediatr.* 153, 599-604.e592, 2008.
- ECKERT, C.; PEIN, M.; REIMANN, J. *et al.* Taste evaluation of multicomponent mixtures using a human taste panel, electronic taste sensing systems and HPLC. *Sens. Actuators B: Chem.* 182, 294–299, 2013.
- EMA. European Medicines Agency Committee on Medicinal Products for Human Use (CHMP) & Paediatric Committee (PDCO). Guideline on the pharmaceutical development of medicines for paediatric use. 2013. Disponível em: <http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/about_us/general/general_content_000265.jsp&mid=WC0b01ac0580028e9d>. Acesso em: Fev, 2017.
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Instrumentação Agropecuária. Língua eletrônica. 2013. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/instrumentacao/busca-de-imagens/-/midia/2018001/lingua-eletronica>>. Acesso em: Fev, 2017.

- GITTINGS, S., TURNBULL, N.T., HENRY, B. *et al.* Characterisation of human saliva as a platform for oral dissolution medium development. *Eur. J. of Pharm. and Biopharm.* 91, 16-24, 2015.
- GITTINGS, S.; TURNBULL, N.; ROBERTS, C.J.; *et al.* Dissolution methodology for taste masked oral dosage forms. *J. Control. Release* 173, 32–42, 2014.
- GREEN, B.G.; DALTON, P.; COWART, B. *et al.* Evaluating the 'labeled magnitude scale' for measuring sensations of taste and smell. *Chem. Senses* 21, 323–334, 1996.
- GUFFON, N.; KIBLEUR, Y.; COPALU, W. *et al.* Developing a new formulation of sodium phenylbutyrate. *Arch. Dis. Child.* 97, 1081–1085, 2012.
- GUYTON, C.; HALL, J.E. *The Chemical Senses – Taste and Smell Textbook of Medical Physiology*, 11th ed. W.D. Saunders Company, Hong Kong, 2007.
- HARAGUCHI, t.; YOSHIDA, M.; KOJIMA, H. Usefulness and limitations of taste sensors in the evaluation of palatability and taste-masking in oral dosage forms. *asian journal of pharmaceutical sciences* 11:479–485, 2016.
- ITO, M.; YOSHIDA, M.; KOBAYASHI, Y. *et al.* Bitterness evaluation of H1-receptor antagonists using a taste sensor. *Sensors and Materials*, 23:483–492, 2011.
- JOSHI, S.; PETEREITB, A, H.-U. Film coatings for taste masking and moisture protection. *International Journal of Pharmaceutics* 457, 395– 406, 2013.
- KAPSIMALI, M.; BARLOW, L.A. Developing a sense of taste. *Semin. Cell. Dev. Biol.* 24, 200–209, 2013.
- KATAOKA, M.; YOSHIDA, K.; MIYANAGA, Y. *et al.* Evaluation of the taste and smell of bottled nutritive drinks. *Int J Pharm.* 305:13–21, 2005.
- KAYUMBA, P.C.; HUYGHEBAERT, N.; CORDELLA, C. *et al.* Quinine sulphate pellets for flexible pediatric drug dosing: formulation development and evaluation of taste-masking efficiency using the electronic tongue. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 66, 460–465, 2007.
- KHAN, A.; IQBAL, Z.; IBRAHIM, M. *et al.* Prediction of the effect of taste masking on disintegration behavior, mechanical strength and rheological characteristics of highly water soluble drug (itopride HCl); an application of SeDeM-ODT expert system. *Powder Technology* 284, 411–417, 2015.
- KHAYDUKOVA, M; KIRSANOV, D.; PEIN-HACKELBUSCH, M. *et al.* Critical view on drug dissolution in artificial saliva: A possible use of in-line e-tongue measurements. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2016.

- KOBAYASHI, Y.; HABARA, M.; IKEZAKI, H. *et al.* Advanced taste sensors based on artificial lipids with global selectivity to basic taste qualities and high correlation to sensory scores. *Sensors* 10, 3411–3443, 2010.
- KUENTZ, M. Analytical technologies for real-time drug dissolution and precipitation testing on a small scale. *J. of Pharm. and Pharmacol.* 67, 143-159, 2015.
- LENIK, J.; WESOLY, M.; CIOSEK, P. *et al.* Evaluation of taste masking effect of diclofenac using sweeteners and cyclodextrin by a potentiometric electronic tongue. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 780, 153–159, 2016.
- LI, X.; CHANG, S.; DU, G.; LI, Y.; *et al.* Encapsulation of azithromycin into polymeric microspheres by reduced pressure-solvent evaporation method, *Int. J. Pharm.* 433, 79–88, 2012.
- LIMAN, E.R.; ZHANG, Y.V.; MONTELL, C. Peripheral coding of taste. *Neuron* 81, Elsevier Inc., 2014.
- MANIRUZZAMAN, M.; BONNEFILLE, M.; ARANYOS, A. *et al.* An in-vivo and in-vitro taste masking evaluation of bitter meltextruded drugs. *J Pharm Pharmacol*, 66:323–337, 2014.
- MARQUES, M.R.C.; LOEBENBERG, R.; ALMUKAINZI, M. Simulated Biological Fluids with Possible Application in Dissolution Testing. *Dissolution Technologies*, 2011.
- MENDES, K.D.S.; SILVEIRA, R.C.C.P.; GALVÃO, C.M. Etapas da revisão integrativa da literatura. *Texto & Contexto – Enfermagem*, Florianópolis, v. 17, n. 4, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-07072008000400018>. Acesso em: Nov, 2016.
- MENNELLA, J.A.; BEAUCHAMP, G.K. Optimizing oralmedications for children, *Clin. Ther.* 30, 2120–2132, 2008.
- MIRAJKAR, R.N.; DEVKAR, M.S.; KOKARE, D.R. Taste masking methods and agents in pharmaceutical formulations, *Int. J. Pharm.* 3, 67–70, 2012.
- MOHAMED-AHMED, A.H.A.; SOTO, J.; ERNEST, T. *et al.* Non-human tools for the evaluation of bitter taste in the design and development of medicines: a systematic review. *Drug Discovery Today*, Volume 21, Number 7, 2016.
- NAKAMURA, H.; UCHIDA, S.; SUGIURA, T. *et al.* The prediction of the palatability of orally disintegrating tablets by an electronic gustatory system. *Int J Pharm*, 493:305–312, 2015.
- NAKANO, Y.; MAEDA, A.; UCHIDA, S. *et al.* Preparation and evaluation of unpleasant taste-masked pioglitazone orally disintegrating tablets. *Int. J. Pharm.* 446, 160–165, 2013.

- NISHIYAMA, T.; OGATA, T.; OZEKI, T. Preparation of bitter taste-masking granules of lafutidine for orally disintegrating tablets using water-insoluble/soluble polymer combinations. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 32, 38e42, 2016.
- NOORJAHAN, A.; AMRITA, B.; KAVITA, S. *In vivo* evaluation of taste masking for developed chewable and orodispersible tablets in humans and rats. *Pharmaceutical Development and Technology*, 19:3, 290-295, 2014.
- ONO, N.; MIYAMOTO, Y.; ISHIGURO, T. *et al.* Reduction of bitterness of antihistaminic drugs by complexation with α -cyclodextrins. *J. Pharm. Sci.* 100, 1935–1943, 2011.
- PANDEY, S.; KUMAR, S.; PRAJAPATI, S.K.; MADHAV, N.V.S. An overview on taste physiology and masking of bitter drugs, *Int. J. Pharma Bio Sci.* 1, 1–11, 2010.
- PEIN, M.; PREIS, M.; ECKERT, K. *et al.* Taste-masking assessment of solid oral dosage forms—A critical review. *International Journal of Pharmaceutics* 465, 239–254, 2014.
- PETROVICK, G.F.; BREITKREUTZA, J.; PEIN-HACKELBUSCHA, M. Taste-masking properties of solid lipid based micropellets obtained by cold extrusion-spheronization. *International Journal of Pharmaceutics* 506:361–370, 2016.
- PREIS, M.; ECKERT, C.; HÄUSLER, O. *et al.* A comparative study on solubilizing and taste-masking capacities of hydroxypropyl-cyclodextrin and maltodextrins with high amylose content. *Sensors and Actuators B* 193: 442– 450, 2014.
- RAJESH, A.M.; BHATT, S.A.; BRAHMBHATT, H. *et al.* Taste masking of ciprofloxacin by ion-exchange resin and sustain release at gastric-intestinal through interpenetrating polymer network. *Asian journal of pharmaceutical sciences*, 10:331 e 340, 2015.
- SCHIFFMAN, S.S. Rationale for further medical and health research on high-potency sweeteners, *Chem. Senses* 37, 671–679, 2012.
- SHARMA, S.; LEWIS, S. Taste masking technologies; a review, *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 2, 6–13, 2010.
- SHARMA, V.; CHOPRA, H. Role of taste and taste masking of bitter drugs in pharmaceutical industries, *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 2:14–18, 2010.
- SHIINO, K.; IWAO, Y.; MIYAGISHIMA, A. *et al.* Optimization of a novel wax matrix system using aminoalkyl methacrylate copolymer E and ethylcellulose to suppress the bitter taste of acetaminophen. *Int. J. Pharm.* 395, 71–77, 2010.

SIEWERT, M.; DRESSMAN, J.; BROWN, C.K. *et al.* FIP/AAPS guidelines to dissolution/*in vitro* release testing of novel/special dosage forms. AAPS PharmSciTech 4, 2003.

SIVANESWARI, S.; KARTHIKEYAN, E.; VEENA, D. *et al.* Physiochemical characterization of taste masking levetiracetam ion exchange resonates in the solid state and formulation of stable liquid suspension for pediatric use. Beni-suef university, Journal of basic and applied sciences, 5:126–133, 2016.

SOHI, H., SULTANA, Y., KHAR, R.K. Taste masking technologies in oral pharmaceuticals: recent developments and approaches. Drug Dev. Ind. Pharm. 30, 429–448, 2004.

SONAWANE, V.M., SAIFI, M.; SHINDE, N.Y. *et al.* An update of taste masking methods and evaluation techniques, Der Pharmacia Lettre. 2, 1–15, 2010.

SUGIURA, T.; UCHIDA, S.; NAMIKI, N. Taste-masking effect of physical and organoleptic methods on peppermint-scented orally disintegrating tablet of famotidine based on suspension spray-coating method, Chem. Pharm. Bull. 60:315–319, 2012.

SUTHAR, A. M.; PATEL, M. M. Formulation and evaluation of taste masked suspension of metronidazole. International Journal of Applied Pharmaceutics 3 (1), 16-19, 2011.

SZEJTLI, J.; SZENTE, L. Elimination of bitter, disgusting tastes of drugs and foods by cyclodextrins, Eur. J. Pharm. Biopharm. 65, 115–125, 2006.

TIWARI, R.V.; POLK, A.N.; PATIL, H. *et al.* Rat Palatability Study for Taste Assessment of Caffeine Citrate Formulation Prepared via Hot-Melt Extrusion Technology. AAPS Pharm Sci Tech, 2015.

TOKO, K. Electronic tongue. Biosens Bioelectron.13:701–709, 1998.

TOKUYAMA, E.; MATSUNAGA, C.; YOSHIDA, K. *et al.* Famotidine orally disintegrating tablets: bitterness comparison of original and generic products. Chem Pharm Bull. 57:382–387, 2009.

UCHIDA, T.; TANIGAKE, A.; MIYANAGA, Y. *et al.* Evaluation of the bitterness of antibiotics using a taste sensor. J Pharm Pharmacol. 55:1479–1485, 2003.

VAN RIET-NALES, D.A.; KOZAREWICZ, P.; AYLWARD, B. *et al.* Paediatric Drug Development and Formulation Design – a European Perspective. AAPS Pharm Sci Tech, Vol. 18, N° 2, 2017.

WANG,Q.; FOTAKI, N.; MAO, Y. Biorelevant dissolution: methodology and application in drug development, Dissolut. Technol. 16: 6–12, 2009.

WEI, Y.; NEDLEY, M.P.; BHADURI, S.B. *et al.* Masking the bitter taste of injectable lidocaine HCl formulation for dental procedures. AAPS PharmSciTech, 16:455–465, 2015.

- WHO. World Health Organization, 2011. Development of paediatric medicines: Points to consider in pharmaceutical Development. Working document QAS/08.257/Rev.3.
- WOERTZ, K.; TISSEN, C.; KLEINEBUDE, P. *et al.* Performance qualification on an electronic tongue based on ICH guideline Q2. *J. Pharma. Biomed.*, v. 51, p. 497-506, 2010.
- WOERTZ, K.; TISSEN, C.; KLEINEBUDE, P. *et al.* Taste sensing systems (electronic tongues) for pharmaceutical applications. *Int J Pharm*, 417:256–271, 2011.
- WU, X.; ONITAKE, H.; HARAGUCHI, T. Quantitative prediction of bitterness masking effect of high-potency sweeteners using taste sensor. *Sensors and Actuators B* 235, 11–17, 2016.
- XU, J.; BOVET, L.; ZHAO, K. Taste masking microspheres for orally disintegrating tablets, *Int. J. Pharm.* 359, 63–69, 2008.