UNIVERSIDADE DE SOROCABA

PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA, EXTENSÃO E INOVAÇÃO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Plinio Miguel Arcuri

TECNOLOGIA PARA MICROENCAPSULAÇÃO E LIBERAÇÃO BUCAL DE FÁRMACOS PARA TRATAMENTO DE MUCOSITE ORAL

Sorocaba/SP

2024

Plinio Miguel Arcuri

TECNOLOGIA PARA MICROENCAPSULAÇÃO E LIBERAÇÃO BUCAL DE FÁRMACOS PARA TRATAMENTO DE MUCOSITE ORAL

Dissertação apresentada à Banca Examinadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba,como exigência parcial para obtenção do título deMestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador e Coordenador da Pesquisa:
Prof. Dr. Marco Vinícius Chaud

Sorocaba/SP

2024

Ficha Catalográfica

Arcuri, Plinio Miguel
A718t Tecnologia para microencapsulação e liberação bucal de fármacos para tratamento de mucosite oral / Plinio Miguel Arcuri. – 2024.
70 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Marco Vinicius Chaud
Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de Sorocaba, Sorocaba, SP, 2024.

1. Mucosite - Tratamento. 2. Fluidização. 3. Medicamentos – Formas farmacêuticas. 4. Medicamentos - Administração. I. Chaud, Marco Vinicius, orient. II. Universidade de Sorocaba. III. Título.

Elaborada por Regina Célia Ferreira Boaventura – CRB-8/6179.

Plinio Miguel Arcuri

TECNOLOGIA PARA MICROENCAPSULAÇÃO E LIBERAÇÃO BUCAL DE FÁRMACOS PARA TRATAMENTO DE MUCOSITE ORAL

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba.

Aprovado em: 20/05/2024

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Marco Vinicius Chaud

Universidade de Sorocaba

Prof. Dr. Daniel Komatsu

Pontifícia Universidade Católica de São Paulo – PUC

Prof. Dr. Paulo de Tarso Almeida Carvalho

Universidade de Sorocaba

Dedico este trabalho à minha esposa, Sara Ceron Hentges, cujo apoio e paciência foram fundamentais desde o início. Também dedico à minha amada filha, Giovanna Hentges Arcuri, cuja presença é minha constante inspiração para buscar a excelência.

AGRADECIMENTOS

Não há como iniciar sem agradecer a Deus pelo dom da vida, além de casar e me tornar pai durante o mestrado, tive a oportunidade de contribuir com a produção de conhecimento que trará benefícios aos que necessitam ao menos de um alento.

Agradeço à minha esposa e à minha filha pelo incentivo, apoio incondicional e suporte diário com amor mesmo diante da minha ausência devido às atividades desenvolvidas no laboratório ou até mesmo em casa atarefado com a produção deste trabalho.

Sou grato também à minha mãe, Adélia M. V. Miguel, pelo apoio e por desejar resultados positivos. Ao meu pai, Rosário Fernando A. Neto (*in memoriam*).

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Marco Vinícius Chaud, por me receber, guiar e ensinar além das ciências farmacêuticas, a quem admiro como grande exemplo de professor e orientador. Estendo o agradecimento à Coordenação do PPGCF e ao corpo docente.

À toda equipe do LaBNUS pelo companheirismo, profissionalismo e ajuda de vocês, em especial à Dra. Thais, Dra. Cecília e Dra. Kessi: tenham a certeza de terem contribuído muito com a minha formação.

Agradeço ao Prof. Dr. Daniel Komatsu (PUC-SP) pelas análises das amostras no DSC e pela contribuição cordial em meu exame de qualificação. Aproveito para agradecer também ao Prof. Me. Denicezar Angelo Baldo (Lafinau – UNISO) pela análise das amostras no MEV.

Agradeço também à UNISO e FDA pela oportunidade e concessão de taxa Prosuc-Capes/UNISO.

Certifica-te de que és um fator de soma na
vida das pessoas de quem participa.

Marco Túlio Cícero

RESUMO

INTRODUÇÃO: Partículas mucoadesivas para tratamento de doenças na cavidade oral é uma estratégia promissora, para liberação modificada de fármacos, e de crescente interesse para o tratamento da mucosite oral **OBJETIVOS:** Obter por síntese química sistemas poliméricos, auto-organizado, para encapsulação e liberação modificada de fármacos com ação anestésica, anti-inflamatória e muco-fluidificante, e aptas para incorporação em filme polimérico funcionalizados para adesão na mucosa da cavidade bucal. **MÉTODOS:** As partículas foram obtidas por técnica de fluidização descendente da dispersão aquosa de alginato de sódio 1% (AS) em uma solução de $CaCl_2$ (4%) e NaCl (0,5%) as quais foram caracterizadas por ensaios físico-químicos. Lidocaína (LID), benzidamina (BZD) e N-acetilcisteína (N-AC) foram incorporadas na dispersão de AS e solução $CaCl_2$/NaCl. As partículas foram secas em ambiente refrigerado (4-8º.C) e posteriormente funcionalizadas com quitosana (0,3%). O filme polimérico foi preparado com hidroxipropilmetilcelulose 3% (HPMC K4M), HPMC K100M (1%), agarose (1,5%), quitosana (3%) e polietilenoglicol 400 (PEG 400) em diferentes concentrações. As partículas e os filmes poliméricos foram caracterizados quanto à morfologia, adesividade, mucoadesão, propriedades mecânicas e físico-químicas. O teor dos fármacos nas partículas foi quantificado e o perfil de liberação foi realizado tanto para as partículas livres quanto para as partículas incorporadas no filme. **RESULTADOS:** As micrografias mostram partículas com superfície homogênea e tamanho na escala milimétrica. Os termogramas sugerem interação entre os fármacos e o alginato de cálcio. O potencial zeta mostrou a alteração da carga elétrica da superfície pelo recobrimento com Qt 0,3%. O teor de LID, BZD e N-AC foi de 125,29 mg, 22,43 mg e 18,94 mg e o perfil de liberação de fármacos, das partículas isoladas e adicionadas ao filme, foi de 38,7% e 35,85% (LID), 37,35% e 26,76% (BZD), 34,16% e 29,97% (N-AC) em até 24h, em FSS. **CONCLUSÃO:** A análise dos resultados mostra que o sistema desenvolvido apresentou mucoadesão e foi capaz de modificar a liberação de fármacos em resposta ao pH da cavidade bucal e, sendo assim, apropriado ao uso tópico no sítio-alvo para tratamento da mucosite oral.

Palavras-chave: Mucosite oral. Reticulação ionotrópica. Fluidização descendente. Filme polimérico mucoadesivo.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Mucoadhesive particles are a promising strategy for modified drug release for the treatment of diseases in the oral cavity, and of growing interest for the treatment of oral mucositis. **OBJECTIVES**: Obtain, through chemical synthesis, self-organized polymeric systems for encapsulation and modified release of drugs with anesthetic, anti-inflammatory and mucus-fluidifying action, and suitable for incorporation into functionalized polymeric films for adhesion to the mucosa of the oral cavity. **METHODS**: The particles were obtained using a downward fluidization technique from an aqueous dispersion of 1% sodium alginate (AS) in a solution of CaCl2 (4%) and NaCl (0.5%), which were characterized by physicochemical tests. Lidocaine (LID), benzydamine (BZD) and N-acetylcysteine (N-AC) were incorporated into the AS dispersion and CaCl2/NaCl solution. The particles were dried in a refrigerated environment (4-8ºC) and subsequently functionalized with chitosan (0.3%). The polymeric film was prepared with 3% hydroxypropylmethylcellulose (HPMC K4M), HPMC K100M (1%), agarose (1.5%), chitosan (3%) and polyethylene glycol 400 (PEG 400) in different concentrations. The polymeric particles and films were characterized regarding morphology, adhesiveness, mucoadhesion, mechanical and physicochemical properties. The drug content in the particles was quantified and the release profile was performed for both free particles and particles incorporated into the film. **RESULTS**: The micrographs show particles with a homogeneous surface and size on the millimeter scale. The thermograms suggest an interaction between the drugs and calcium alginate. The zeta potential showed the change in the electrical charge of the surface due to the coating with 0.3% Qt. The LID, BZD and N-AC content was 125,29 mg, 22,43 mg and 18,94 mg and the drug release profile of the isolated particles and added to the film was 38,7% e 35,85% (LID), 37,35% e 26,76% (BZD), 34,16% e 29,97% (N-AC) within 24 hours, in FSS. **CONCLUSION**: Analysis of the results shows that the developed system presented mucoadhesion and could modify the release of drugs in response to the pH of the oral cavity and, therefore, appropriate for topical use at the target site for the treatment of oral mucositis.

Keywords: Oral mucositis. Ionotropic crosslinking. Descending fluidization. Polymeric mucoadhesive film.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química da hidroxipropilmetilcelulose (HPMC)..... 23
Figura 2 – Estrutura química da quitosana..... 24
Figura 3 – Estrutura química do alginato de sódio..... 24
Figura 4 – Esquema ilustrativo da reticulação ionotrópica do AS em ALG-Ca devido à presença de Ca^{2+}..... 25
Figura 5 – Esquema simplificado da interação entre as cadeias poliméricas e cálcio, para ilustrar o formato da reticulação em "caixa de ovo" 25
Figura 6 – Estrutura química da agarose..... 25
Figura 7 – Estrutura monomérica do PEG 26
Figura 8 – Estrutura monomérica do PVP..... 27
Figura 9 – Estrutura molecular da lidocaína 27
Figura 10 – Estrutura molecular da BZD..... 28
Figura 11 – Estrutura molecular da N-AC. 29
Figura 12 – Representação ilustrativa do processo de fabricação de partículas de alginato reticulado em solução de $CaCl_2$ 4% adicionado de NaCl 0,5% ($CaCl_2$/NaCl). 31
Figura 13 – Representação ilustrativa do processo de fabricação de partículas contendo lidocaína, benzidamina e N-acetilcisteína..... 32
Figura 14 – Representação ilustrativa da obtenção de hidrogel de Agarose:Quitosana..... 33
Figura 15 – Ilustrações do processo de obtenção do filme mucoadesivo utilizando molde de silicone. (Painel a) moldagem do filme mucoadesivo; (Painel b) moldagem do filme mucoadesivo adicionado de partículas carregadas com os fármacos LID, BZD e N-AC. 34
Figura 16 – Representação do sistema operante para a avaliação da mucoadesão de partículas e filmes (com e sem partículas). O aparato modificado facilita o percurso do fluido salivar simulado (FSS) sobre toda a extensão da amostra, sendo posteriormente coletado em béqueres 41
Figura 17 – Resultado do processo de secagem das partículas de ALG-Ca com e sem fármacos: lidocaína (LID), benzidamina (BZD) e n-acetilcisteína (N-AC). Os resultados são a média das pesagens de 6 amostras (n=6). As letras “a” e “b” referem, respectivamente, à ausência ou não de diferença estatística entre as amostras em cada tempo de pesagem..... 42
Figura 18 – Imagens obtidas por microscopia óptica da partícula, sem fármaco, (Painel a) hidratada e (Painel b) após 15 dias de secagem (aumento de 40x). 43

Figura 19 – Micrografias obtidas por microscopia eletrônica por varredura (MEV) (Painel a) em resolução de 200x de uma partícula sem fármaco e (Painel b) com resolução de 500x mostrando detalhadamente a superfície.....43
Figura 20 – Micrografias obtidas por microscopia eletrônica por varredura (MEV) (Painel a) em resolução de 200x de uma partícula com fármaco e (Painel b) com resolução de 500x mostrando detalhadamente a superfície.....44
Figura 21 – Representação ilustrativa do contexto da mucoadesão do sistema produzido. 44
Figura 22 – Resultados das medidas de potencial zeta das partículas de alginato de cálcio (ALG-Ca) e partículas de ALG-Ca revestidas com quitosana 0,3% (Qt/ALG) (n=3). 45
Figura 23 – Termogramas obtido por DSC dos hidrogéis F-IV e F-V. 46
Figura 24 – Resultado da análise das propriedades de textura do hidrogel F-IV. Painel A mostra o gráfico gerado após o teste de tração-adesividade (n=3). O Painel B mostra o gráfico com os valores nominais para as medidas de textura extrapolados Painel A, a letra “a” refere, à ausência de diferença estatística entre as amostras analisadas.....48
Figura 25 – Ilustração gráfica do resultado da análise da força de destacamento (N) e trabalho de adesão ($N.s^{-1}$) comparando as formulações F-IV e F-IVa (n=3) para um tempo de contato de 180s. As letras “a” e “b” mostram que há diferença significativa entre as amostras analisadas.....49
Figura 26 – Ilustração gráfica comparando a adesividade dos filmes com e sem partículas (n=3). As letras “a” e “b” mostram diferença significativa entre os parâmetros analisados e “ab” não mostra diferença significativa.....49
Figura 27 – Medida de tração para amostra do filme F-IVa carregadas ou não com partículas (n=3). A letra “a” mostra que não há diferença significativa.....50
Figura 28 – Ilustração gráfica do resultado e análise estatística das amostras de filmes da formulação F-IVa com sem e com partículas (n=3). As letras “a” e “b” mostram diferença significativa 50
Figura 29 – Ilustração gráfica do resultado da análise da resistência à perfuração dos filmes obtidos da formulação F-IVa sem e com partículas distribuídas de forma homogênea (n=3). As letras “a” e “b” mostram diferença significativa 51
Figura 30 – Ilustração gráfica do resultado da análise de resiliência entre amostras de filmes obtidos da formulação F-IVa sem e com partículas (n=3). As letras “a” e “b” mostram diferença significativa.....51
Figura 31 – Intumescimento e desintegração do filme F-IVa. (* 60 min) início da modificação na estrutura do filme; (** 120 min) desintegração total do filme.....52

Figura 32 – Curva analítica da lidocaína (Painel a), benzidamina (Painel b) e n-acetilcisteína (Painel c). 53
Figura 33 – Perfil de liberação dos fármacos, nas partículas livres e das partículas contidas no filme, de lidocaína (Painel a), benzidamina (Painel b) e n-acetilcisteína (Painel c). 55
Figura 34 – Fotografia ilustrativa do teste de mucoadesão ex vivo (Painel a) das partículas secas em mucosa suína e (Painel b) ao final do teste todas as partículas permaneceram aderidas à mucosa mesmo após intumescimento. A amostra da mucosa estava aderida ao aparato e a cânula da bomba peristáltica cuidadosamente posicionada sobre a mucosa para permitir que o fluxo percorresse toda a superfície 57
Figura 35 – Fotografia ilustrativa do teste de mucoadesão ex vivo (Painel a) do filme com partículas em mucosa suína e (Painel b) ao final do teste, o filme intumescido. A amostra da mucosa estava aderida ao aparato e a cânula da bomba peristáltica cuidadosamente posicionada sobre a mucosa para permitir que o fluxo percorresse toda a superfície 58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Proporção da massa dos fármacos lidocaína (LID), benzidamina (BZD) e n-acetilcisteína (N-AC) dissolvidos na fase polimérica (AS) e salina ($CaCl_2$/NaCl). 31
Tabela 2 – Formulações preliminares utilizadas para a obtenção de filme mucoadesivo. 33
Tabela 3 – Parâmetros adotados para análise de textura do hidrogel 36
Tabela 4 – Parâmetros adotados para medida de adesividade, in vitro, dos filmes sobre disco de mucina 37
Tabela 5 – Parâmetros adotados para medida das propriedades mecânicas 38
Tabela 6 – Resultados das medidas de viscosidade das formulações de F-I a F-VI dos hidrogéis (n=3). 45
Tabela 7 – Resultados das propriedades avaliadas na textura do hidrogel F-IV (n=3). 47
Tabela 8 – Resultados da construção da curva analítica 53
Tabela 9 – Eficiência de encapsulação em comparação ao conteúdo total de fármaco adicionado 54
Tabela 10 – Teor de fármaco em 100 mg de partículas 54
Tabela 11 – Resultado de liberação de fármacos ajustado para 100 mg de partículas 55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A/MUC	Sonda de mucoadesão de gel
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AGAR	Agarose
AGAR:Qt	Hidrogel de agarose com quitosana
AINE	Anti-inflamatório não-esteroidal
ALG-Ca	Alginato de cálcio
AS	Alginato de sódio
ATR	Reflectância Total Atenuada
ASC	Área sob a curva
BZD	Benzidamina
$CaCl_2$	Cloreto de Cálcio
$CaCl_2$/NaCl	Solução de $CaCl_2$ 4% adicionada de NaCl 0,5%
CMC-Na	Carboximetilcelulose sódica
CPE	Compostos Polieletrolíticos
DSC	Calorimetria Diferencial Exploratória (*Differential Scanning Calorimetry*)
EE	Eficiência de Encapsulação
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FNT-α	Fator de necrose tumoral alfa
FN-κβ	Fator nuclear kappa-beta
FSS	Fluido salivar simulado
FTIR	Espectroscopia de infravemelho por transformada de Fourier (*Fourier-transform infrared spectroscopy*)
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose

ISOO	*International Society of Oral Oncology*
K100M	Especificação considerando viscosidade de 100.000 cP
K30	Especificação considerando viscosidade de 2,3~2,4 mPa.s
K4M	Especificação considerando viscosidade de 4.000 cP
LID	Lidocaína
LME	Lista de Medicamentos Essenciais
m/m	Proporção massa/massa
m/v	Proporção massa/volume
MASCC	*Multinational Association of Supportive Care in Cancer*
MO	Mucosite oral
N-AC	N-Acetilcisteína
NH_3^+	Amina
OH^-	Hidroxila
OMS	Organização Mundial da Saúde
PEG	Polietilenoglicol
pH	Potencial hidrogeniônico
PVP	Polivinilpirrolidona
Qt	Quitosana
Qt/ALG	Partículas de alginato de cálcio revestidas com quitosana 0,3%
TPTZ	2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina
v/v	Proporção volume/volume
λ	Comprimento de onda

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 19
2 OBJETIVO 20
2.1 Objetivos específicos 20
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 21
3.1 Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) 23
3.2 Quitosana (Qt) 24
3.3 Polímeros derivados de algas marinhas 24
3.4 Agentes plastificantes 26
3.5 Lidocaína 27
3.6 Benzidamina 27
3.7 N-Acetilcisteína 28
4 MATERIAL E MÉTODOS 30
4.1 Material 30
4.2 Preparação das partículas poliméricas 30
4.2.1 Revestimento com quitosana 31
4.2.2 Preparação das partículas contendo fármacos 31
4.3 Preparação do filme mucoadesivo 32
4.3.1 Preparação dos hidrogéis 32
4.3.2 Preparação do filme mucoadesivo 34
4.4 Avaliação morfológica das partículas obtidas por reticulação ionotrópica 34
4.4.1 Avaliação macroscópica e por microscopia óptica das partículas de alginato de cálcio/NaCl 34
4.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) 34
4.5 Caracterização físico-química 35
4.5.1 Potencial hidrogeniônico 35
4.5.2 Calorimetria exploratória diferencial 35
4.5.3 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier 35
4.5.4 Carga elétrica de superfície das partículas 35
4.6 Propriedades mecânicas dos hidrogéis e dos filmes 36
4.6.1 Medida de viscosidade dos hidrogéis 36
4.6.2 Avaliação da textura do hidrogel 36
4.6.3 Adesividade dos filmes em disco de mucina 37
4.6.4 Propriedades mecânicas dos filmes mucoadesivos 38
4.6.5 Avaliação da capacidade de intumescimento e resistência à desintegração dos filmes em meio aquoso 38

4.7 Construção da curva analítica 38
4.8 Determinação do teor de fármaco nas partículas 39
4.9 Perfil de liberação dos fármacos 39
4.10 Teste de mucoadesão *ex vivo* 40
4.11 Método de análise 41
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 42
5.1 Preparação e caracterização das partículas de alginato de cálcio 42
5.2 Avaliação morfológica das partículas 42
5.3 Caracterização do revestimento com quitosana 44
5.4 Avaliação dos hidrogéis e dos filmes mucoadesivos 45
5.4.1 Caracterização dos hidrogéis 45
5.4.2 Caracterização das propriedades dos filmes hidrogelatinosos com e sem partículas 48
5.4.3 Avaliação da capacidade de intumescimento e desintegração do filme mucoadesivo 51
5.5 Construção da curva analítica 52
5.6 Determinação do teor de fármaco nas partículas 53
5.7 Perfil de liberação dos fármacos 54
5.8 Análise da mucoadesão *ex vivo* das partículas e dos filmes sobre a mucosa dissecada de suíno 56
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS 59
7 CONCLUSÃO 60
REFERÊNCIAS 61

1 INTRODUÇÃO

O presente trabalho foi elaborado com o intuito de contribuir para o avanço científico e tecnológico de um sistema para liberação modificada de fármacos para aplicação tópica visando benefícios para profissionais e pacientes no tratamento da inflamação e dor. Especificamente, busca-se reduzir custos e melhorar a qualidade de vida de pacientes com mucosite oral, uma condição dolorosa associada à radioterapia e quimioterapia.

Atualmente, a disponibilidade de medicamentos tópicos é limitada e restringe as opções dos profissionais de saúde, levando muitas vezes à escolha de produtos que exigem doses mais frequentes. A eficácia desses tratamentos depende consideravelmente da adesão e do comprometimento dos pacientes.

Pouco se sabe, no meio odontológico, dos avanços científicos e tecnológicos a respeito dos sistemas para liberação modificada de fármacos destinados à aplicação tópica na mucosa bucal. Este trabalho oferece versatilidade na conduta terapêutica ao permitir que o sistema de liberação possa ser aplicado diretamente sobre o local de interesse, mantendo contato com o sítio-alvo por um tempo prolongado assegurando liberação modificada dos fármacos, possivelmente com dose menor, menos desconforto no uso desses sistemas e com redução do custo de tratamento para o paciente.

Esta dissertação busca ampliar conhecimento técnico e científico através do desenvolvimento de partículas mucoadesivas, a partir de biopolímeros, para transporte de fármacos para liberação modificada. As partículas são funcionalizadas para responder aos estímulos físicos e químicos presentes na cavidade bucal tais como pH e *clearance* salivar.

Este trabalho apresenta uma breve revisão bibliográfica focada na cavidade bucal e na mucosite oral, complementada por uma revisão específica dos biopolímeros empregados na preparação de partículas e filmes poliméricos, além dos fármacos utilizados para o tratamento de lesões na mucosa oral.

2 OBJETIVO

Obter por síntese química sistemas poliméricos, auto-organizado, para encapsulação e liberação modificada de fármacos com ação anestésica, anti-inflamatória e muco-fluidificante, e aptas para incorporação em filme polimérico funcionalizados para adesão na mucosa da cavidade bucal.

2.1 Objetivos específicos

Avaliar interações físicas e químicas dos fármacos com o material polimérico usado na fabricação das partículas.

Desenvolver e selecionar sistemas poliméricos auto-organizado para encapsulação e liberação temporal de multifármacos para a mucosa bucal.

Desenvolver expertise em técnica de fluidização descendente.

Funcionalizar os microcarreadores, previamente selecionados, para liberação modificada de fármacos, e para responder a estímulos físico e/ou químico comum em ambiente da cavidade bucal.

Encapsular anestésico (LID), anti-inflamatório (BZD) e muco-fluidificante e antioxidante (N-AC) em partículas poliméricas para transporte e liberação de multifármacos.

Desenvolver metodologia analítica para identificação e quantificação LID, BZD e N-AC.

Avaliar a taxa de encapsulação e o perfil de liberação, *in vitro*, da LID, BZD e N-AC.

Avaliar *in vitro* e *ex vivo* a adesividade dos filmes e micropartículas

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A cavidade bucal além de desempenhar as funções de mastigação e fonação, atua como um indicador da saúde geral ao apresentar manifestações de infecções sistêmicas, doenças autoimunes, hematológicas, endócrinas e neoplásicas. Do mesmo modo, por abranger uma microbiota altamente diversificada composta por mais de 700 microrganismos incluindo bactérias, fungos e vírus, tem o potencial de disseminar microrganismos para outros sítios distantes, especialmente em pacientes imunocomprometidos (Şenel; Özdoğan; Akca, 2021).

Devido aos danos celulares durante o tratamento de câncer na região da cabeça e do pescoço, a mucosite oral (MO) é uma comorbidade que ocorre de forma secundária à radioterapia e quimioterapia (Elad *et al.*, 2020). A MO abrange de 20 a 40% dos pacientes que estão em tratamento de câncer de cabeça e pescoço e é caracterizada pelo aparecimento de lesões eritematosas, atróficas e ulcerativas que são extremamente dolorosas e incapacitantes (Sonis, 2004; Villa; Sonis, 2016).

Tais alterações são desenvolvidas em consequência do dano ao tecido epitelial como resultado de uma série de eventos, especialmente aqueles associados ao fator nuclear Kappa-β (FN-κβ), que pode ser ativado diretamente pela quimioterapia e radioterapia ou, indiretamente pela ligação de espécies reativas de oxigênio (ERO). A ativação do FN-κβ conduz ao aumento de expressão de mais de 200 genes; os quais estão associados à produção de citocinas pró-inflamatórias, fator de necrose tumoral alfa (FNT-α), moduladores das citocinas, cicloxigenase-2, óxido nítrico sintase e superóxido dismutase (Villa; Sonis, 2015).

O curso da MO pode ser caracterizado em cinco fases: iniciação, resposta primária ao dano, sinalização e amplificação, ulceração e, por fim, a cura (Sonis, 2007). A fase de iniciação se caracteriza pelos danos causados pela radiação ou agente quimioterápico ao ácido desoxirribonucleico (ADN), geração de ERO e, consequentemente, a morte de células basais do epitélio. Os primeiros sinais surgem entre o terceiro e quarto dia após o início do tratamento quimio e/ou radioterápico, com pico de intensidade dos sintomas entre o 7° e 14° dia (Villa; Sonis, 2015). Os sintomas dolorosos dificultam a ingestão de alimentos sólidos e pastosos afetando o estado nutricional dos pacientes em tratamento. Consequentemente, a debilitação nutricional leva à interrupção do ciclo de tratamento, e busca incessante de terapêutica complementar para analgesia (Sonis, 2011).

Atualmente as diretrizes para prevenção e tratamento da MO são trazidas de forma sólida pela *Multinational Association of Supportive Care in Cancer and International Society of Oral Oncology* (MASCC/ISOO), um resumo da melhor evidência científica disponível, enquadrada num contexto clínico prático, que envolvem (a) cuidados básicos com a saúde bucal

que vão desde a conscientização e educação do paciente para ater-se à importância do cuidado com sua saúde bucal, até a intervenção profissional; (b) uso de agentes anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs); (c) crioterapia, para promover vasoconstrição superficial e reduzir a distribuição local do fármaco citotóxico; (d) uso de agentes tópicos como anestésicos, antimicrobianos, analgésicos e agentes para revestimento; (e) uso de fatores de crescimento e citocinas; (f) agentes naturais e diversos e, por fim, (g) fotobiomodulação (Elad *et al.*, 2020).

A cicatrização de feridas na cavidade bucal é um mecanismo complexo e envolve uma sequência de eventos moleculares e celulares incluindo inflamação, migração celular, angiogênese, síntese de matriz extracelular e reepitelização. O processo inflamatório é uma resposta protetora para eliminar a causa inicial da lesão e este processo termina quando o estímulo causador da lesão é removido (El-Feky *et al.*, 2018).

A administração de medicamentos de forma tópica na cavidade bucal tem ganhado importância justamente pela conveniência (especialmente quando se trata de lesões bucais) associado à facilidade de acesso para a administração local (da Silva *et al.*, 2021; Timur *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2023; Yaprak Karavana; Güneri; Ertan, 2009).

O uso de novas estratégias baseadas em polímeros para veiculação de fármacos aumenta as vantagens terapêuticas em relação aos medicamentos convencionais e proporciona o encapsulamento de compostos bioativos em sistemas microparticulados e nanoparticulados, com a possibilidade de reduzir a dose de fármaco destinado a um alvo específico, reduzindo efeitos adversos e o custo do tratamento (Alves *et al.*, 2018; Bobo *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, 2020).

De modo geral os polímeros são biodesintegráveis, biocompatíveis e podem sofrer modificações químicas para serem funcionalizados. No entanto a vantagem dos polímeros de origem natural, em relação aos polímeros sintéticos tradicionais, é devida à origem de fontes renováveis o que reduz o impacto no tratamento de resíduos e apresentam menor custo (Oliveira *et al.*, 2018).

Progressivamente tem havido um maior interesse no uso de biopolímeros principalmente pela capacidade de funcionalização visando desempenhar liberação modificada de fármacos. Os polímeros podem ser utilizados de forma isolada ou em uma combinação de dois ou mais polímeros para melhorar propriedades físico-químicas e biológicas (Oliveira *et al.*, 2020).

O uso de filmes baseado em polímeros de origem natural tem se mostrado promissor para a administração tópica de fármacos, em forma livre ou encapsulados em micro ou nanopartículas (Alves *et al.*, 2020; Kottke *et al.*, 2020; Markwalter *et al.*, 2019; Severino *et al.*,

2018; Sizílio *et al.*, 2018) bem como probióticos (Abruzzo *et al.*, 2020), peptídeos e antígenos (Morales; McConville, 2011). O filme pode ser usado como um curativo local recobrindo a ferida, atuando como uma barreira física. Além disto, o filme pode ser um veículo para transporte e liberação de fármacos sobre o sítio-alvo e, assim, contribuir para aumentar o tempo de contato dos princípios ativos, diminuir a dose, reduzir custo, eliminar a necessidade do metabolismo de primeira-passagem hepática para que os fármacos desempenhem seu papel (Yamamura *et al.*, 1998), uma vez que fármacos como a lidocaína (LID), benzidamina (BZD) e n-acetilcisteína (N-AC) apresentam eficácia quando empregados topicamente (Alquadeib; Eltahir; Alagili, 2020; Ommati *et al.*, 2021; Passali *et al.*, 2022).

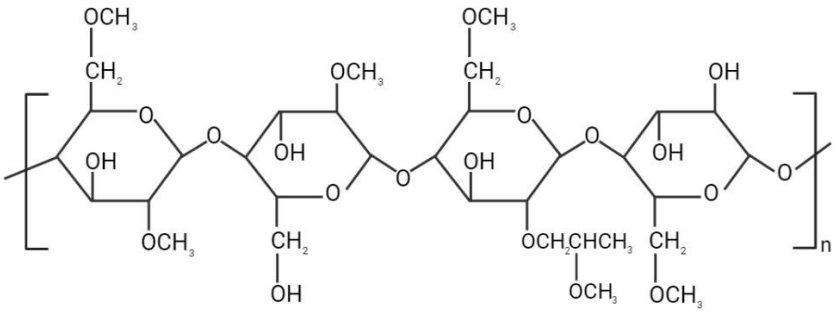
3.1 Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC)

A hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) é um composto aniônico, biocompatível, atóxico, não irritante e hidrodispersível (Sudeendra *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2022).

A HPMC também apresenta potencial para bioadesividade, através de ligações de hidrogênio entre os grupos OH^- das celuloses com as glicoproteínas da mucina (Sudeendra *et al.*, 2010).

HPMC (Figura 1) é um polissacarídeo com parte de sua estrutura química o-metilada e parte o-(2-hidroxipropilada) disponibilizado em forma de pó branco, inodoro e insípido (Guarve; Kriplani, 2021).

Figura 1 – Estrutura química da hidroxipropilmetilcelulose (HPMC).



Fonte: Elaboração própria.

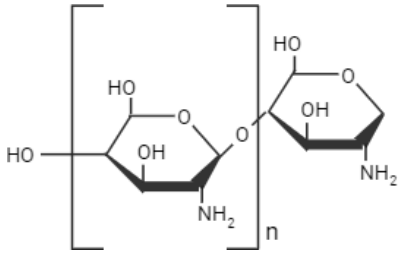
A dispersão aquosa de HPMC é estável em pH 3–11 e, concentração de 2% à temperatura de 20 °C, a HPMC K4M e HPMC K100M apresentam viscosidade de, respectivamente, 4.000 e 100.000 mPa.s (Guarve; Kriplani, 2021).

Os radicais ligados aos anéis oferecem aumento na resistência estrutural do filme, estabilidade em meios com variação de pH (El-Kamel, 2002; Zheng *et al.*, 2018) e conferem a capacidade de intumescimento e desintegração controlada (El-Kamel, 2002; Timur *et al.*, 2019).

3.2 Quitosana (Qt)

A quitosana (Qt) (Figura 2) é um polímero natural derivado da N-desacetilação da quitina (polissacarídeo presente no exoesqueleto de crustáceos e parede celular de fungos) e quanto maior o grau de desacetilação da quitina maior a biocompatibilidade da quitosana (Mukhopadhyay *et al.*, 2018). A composição química é uma série polimérica linear das unidades 2-amino-2-desoxi-D-glicopiranose (GlcN) e 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopiranose (GlcN-AC) e que estão unidas por ligações glicosídicas do tipo β-(1–4), é totalmente solúvel em meio ácido (Rocha Neto *et al.*, 2021).

Figura 2 – Estrutura química da quitosana.



Fonte: Elaboração própria.

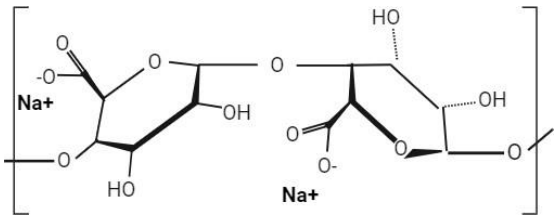
A quitosana é biodegradável, biocompatível, bioadesiva (Loureiro *et al.*, 2020) e catiônica (Beppu; Arruda; Santana, 1999), apresenta baixa toxicidade e amplo espectro de ação antibacteriano e antifúngico (Namangkalakul *et al.*, 2020) decorrente da existência de grupamentos NH_3^+ (Chung; Chen, 2008) os quais são mais evidentes quanto mais ácido for o meio em que a quitosana estiver incorporada (Rocha Neto *et al.*, 2021).

3.3 Polímeros derivados de algas marinhas

O alginato é uma forma aniônica do ácido algínico, oriundo de algas marrons (*Laminaria hyperborea, Macrocystis pyrifera* e *Ascophyllum nodosum*), abundantes na natureza e de fácil cultivo que o torna uma opção sustentável e econômica (Oliveira *et al.*, 2018).

A estrutura molecular do alginato de sódio (AS) é composta de ligações (1–4) lineares de monômeros do ácido β-D-manurônico e ácido α-L-gulurônico (Pestovsky; Martínez-Antonio, 2019), como representado na Figura 3.

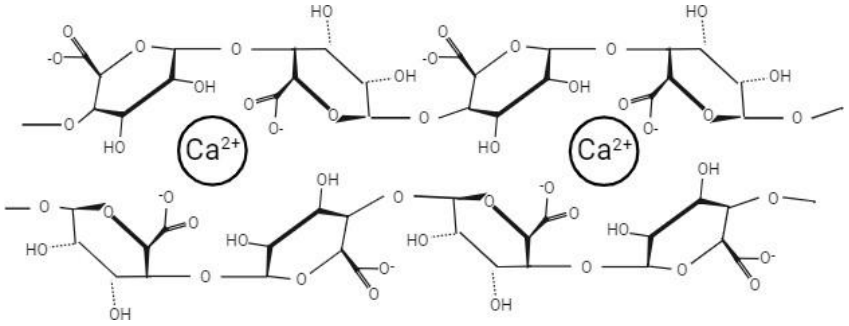
Figura 3 – Estrutura química do alginato de sódio.



Fonte: Elaboração própria.

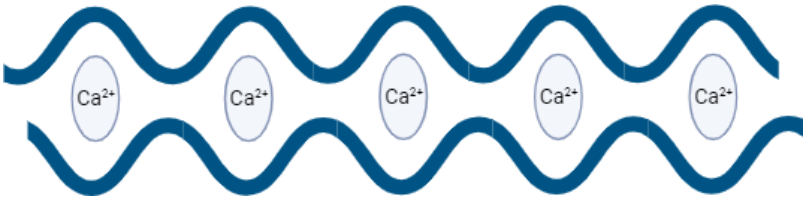
Um dos processos de reticulação do AS é por substituição iônica do íon sódio (mais hidrodispersível) por um íon bivalente (Ca^{++}) ou trivalente (Al^{+++}), com consequente formação de um retículo menos hidrodispersível em água. A conformação reticular do ALG-Ca é descrita à semelhança de uma caixa de ovos (Figuras 4 e 5) (Pestovsky; Martínez-Antonio, 2019; Popa; Reis; Gomes, 2015)

Figura 4 – Esquema ilustrativo da reticulação ionotrópica do AS em ALG-Ca devido à presença de Ca^{2+}.



Fonte: Elaboração própria.

Figura 5 – Esquema simplificado da interação entre as cadeias poliméricas e cálcio, para ilustrar o formato da reticulação em "caixa de ovo".

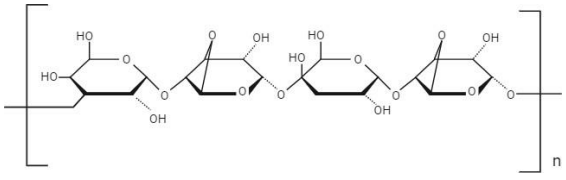


Fonte: Elaboração própria.

De fácil manuseio, seguro, biocompatível, com baixo índice de efeitos colaterais e possui potencial de desintegrabilidade e bioabsorção (Diniz *et al.*, 2020), tem efeito cicatrizante (Abourehab *et al.*, 2022) e tem servido para fabricação de sistemas micro e nanoestruturados para transporte e liberação de fármacos (Pestovsky; Martínez-Antonio, 2019), bem como para funcionalização com objetivos de liberação modificada e alvo-específico (Abourehab *et al.*, 2022; Oliveira *et al.*, 2018).

Agarose (AGAR) é um polissacarídeo derivado das algas vermelhas (*Rhodophyaceae*), constituído de 3,6-anidro-L-galactopiranose e D-galactose (Rastogi; Kandasubramanian, 2019) com estrutura química ilustrada na Figura 6.

Figura 6 – Estrutura química da agarose.



Fonte: Elaboração própria.

A AGAR já foi considerada o segundo polímero, derivado de algas marinhas, mais utilizado em estudos *in vitro* (Popa; Reis; Gomes, 2015) e sua utilização em formulações formadoras de filmes tem sido motivo de destaque (Chung; Chen, 2008; Jillani *et al.*, 2022; Namangkalakul *et al.*, 2020) pois a reticulação da AGAR beneficia a formação do o hidrogel através do aumento da resistência estrutural quando polimerizado (San Martin *et al.*, 2011). Entre os polissacarídeos gelificantes este é o mais poderoso quando apresenta alto teor de AGAR não substituída (Usov, 2011) e o processo de formação do gel é termo dependente (acima de 88 °C) (Vasiliu *et al.*, 2018).

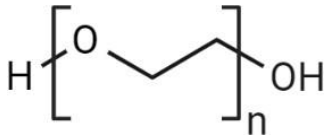
3.4 Agentes plastificantes

Agente plastificante é um excipiente importante e versátil nas formulações farmacêuticas promovendo aumento da flexibilidade do filme. A seleção do agente plastificante depende da sua compatibilidade com os demais excipientes, com o fármaco e com o tipo de solvente utilizado na formulação (Mishra; Pathak, 2017).

O tipo e a concentração do plastificante influenciam na espessura do filme, densidade, teor de umidade, solubilidade, capacidade de intumescimento e absorção de água. Quanto maior a concentração do plastificante maior a capacidade de absorção de água dos filmes, aumentando a espessura do filme, o teor de umidade e a solubilidade (Sanyang *et al.*, 2016).

O polietilenoglicol (PEG), polímero formado por unidades repetidas de etilenoglicol (Figura 7), é plastificante, umectante e controlador de viscosidade, apresentando toxicidade bastante baixa e é quimicamente inerte (Rauschkolb, 2018).

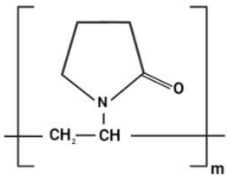
Figura 7 – Estrutura monomérica do PEG.



Fonte: Elaboração própria.

Outro agente plastificante é o poli(vinil pirrolidona) (PVP), derivado do polímero vinílico. O grupo pirrolidona no PVP é um forte grupo carbonila que aceita prótons e pode facilmente formar complexos com outros polímeros. Assim, o PVP pode aumentar a hidrossolubilidade e biodesintegrabilidade (Pushp *et al.*, 2021). A estrutura química do PVP pode ser vista na Figura 8.

Figura 8 – Estrutura monomérica do PVP.

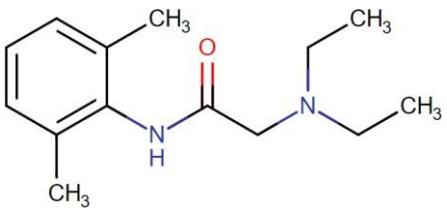


Fonte: Elaboração própria.

3.5 Lidocaína

A lidocaína (LID) (Figura 9) é um anestésico local que foi descoberta e comercializada no final dos anos 1940. Disponível na forma de sal (cloridrato) é, atualmente, utilizada em uma ampla variedade de procedimentos tanto superficiais como invasivos (Kottke *et al.*, 2020; Suo *et al.*, 2020).

Figura 9 – Estrutura molecular da lidocaína.



Fonte: Elaboração própria.

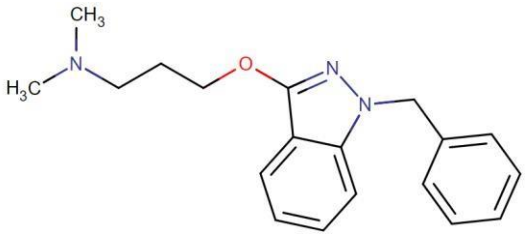
Atualmente recebe milhões de prescrições internacionais/ano e faz parte tanto da Lista de Medicamentos Essenciais da Organização Mundial de Saúde, LME-OMS (Organização Mundial da Saúde, 2023) quanto da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais - Rename (Ministério da Saúde, 2022).

Indicada por promover a anestesia local em uma grande variedade de procedimentos cirúrgicos (Landau; Achilladelis; Scriabine, 1999) pode ser administrada de forma injetável ou tópica (Alquadeib; Eltahir; Alagili, 2020). A atividade entorpecente ocorre decorrente do bloqueio dos canais de sódio, de modo que os neurônios dos tecidos locais são temporariamente incapazes de sinalizar o estímulo ao cérebro (Hines *et al.*, 2002) e pode bloquear ou diminuir a contração muscular, resultando em efeitos como vasodilatação no local administrado (Thomson *et al.*, 1973).

3.6 Benzidamina

Benzidamina (BZD) (Figura 10) é um anti-inflamatório não-esteroidal (AINEs) que dispõe de ação anestésica e analgésica local (Passali *et al.*, 2022), antibacteriana (Quane; Graham; Ziegler, 1998) além de apresentar potencial antioxidante (Sonis, 2004).

Figura 10 – Estrutura molecular da BZD.



Fonte: Elaboração própria.

Diferente de outros AINEs a BZD é uma base fraca portanto dispõe de propriedades biofarmacêuticas que a difere dos anti-inflamatórios esteroidais, que são ácidos e agressivos para mucosas (Baldock *et al.*, 1991). O uso tópico da BZD tem sido destinado ao alívio da dor como tratamento dos processos inflamatórios da boca, garganta ou, também, do sistema músculo-esquelético (Lisciani; Barcellona; Silvestrini, 1968; Passali *et al.*, 2022; Quane; Graham; Ziegler, 1998).

Em sua forma ionizada apresenta boa capacidade de difusão nas células após uso tópico oral, acumulando-se em tecidos inflamados (Lisciani; Barcellona; Silvestrini, 1968), reduz a vasodilatação e permeabilidade vascular induzida pelo processo inflamatório, age na estabilização de membranas reduzindo síntese de fatores pró-inflamatórios no local e conferindo ação anestésica (Quane; Graham; Ziegler, 1998).

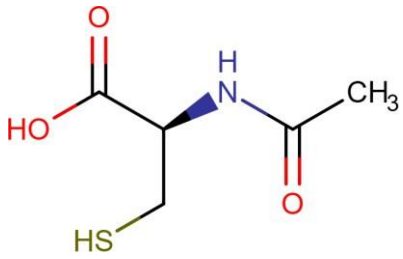
A benzidamina inibe a produção de citocinas como o FNT-α, também mostrando atividade antiapoptótica (Villa; Sonis, 2015). Devido a estes benefícios a BZD foi introduzida nas diretrizes de prática clínica, da MASCC/ISOO, para o manejo da MO (Elad *et al.*, 2020).

3.7 N-Acetilcisteína

O estresse oxidativo é uma situação em que o aumento da produção de ERO altera o metabolismo celular com consequente degradação das estruturas celulares resultando em danos e disfunção de membrana mucosa, sendo um fator agravante da MO (Carda *et al.*, 2006).

A N-acetilcisteína (N-AC) (Figura 11), também conhecida por L-α-acetamido-β-ácido mercaptopropiônico, apresenta-se como um pó cristalino branco de leve odor acético e hidrossolúvel (Suarez, 2005), apresenta alta capacidade antioxidante (Alves *et al.*, 2018, 2020; Suarez, 2005; Zielińska *et al.*, 2020) com capacidade de afetar o fator nuclear Kappa-β (Villa; Sonis, 2015) e apresenta baixa toxicidade sistêmica (Suarez, 2005).

Figura 11 – Estrutura molecular da N-AC.



Fonte: Elaboração própria.

Apesar da principal indicação de uso da N-AC ser como agente mucolítico (De Flora; Cesarone; Izzotti, 2000) devido ao fato de ser precursora da glutationa, um dos mais importantes antioxidantes intracelulares, auxilia desta forma na prevenção do estresse oxidativo (Lasram *et al.*, 2015; Ommati *et al.*, 2021), apresentando aplicabilidade na prevenção da mucosite oral (Sonis, 2007).

O uso da N-AC também se estende ao tratamento para intoxicação pelo paracetamol (Smilkenstein *et al.*, 1988) fazendo parte da classe de "antídoto e outros agentes utilizados em envenenamento" da LME-OMS (Organização Mundial da Saúde, 2023) além de ser quelante de metais e possuir ação anti-inflamatória (Pei *et al.*, 2018).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

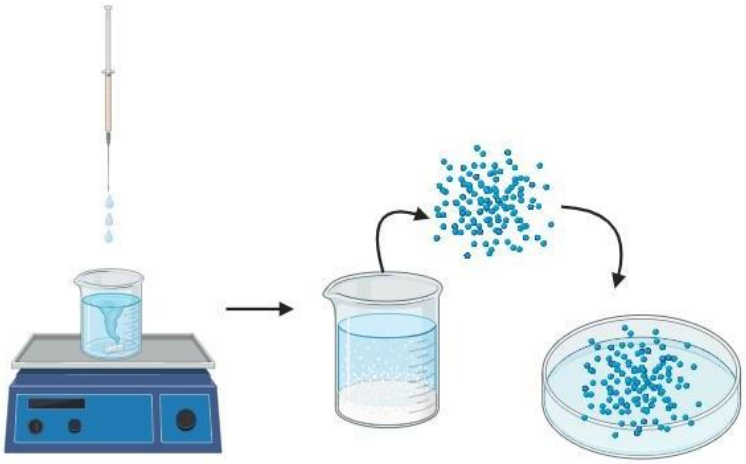
Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) K4M e K100M (Methocel K4M® e Methocel K100M®) foram doadas pela Colorcon (Cotia, São Paulo, Brasil). Quitosana (Qt) de baixa massa molar (50,000–190,000 Da) com grau de desacetilação entre 75 e 95% foi comprada da Sigma-Aldrich Merck (St. Louis, MO, EUA). Agarose (AGAR) foi comprada da Fagron (São Paulo, São Paulo, Brasil). Alginato de sódio (AS) de média viscosidade foi adquirido da Sigma Aldrich–Merck (St. Louis, MO, EUA). Cloridrato de lidocaína (LID), cloridrato de benzidamina (BZD) e N-acetilcisteína (N-AC) foram adquiridos da Sigma-Aldrich Merck (St. Louis, MO, EUA). Mucina tipo III de estômago suíno (ácido siálico 0,5–1,5%) foi comprada da Sigma Aldrich–Merck (St. Louis, MO, EUA). Polivinilpirrolidona (PVP-K30) foi comprada da Sigma Aldrich–Merck (St. Louis, MO, EUA). Polietilenoglicol (PEG-400) foi comprado da Synth (Diadema, SP, Brasil). Os demais reagentes eram de grau farmacêutico.

4.2 Preparação das partículas poliméricas

O processo de obtenção das partículas foi baseado no conceito de reticulação ionotrópica e na técnica e fluidização descendente (0,25 mm, 31G). A dispersão aquosa de AS de média viscosidade 1% foi gotejada na solução de $CaCl_2$ (4%) adicionada de NaCl (0,5%), como previamente reportado (Gåserød; Smidsrød; Skjåk-Bræk, 1998; Pestovsky; Martínez-Antonio, 2019; Wan *et al.*, 2022). Neste estudo, o gotejamento foi realizado usando seringas hipodérmicas acopladas com agulhas (0,25 mm, 31G).

Resumidamente, o AS foi disperso em solução aquosa tamponada (pH 7,2), previamente aquecida, e mantido sob agitação controlada até completa homogeneização e formação de uma dispersão coloidal, a qual foi armazenada em frascos de vidro transparente e mantida em ambiente refrigerado (4 – 8 °C) até completa eliminação das bolhas de ar. A solução de $CaCl_2$ (4%) adicionada de NaCl (0,5%) foi preparada em meio aquoso. O hidrogel de AS (1%) foi fluidizado, gota a gota, para a solução aquosa $CaCl_2$/NaCl a qual era mantida sob agitação suave. Durante o processo de fluidização descendente do hidrogel, a seringa era posicionada verticalmente à solução de $CaCl_2$/NaCl para evitar variação no volume das gotas fluidizadas. As partículas formadas foram separadas, lavadas com água purificada e depositadas sobre papel filtro, os quais foram acondicionados em placas de vidro para secagem em ambiente refrigerado (4 – 8 °C). O processo de reticulação ionotrópica é ilustrado na Figura 12.

Figura 12 – Representação ilustrativa do processo de fabricação de partículas de alginato reticulado em solução de $CaCl_2$ 4% adicionado de NaCl 0,5% ($CaCl_2$/NaCl).



Fonte: Elaboração própria.

4.2.1 Revestimento com quitosana

Uma fração das partículas foram ressuspendidas em solução de Qt (0,3% m/v) obtida em meio ácido (ácido acético 1,5% v/v). Para avaliar o recobrimento das partículas o potencial zeta foi medido antes e após o revestimento.

4.2.2 Preparação das partículas contendo fármacos

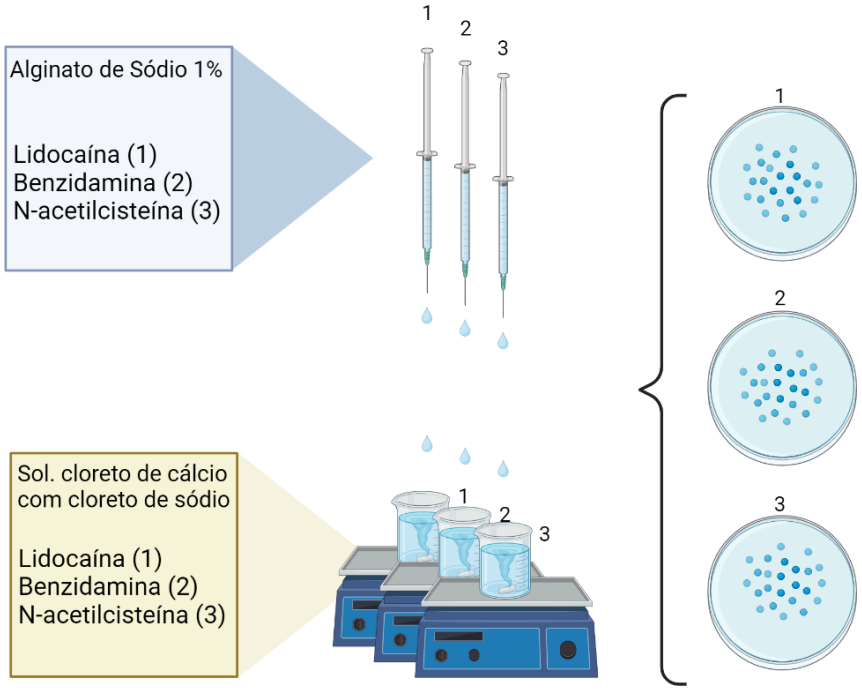
LID, BZD e N-AC foram incorporadas ao processo de fabricação (Figura 13). A massa de cada fármaco foi estipulada com base na massa de polímeros e ação terapêutica esperada. LID, BZD e N-AC foram, respectivamente, pesadas na proporção 50 mg/g (Beecham; Nessel; Goyal, 2022; Mekhemar *et al.*, 2016), 10 mg/g (Lisciani; Barcellona; Silvestrini, 1968) e 4 mg/g (Eghtedari *et al.*, 2022) em relação à massa de AS e ao volume do meio de reação ($CaCl_2$/NaCl). Para preparação das partículas a massa de cada fármaco foi dividida entre a fase AS e a solução de $CaCl_2$/NaCl (Tabela 1).

Tabela 1 – Proporção da massa dos fármacos lidocaína (LID), benzidamina (BZD) e n-acetilcisteína (N-AC) dissolvidos na fase polimérica (AS) e salina ($CaCl_2$/NaCl).

	AS 1%	**$CaCl_2$/NaCl (4,0 % / 0,5%)**
LID	35 mg/g	15 mg/g
BZD	5 mg/g	5 mg/g
N-AC	2 mg/g	2 mg/g

Fonte: Elaboração própria.

Figura 13 – Representação ilustrativa do processo de fabricação de partículas contendo lidocaína, benzidamina e N-acetilcisteína.



Fonte: Elaboração própria.

4.3 Preparação do filme mucoadesivo

Os polímeros utilizados para a obtenção do hidrogel e posterior preparação do filme foram: HPMC K4M, HPMC K100M, Qt de baixa massa molar com grau de desacetilação > 85%, AGAR, PEG-400 e PVP-K30.

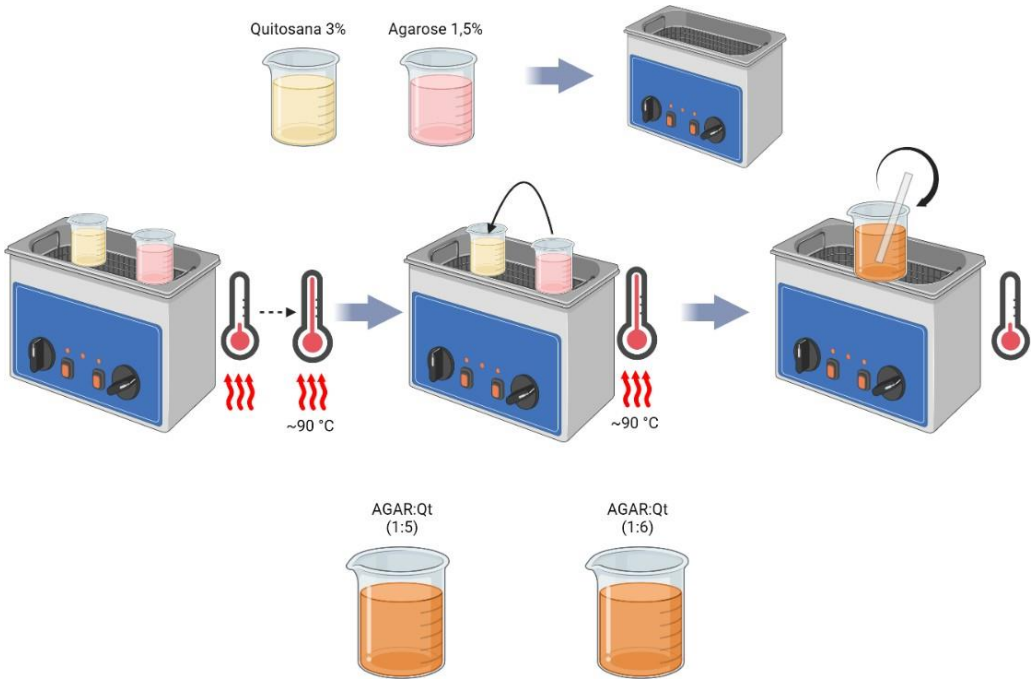
4.3.1 Preparação dos hidrogéis

Para obter os hidrogéis, dispersões aquosas de HPMC K4M (3% m/v) e HPMC K100M (1% m/v) foi adicionada para água ultrapura. Para homogeneização dos polímeros na água, cada polímero foi previamente hidratado e mantidos sob agitação (5.500 rpm / 30 min). A solução de AGAR (1,5% m/v) foi obtida por dispersão em água ultrapura. O hidrogel de PVP-K30 a 20% foi obtido pela adição em água ultrapura e agitação vigorosa durante 30 min. Os hidrogéis foram mantidos em ambiente refrigerado (4–8 °C) até a saída das microbolhas de ar. A Qt foi dispersa em solução de ácido acético 1,5% (v/v) e mantida sob agitação durante 24h obtendo-se o hidrogel de Qt (3% m/v) tendo sido armazenada em ambiente refrigerado (4–8 °C).

Para obter o hidrogel de AGAR com Qt (AGAR:Qt) a dispersão de AGAR (1,5% m/v) foi gelificada em banho térmico (~90 °C). Posteriormente, foi adicionada ao hidrogel Qt (3%) sob mesma temperatura. As dispersões foram agitadas manualmente até completa homogeneização e mantida em ambiente refrigerado (4–8 °C) (Figura 14). As dispersões

aquosas de AGAR e Qt foram misturadas nas proporções de 1:5 e 1:6, homogeneizadas e armazenadas sob refrigeração (4–8 °C).

Figura 14 – Representação ilustrativa da obtenção de hidrogel de Agarose:Quitosana.



Fonte: Elaboração própria.

A proporção dos hidrogéis foi adaptada da formulação descrita por Alves *et al.* 2020. O hidrogel para preparação dos filmes foi composto de HPMC K4M (66,66%) e K100M (6,66%) e AGAR:Qt (26,68%). A partir desta composição de polímeros, seis diferentes formulações foram preparadas e identificadas "F-I" a "F-VI" (Tabela 2). A adição da massa dos agentes plastificantes PVP-K30 e PEG-400 ocorreu em proporção correspondente à massa da mistura dos hidrogéis.

Tabela 2 – Formulações preliminares utilizadas para a obtenção de filme mucoadesivo.

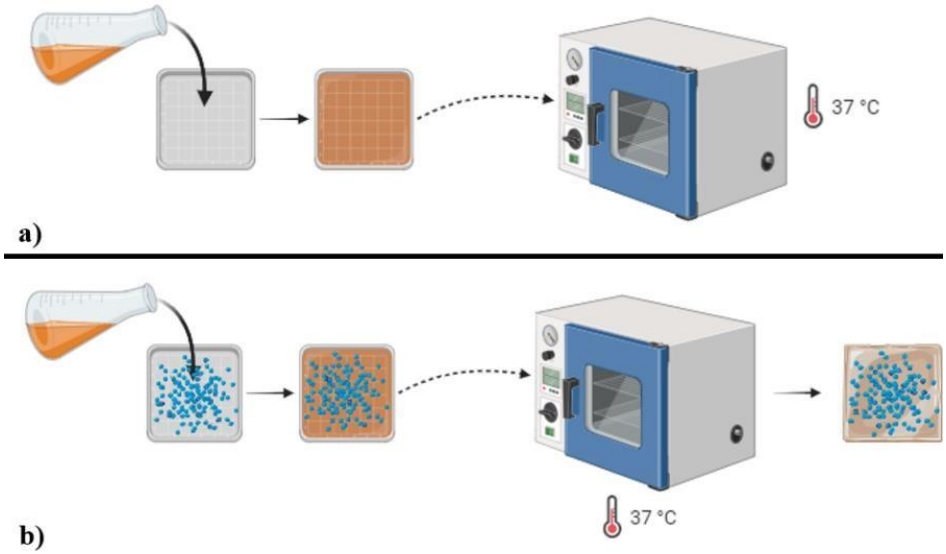
FORM.	HPMC K4M (g)	HPMC K100M (g)	AGAR:Qt (g)	PEG-400 (%)	PVP K30 (%)
F-I	75	7,5	30 (1:5)	2	**x**
F-II	75	7,5	30 (1:5)	1,5	**x**
F-III	75	7,5	30 (1:5)	1	**x**
F-IV	75	7,5	30 (1:6)	1,5	**x**
F-V	75	7,5	30 (1:6)	1	**x**
F-VI	75	7,5	30 (1:6)	**x**	3,82

Legenda: FORM. (formulação dos hidrogéis); HPMC K4M (3%) e K100M (1%); AGAR:Qt; PEG (polietilenoglicol); PVP K30 (polivinilpirrolidona K30). Fonte: Elaboração própria.

4.3.2 Preparação do filme mucoadesivo

Resumidamente, tanto os filmes com e sem a incorporação das partículas foram preparados utilizando molde de silicone (Figura 15, Painéis a e b). A secagem foi sob calor seco (estufa a 37 ± 1 °C) até massa constante. Os filmes foram armazenados em temperatura ambiente ao abrigo da umidade (Dhanikula; Panchagnula, 2004).

Figura 15 – Ilustrações do processo de obtenção do filme mucoadesivo utilizando molde de silicone. (Painel a) moldagem do filme mucoadesivo; (Painel b) moldagem do filme mucoadesivo adicionado de partículas carregadas com os fármacos LID, BZD e N-AC.



Fonte: Elaboração própria.

4.4 Avaliação morfológica das partículas obtidas por reticulação ionotrópica

4.4.1 Avaliação macroscópica e por microscopia óptica das partículas de alginato de cálcio/NaCl

As características macroscópicas das partículas recém preparadas e das partículas secas foram registradas para comparação com as partículas carreadas com LID, BZD ou N-AC. A microscopia óptica com ocular 10x e objetiva 40x (Microscópio óptico Alpha phot-2-YS2. Nikon. Tóquio, Japão) foi realizada imediatamente após a síntese das partículas de ALG-Ca e após a secagem das mesmas. O controle da secagem das partículas foi realizado por gravimetria. As partículas foram consideradas secas após três medidas consecutivas do peso com intervalos de 24h.

4.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Uma amostra de partículas sem fármaco e com fármaco foram dispostas em fita adesiva de carbono dupla face afixada sobre um *stub* de alumínio. O suporte foi recoberto com uma fina camada de ouro (Metalizador DII-29010SCTR Smart Coater, JEOL, Tóquio, Japão). A corrente

foi ajustada para 3 mA durante 2 min com intuito de obter um filme de recobrimento com espessura ~92 Å. Sob atmosfera de gás argônio as amostras foram examinadas por microscopia eletrônica de varredura (JSM-IT200, JEOL, Tóquio, Japão), capturadas aleatoriamente e digitalizadas. Para a análise da amostra foi utilizada tensão de aceleração igual 15 kV, conforme protocolo estabelecido no LaFINAU – UNISO. A morfologia das partículas foi analisada com resolução de 200X e 500X.

4.5 Caracterização físico-química

4.5.1 Potencial hidrogeniônico

O potencial hidrogeniônico (pH) das formulações foi determinado para avaliar a biocompatibilidade com a cavidade bucal e com o processo inflamatório da mucosa. O peagômetro (Tecnal – TEC 5, Tecnal Equip. Laboratórios, Piracicaba, Brasil) foi calibrado de acordo com especificações do fabricante para medidas na temperatura ambiente (25 °C) (Brasil, 2004).

4.5.2 Calorimetria exploratória diferencial

Calorimetria exploratória diferencial (*Diferential Scanning Calorimetry* – DSC) é uma técnica de análise térmica que mede a variação da quantidade de calor que um material absorve ou libera em relação à temperatura. Esta técnica foi utilizada para investigar a estabilidade térmica e química das matérias primas utilizadas na fabricação dos hidrogéis, dos fármacos, das partículas livres e carregadas com fármacos, bem como dos filmes (F-IV e F-V). As variações térmicas tais como transição vítrea (Tg), ponto de fusão (P_f) e entalpia (ΔH) também foram observados. Amostras de 2 mg foram colocadas em cadinhos de alumínio e hermeticamente fechadas. O cadinho foi aquecido sob fluxo de nitrogênio na taxa de 30 $mL.min^{-1}$. As amostras foram aquecidas de 25 a 300 °C numa taxa constante de 5 $°C.min^{-1}$ no TA-60 (Shimadzu, Kyoto, Japão).

4.5.3 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

As análises por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram para os hidrogéis e filmes das formulações F-IV e F-V. Os espectrogramas foram obtidos no aparelho IRAffinity-1 (Shimadzu, Kyoto, Japão) no modo Reflectância Total Atenuada (ATR) na faixa de número de onda entre 4000 e 600 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} e média de 64 escaneamentos. Os resultados foram utilizados para identificação de possíveis interações químicas nas misturas e formulações (F-IV e F-V).

4.5.4 Carga elétrica de superfície das partículas

A determinação da carga elétrica da superfície das partículas (potencial zeta) foi determinada por microeletroforese. Esta técnica emprega o espalhamento de luz por análise de

fase (PALS) para determinação da carga elétrica da superfície de partículas (El-Refaie *et al.*, 2015). O potencial zeta foi medido no Zetasizer Nano ZS90 (BrookHaven – NanoBrook-90 Plus, Nova Iorque, Estados Unidos) em meio à dispersão em água ultrapura (18mOs) e a leitura foi realizada em células eletroforética. A análise foi conduzida a temperatura ambiente (25°C) e os resultados são a média de três leituras.

4.6 Propriedades mecânicas dos hidrogéis e dos filmes

4.6.1 Medida de viscosidade dos hidrogéis

Através do estudo da viscosidade foi possível obter informações relevantes das propriedades de escoamento e deformação dos materiais. A viscosidade mede a resistência interna do material oferecida ao movimento relativo das diferentes partes do líquido. A compreensão e controle dessas propriedades foram necessários para obter formulações adequadas à finalidade proposta (Çengel; Cimbala, 2021). A análise da viscosidade dos hidrogéis foi feita em viscosímetro Brookfield DVI Prime (Brookhaven, Massachusetts, Estados Unidos) tanto nas amostras de hidrogéis individuais como nas amostras de hidrogéis finais (mistura). Os testes foram conduzidos sob temperatura de 37 ± 0,1 °C em banho termostatizado (TC-550, Brookfield, São Paulo, Brasil). As medições de viscosidade e torque foram obtidas utilizando o *spindle* SC-28, para todas as amostras. A velocidade foi previamente selecionada para medir erro relativo abaixo de 10% e torque próximo a 100%.

4.6.2 Avaliação da textura do hidrogel

As avaliações de textura do hidrogel F-IV foram conduzidas no texturômetro TA-XT*plus* (Stable Micro Systems, Vienna Court, Lammas Road Godalming, Surrey GU7 1YL, Reino Unido) e configuradas para o modo de compressão. Os parâmetros para configuração do equipamento e testes das amostras são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Parâmetros adotados para análise de textura do hidrogel (adesividade, coesividade, dureza e compressibilidade).

Modo de teste	**Compressão**	
Pré-teste	0,5	mm/s
Teste	0,5	mm/s
Pós-teste	0,5	mm/s
Modo alvo	Deformação	
Deformação	5	%
Tipo de gatilho	Auto (força)	
Força gatilho	2,0	g

Fonte: Elaboração própria.

As amostras (n=3) de hidrogel foram então depositadas em béqueres de vidro de mesma capacidade. A sonda de mucoadesão de gel (A/MUC) foi acoplada ao Texturômetro para compressão no sentido apical-basal até que uma deformação de 5% do hidrogel fosse alcançada. Durante esse processo, foram registrados os dados relacionados à dureza e compressibilidade. Em seguida, a sonda foi deslocada no sentido inverso (basal-apical), permitindo a obtenção das informações sobre coesividade e adesividade.

4.6.3 Adesividade dos filmes em disco de mucina

A capacidade mucoadesiva *in vitro* foi avaliada pela força necessária para destacar o disco de mucina da superfície dos filmes. Os primeiros testes foram feitos com os filmes de F-I a F-VI recortados na dimensão de 1,5 cm^2. Os discos de mucina de estômago de porco (Tipo III) com 8 mm de diâmetro foram preparados por compressão (Lemaq, Máquina compressora rotativa, Mini Express LM-D8, Diadema, BR). Para o teste, um disco de mucina foi primeiramente hidratado, por imersão em água (60s). O disco hidratado foi fixado na extremidade livre da sonda A/MUC utilizando fita de dupla-face. A sonda foi mantida em contato com o filme por um período de 90s e 180s. Após este tempo o deslocamento da sonda deu-se no sentido basal-apical para medir a força de destacamento (τ) do disco de mucina da superfície do filme. A relação entre a força (N) e o tempo (s) para destacamento determinou a adesividade do filme ao disco de mucina. O quociente entre a energia transferida para o sistema (filme/disco de mucina), e a aplicação de uma força ao longo do deslocamento da sonda, determinou o grau de adesividade entre as duas superfícies (força de destacamento). O teste de adesividade sobre discos de mucina foi realizado no texturômetro TA-XT*plus* (Analisador de Textura Stable Micro Systems, Vienna Court, Lammas Road Godalming, Surrey GU7 1YL, Reino Unido). Todos os testes foram realizados em triplicatas. Os parâmetros adotados para este teste são descritos na Tabela 4.

Tabela 4 – Parâmetros adotados para medida de adesividade, *in vitro*, dos filmes sobre disco de mucina.

Modo de teste	**Tensão**	
Pré-teste	1,00	mm/s
Teste	0,5	mm/s
Pós-teste	3,00	mm/s
Força aplicada	0,049	N
Distância de retorno	5,0	mm
Tempo de contato	* / **	s
Força de gatilho	0,029	N

Legenda: (*) contato pré-teste de 90s; (**) contato pré-teste de 180s. Fonte: Elaboração própria.

4.6.4 Propriedades mecânicas dos filmes mucoadesivos

A medida de resistência à tração, perfuração e resiliência dos filmes (F-I a F-VI), bem como a determinação do módulo de elasticidade (módulo de Young), foram conduzidas no texturômetro TA-XT*plus* (Analisador de Textura- Stable Micro Systems, Vienna Court, Lammas Road Godalming, Surrey GU7 1YL, Reino Unido). As amostras foram testadas em triplicata. Os parâmetros dos testes são descritos na Tabela 5.

Tabela 5 – Parâmetros adotados para medida das propriedades mecânicas.

Parâmetros	Tração	Perfuração	Resiliência	Módulo de Young
Aparato	Mini-presilhas. Part. Código. A/MTG Lote n° 13101	Suporte do Filme Part. Código HDP/FSR Lote n° 13085	Suporte do Filme Part. Código HDP/FSR Lote n° 13085	Suporte do Filme Part. Código HDP/FSR Lote n° 13085
Modo de teste	Tensão	Compressão	Compressão	Compressão
Pré-teste	1 mm/s	2 mm/s	2 mm/s	2 mm/s
Teste	1 mm/s	1 mm/s	1 mm/s	1 mm/s
Pós-teste	10 mm/s	10 mm/s	10 mm/s	10 mm/s
Modo alvo	Distância	Distância	Deformação	Deformação
Distância / Deformação	20 mm	10 mm	10%	2%
Tipo de gatilho	Auto	Auto	Auto	Auto
Força de gatilho	5g (0,049 N)	5g (0,049 N)	5g (0,049 N)	5g (0,049 N)

Fonte: Elaboração própria.

4.6.5 Avaliação da capacidade de intumescimento e resistência à desintegração dos filmes em meio aquoso

Para triagem filmes F-I a F-VI, foram imersos em água ultrapura. A taxa de intumescimento e desintegração foi medida por gravimetria em tempos previamente estabelecidos. A seleção dos filmes foi baseada na avaliação do comportamento macroestrutural (capacidade de intumescimento até a desintegração). A partir deste resultado o filme F-IV foi selecionado para teste em fluido salivar simulado (FSS) adicionado de agente espessante para mimetizar a viscosidade e o pH salivar (Porto; Almeida, 2013). Os testes foram feitos em triplicatas.

4.7 Construção da curva analítica

Para determinar o pico máximo de absorbância uma solução de cada fármaco (LID: 1 $mg.mL^{-1}$; BZD: 1 $mg.mL^{-1}$; N-AC: 1632 $\mu g.mL^{-1}$) foi preparada em água ultrapura. O comprimento de onda (λ) específico de cada fármaco foi determinado por varredura espectrofotométrica UV-Vis entre os comprimentos de onda de 190–800nm (FEMTO - 880 XI,

São Paulo, Brasil). Para a medida da absorbância da N-AC foi realizada uma reação cromogênica de TPTZ (2,4,6-tri[2-piridil]-s-triazina) 10mM e cloreto férrico ($FeCl3_3$) 10mM em meio ácido tamponado (pH 3,6) (Kukoc-Modun; Radić, 2011). A construção da curva analítica, com 5 pontos de concentração, para LID foi realizada entre 50 $\mu g.mL^{-1}$ – 500 $\mu g.mL^{-1}$; para a BZD entre 5 $\mu g.mL^{-1}$ – 50 $\mu g.mL^{-1}$; para N-AC entre 32,64 $\mu g.mL^{-1}$ – 195,84 $\mu g.mL^{-1}$. Cada concentração foi preparada em triplicata. O coeficiente de correlação linear (r) e a equação da reta foram determinados a partir da média dos resultados para cada ponto de concentração.

4.8 Determinação do teor de fármaco nas partículas

O conteúdo dos fármacos nas partículas foi medido de forma indireta usando espectrofotometria UV-vis. As amostras da dispersão de AS e da solução de $CaCl_2$/NaCl foram analisadas antes e depois da formação das partículas, nos comprimentos de onda de máxima absorbância determinado previamente. Os resultados do teor de fármaco foram obtidos utilizando a equação da reta. O teor foi calculado subtraindo a massa inicial (concentração teórica) da massa de fármaco obtida após a reticulação ionotrópica. A eficiência de encapsulação (EE) dos fármacos nas partículas foi calculada pela Equação 1:

$$EE\% = \frac{M_{total} - M_R}{M_{total}} . 100$$

M_{total} é a massa total do fármaco adicionado à dispersão de AS e à solução de $CaCl_2$/NaCl. O valor de M_R corresponde à massa não encapsulada (Dima *et al.*, 2016; Valencia-Sullca *et al.*, 2024).

4.9 Perfil de liberação dos fármacos

O perfil de liberação dos fármacos das partículas livres e das partículas incorporadas nos filmes foi determinado usando técnica de diálise com membranas sintéticas e *cut-off* 14.000Da. As membranas foram recortadas para uma área de superfície previamente determinadas. Uma das extremidades da membrana foi fechada com fio de náilon e preenchida com as amostras e 5 mL de FSS. A outra extremidade da membrana foi fechada para formar um saco com uma área de superfície de cm^2 de 47,45 cm^2. As dimensões do saco de diálise foram estabelecidas para livre movimento das partículas no seu interior e para expansão de volume dofilme contendo as partículas.

O saco de diálise foi colocado dentro de um recipiente de vidro contendo em 35 mL de FSS (pH 6,8). O teste foi conduzido durante 24h, 37 ± 0,2 °C e agitação orbital (120 rpm). As amostras foram coletadas nos tempos: 5, 10, 15, 30, 60, 120, 240, 360 e 480 min. e 24 horas após o início do teste. Em cada intervalo de tempo foram retirados 4 mL de amostra. O volume

total do meio de solução foi reposto pela adição de 4 mL de FSS fresco. As amostras foram filtradas através de filtros com poros de 0,22 µm antes da medida de absorbância. A concentração de cada fármaco liberada em função do tempo foi determinada utilizando a equação da reta. O teste foi conduzido em sextuplicata para cada tempo.

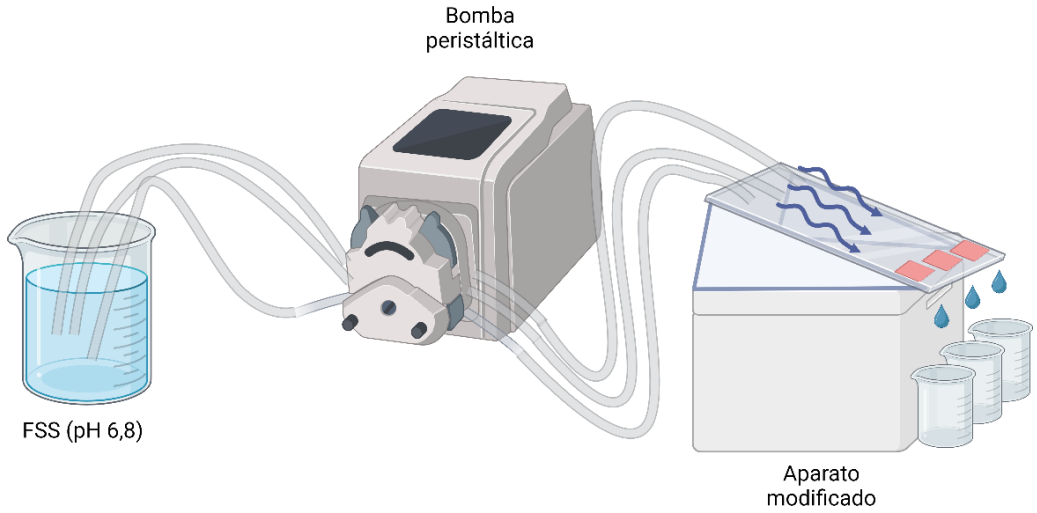
A cinética de liberação de cada fármaco foi determinada para ajustar os dados experimentais aos seguintes modelos de cinética de liberação: ordem zero, primeira ordem, Higuchi, Peppas-Sahlin e Korsmeyer-Peppas. Os valores dos parâmetros cinéticos e predição da liberação do fármaco foram obtidos através da análise dos dados em um complemento do Excel denominado DD Solver 1.0.

4.10 Teste de mucoadesão *ex vivo*

Para a avaliação da mucoadesão dos filmes e das partículas revestidas com Qt (0,3%) foi utilizada mucosa bucal de suíno jovem (4 meses de idade) recém-abatido e não congelada. A dissecação foi tecnicamente realizada para remover os planos teciduais mucoso e submucoso. As mucosas foram mantidas em solução fisiológica para prevenir a desidratação até o momento da realização dos testes.

Um dispositivo experimental foi adaptado (Figura 16) com base no trabalho de Belgamwar, Shah e Surana (2009). Este dispositivo permitiu o fluxo descendente do FSS (1,3 mL/min.) sobre a superfície da mucosa (362,67 mm^2 para partículas e 1,54 cm^2 para filmes com e sem partículas) onde as amostras (filmes e partículas) estavam posicionadas. O fluxo foi mantido constante usando uma bomba peristáltica de 6 canais (Minipuls 3 – Gilson, França). Para o teste as amostras de mucosa (n=3) foram fixadas sobre uma placa de vidro. Sobre cada mucosa foram colocadas 50 unidades de partículas ou o filme com e sem as partículas. Os filmes com e sem partículas foram recortados (515,11 mm^2).

Figura 16 – Representação do sistema operante para a avaliação da mucoadesão de partículas e filmes (com e sem partículas). O aparato modificado facilita o percurso do fluido salivar simulado (FSS) sobre toda a extensão da amostra, sendo posteriormente coletado em béqueres.



Fonte: Elaboração própria.

O fluxo do FSS sobre as amostras foi iniciado após 6 min. O teste foi interrompido após 15 min. equivalente a 25 mL de FSS fluindo sobre a amostra. Ao final do teste as partículas aderidas à mucosa foram contadas. A força de adesão foi expressa em porcentagem através da seguinte Equação 2:

$$Força\ de\ adesão\ (\%) = \frac{N_a}{N_t} \times 100$$

N_a representa o número de partículas que permaneceram aderidas à mucosa ao final do teste, N_t representa o número total de partículas dispersas sobre a mucosa removida da bochecha de suíno.

Para avaliar adesividade dos filmes sobre o tecido mucosal, os filmes foram recortados (~ 750 mm^2) e cuidadosamente posicionados sobre o tecido (1,5 cm^2). Antes do início do teste os filmes foram levemente pressionados (30s) sobre o tecido mucosal. O fluxo de FSS (1,3 mL/min) foi mantido constante durante 120 min. o que corresponde a 156 mL de FSS para cada amostra (n=3). Deste volume foi recuperado cerca de 45 mL. As amostras foram observadas com relação ao intumescimento, desintegração e eliminação da superfície do tecido mucosal. Para avaliar a adesividade dos filmes carregados de partículas foi adotado procedimento descrito acima.

4.11 Método de análise

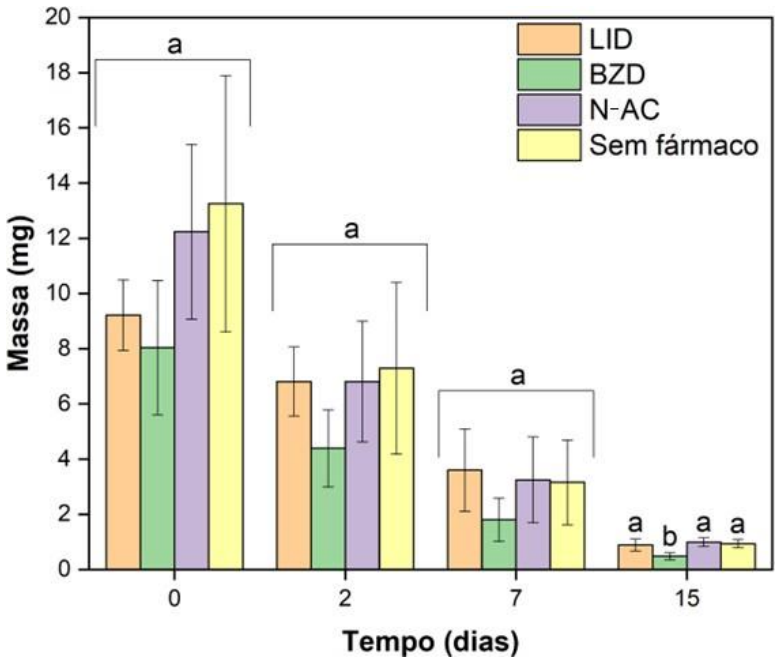
A análise estatística foi realizada por análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste Tukey para comparação das médias, e determinada com intervalo de confiança de 95% ($p<0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Preparação e caracterização das partículas de alginato de cálcio

A preparação das partículas de ALG-Ca foi imediata deu-se pela reação ionotrópica, a qual é denominada reação do tipo “click” devido à velocidade das trocas iônicas do Ca^{2+} pelo Na^{+} presente no alginato. A presença do NaCl na reação foi para conferir esfericidade (Pestovsky; Martínez-Antonio, 2019; Valencia-Sullca *et al.*, 2024) e porosidade para as partículas ALG-Ca (Gåserød; Smidsrød; Skjåk-Bræk, 1998). A fluidização descendente é uma técnica de gotejamento sob uma força de extrusão. A agulha de 31G foi utilizada para adequar o tamanho da gota ao tamanho da partícula previamente requerida para transporte dos fármacos e mucoadesão. A massa final das partículas determinadas nos tempos zero, 2, 7 e 15 dias são apresentadas na Figura 17. A análise dos resultados mostra a perda de água até massa constante (15 dias). Como era esperado, as moléculas do fármaco em dispersão nas partículas não afetam o tempo de secagem ($p<0,05$), exceto até 15° dia em que a perda de água foi ligeiramente maior para as partículas contendo BZD ($p<0,05$).

Figura 17 – Resultado do processo de secagem das partículas de ALG-Ca com e sem fármacos: lidocaína (LID), benzidamina (BZD) e n-acetilcisteína (N-AC). Os resultados são a média das pesagens de 6 amostras (n=6). As letras “a” e “b” referem, respectivamente, à ausência ou não de diferença estatística entre as amostras em cada tempo de pesagem.



Fonte: Elaboração própria.

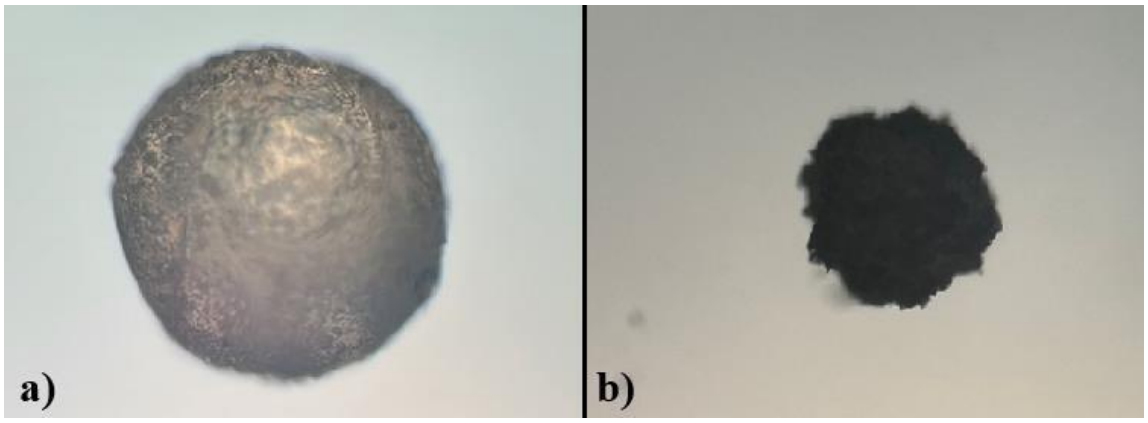
5.2 Avaliação morfológica das partículas

Os resultados da avaliação morfológica das partículas são apresentados nas Figuras 18 – 20. A microscopia óptica (Figura 18, Painéis a e b) mostram a esfericidade das partículas antes e após a secagem, bem como a redução de volume após a eliminação da água incorporada no

processo de fabricação. O MEV foi realizado para analisar a morfologia, tamanho e características de superfície do material (ALG-Ca) das partículas secas antes do revestimento com Qt.

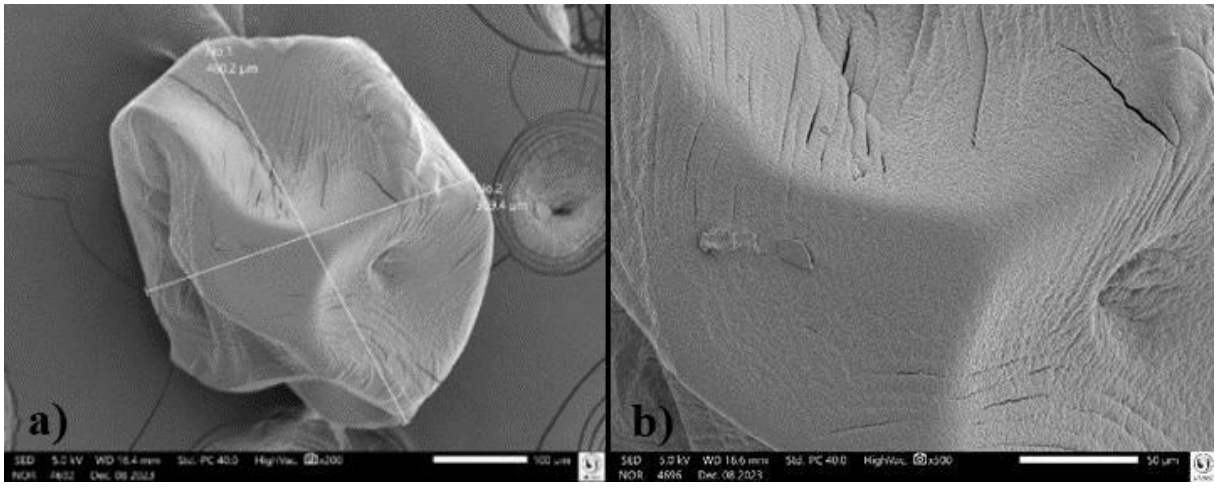
O resultado evidencia a esfericidade (Gåserød; Smidsrød; Skjåk-Bræk, 1998; Wan *et al.*, 2022) observada na microscopia óptica e pela MEV foi revelado o tamanho das partículas antes (460,2 x 369,4 µm) e após adição dos fármacos (488,7 x 403,5 µm) A superfície das partículas sem os fármacos é levemente rugosa e apresenta pequenas fissuras (Figura 19, Painéis a e b). Na presença dos fármacos a rugosidade aumenta e apresenta morfologia diferente. O aspecto morfológico pode ser justificado pelo processo de secagem realizado sob refrigeração (4–8 °C), especialmente no que se refere à presença de fissuras decorridas, provavelmente, da baixa fusibilidade do polímero com a perda de água. O aumento do volume pode ser atribuído à presença dos fármacos (Figura 20, Painéis a e b).

Figura 18 – Imagens obtidas por microscopia óptica da partícula, sem fármaco, (Painel a) hidratada e (Painel b) após 15 dias de secagem (aumento de 40x).



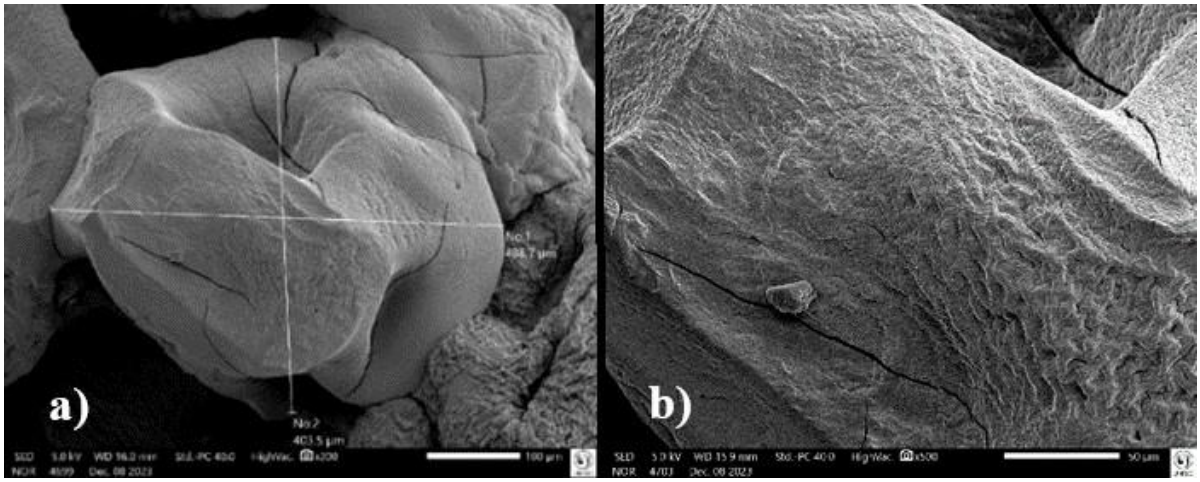
Fonte: Acervo próprio.

Figura 19 – Micrografias obtidas por microscopia eletrônica por varredura (MEV) (Painel a) em resolução de 200x de uma partícula sem fármaco e (Painel b) com resolução de 500x mostrando detalhadamente a superfície.



Fonte: Acervo próprio.

Figura 20 – Micrografias obtidas por microscopia eletrônica por varredura (MEV) (Painel a) em resolução de 200x de uma partícula com fármaco e (Painel b) com resolução de 500x mostrando detalhadamente a superfície.

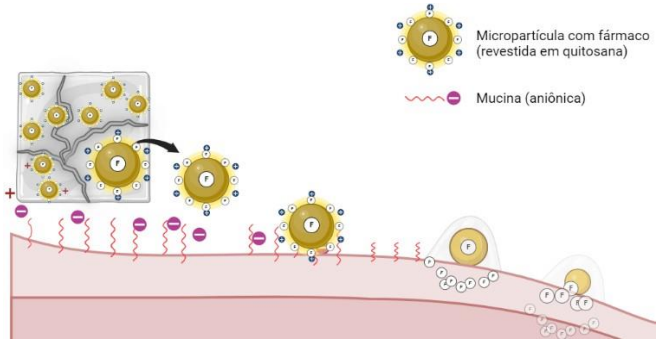


Fonte: Acervo próprio.

5.3 Caracterização do revestimento com quitosana

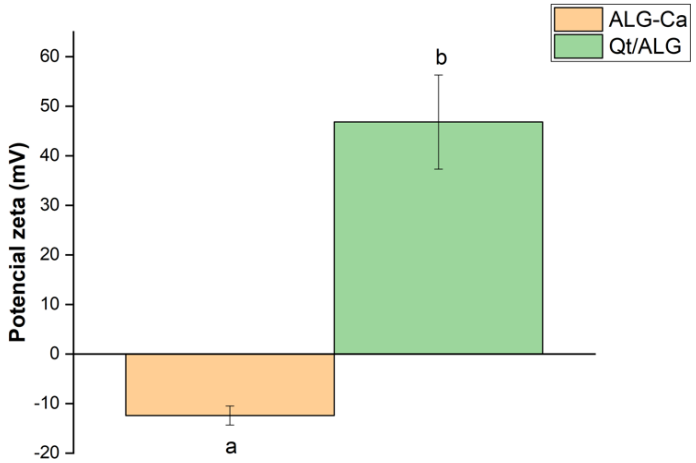
O revestimento das partículas com quitosana foi realizado para que a adesividade das partículas ocorresse inicialmente por atração eletrostática da carga elétrica positiva da Qt com a carga elétrica negativa da mucina, e num segundo momento pelo entrelaçamento das cadeias poliméricas do alginato e da mucina (Figura 21). Os mecanismos associados são reconhecidos por aumentar a força para destacamento entre as duas superfícies. A funcionalização das partículas pelo recobrimento com Qt foi avaliado pela determinação do potencial zeta antes a após o recobrimento (Figura 22). Os resultados mostram que as partículas apresentavam potencial zeta de (-) 12,4 mV antes do revestimento, e após o revestimento o potencial zeta (+) 46,8 mV. A mudança do potencial zeta evidencia o revestimento e indica uma boa possibilidade de adesão por ligação eletrostática com a mucina (Pestovsky; Martínez-Antonio, 2019; Roy *et al.*, 2018). Além desta funcionalidade, a Qt prolonga a liberação de fármacos devido à baixa solubilidade em pH fisiológico da cavidade bucal (pH ~6,7) (Abourehab *et al.*, 2022; Lacerda *et al.*, 2014). Consequentemente, o sistema particulado adquire dupla função a mucoadesão e a liberação modificada alvo específico.

Figura 21 – Representação ilustrativa do contexto da mucoadesão do sistema produzido.



Fonte: Elaboração própria.

Figura 22 – Resultados das medidas de potencial zeta das partículas de alginato de cálcio (ALG-Ca) e partículas de ALG-Ca revestidas com quitosana 0,3% (Qt/ALG) (n=3).



Fonte: Elaboração própria.

5.4 Avaliação dos hidrogéis e dos filmes mucoadesivos

Os polímeros usados na preparação do hidrogel e fabricação dos filmes foram selecionados para assegurar a mucoadesão, resistência à tração e compressão, a resiliência, a capacidade de intumescimento e a resistência à desintegração promovida por fluido aquoso.

5.4.1 Caracterização dos hidrogéis

A viscosidade do hidrogel foi determinada e os resultados são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Resultados das medidas de viscosidade das formulações de F-I a F-VI dos hidrogéis (n=3).

Hidrogel	Viscosidade (cP)
F-I	2039,44 ± 137,06
F-II	2288,89 ± 34,70
F-III	2425,00 ± 35,36
F-IV	1863,34 ± 136,70
F-V	1710,00 ± 155,56
F-VI	685,00 ± 261,62

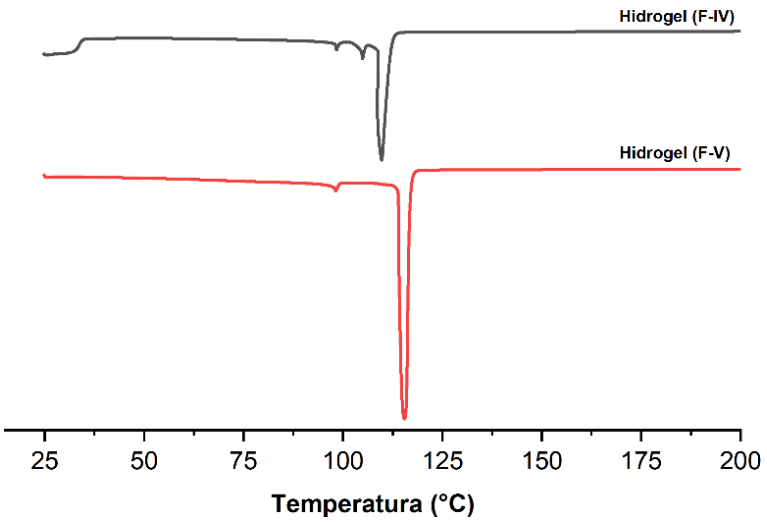
Fonte: Elaboração própria.

As formulações de F-I a F-III apresentaram maior viscosidade em razão da menor quantidade de Qt favorecendo as características das HPMC K4M e K100M (Yaprak Karavana; Güneri; Ertan, 2009). Além disto, a viscosidade dos hidrogéis pode ser uma barreira para a liberação dos fármacos presente nas partículas quando estas são incorporadas aos filmes devido à formação de barreira que limita a difusão das moléculas. Desta forma, a formulação mais indicada seria aquela com menor viscosidade, contanto que as propriedades citadas acima sejam garantidas. Baseado nesta premissa, a formulação e outras caracterizações físico-químicas, as

formulações F-IV a FVI foram, preliminarmente, vistas como promissoras para carreamento das partículas. Entre as formulações dos hidrogéis com menor viscosidade (F-IV – F-VI) a formulação F-VI difere das demais pela substituição do agente plastificante PEG pelo PVP K-30. No entanto, o gel (F-VI) mostrou elevada taxa de fluidez e o filme preparado por moldagem com este hidrogel apresentou características vítreas e pequena espessura. Devido a estes resultados o estudo com o hidrogel (F-VI) não foi continuado.

Comparando os resultados de DSC para os hidrogéis F-IV (P_f 109,73 e ΔH -4,92) e F-V (P_f 113,72 e ΔH -10,45) (Figura 23) fica evidente a menor cristalinidade da formulação F-IV em relação à F-V. A cristalinidade de mistura polimérica diminui a mobilidade das moléculas dos polímeros. Após a remoção da água durante o processo de secagem dos filmes, a cristalinidade diminui a capacidade de reidratação e, consequentemente, aumenta a taxa de desintegração dos filmes. Baseado nestas propriedades o estudo com a formulação F-V não foi continuado.

Figura 23 – Termogramas obtido por DSC dos hidrogéis F-IV e F-V.



Fonte: Elaboração própria.

Para corroborar na decisão da seleção do hidrogel F-IV testes de textura de hidrogéis (dureza, compressibilidade, adesividade e coesividade) foram utilizados como triagem para avaliar a adequabilidade da formulação para obtenção de filmes de base hidrogelatinosa. Os resultados são apresentados na Tabela 7 e Figura 24 (Painéis a e b).

A dureza mede a rigidez da rede polimérica no hidrogel, isto é, a resistência do material à compressão, provendo informação qualitativa útil sobre a resposta dinâmica do hidrogel. Resumidamente, quanto mais lenta a força necessária para deslocar a rede polimérica maior a densidade do material, mais lenta a resposta dinâmica do hidrogel. Aplicado à fabricação de filmes por moldagem hidrogéis mais densos formam filmes irregulares em relação à espessura.

A dureza de hidrogéis está diretamente relacionada à compressibilidade (redução do volume por uma força de compressão). Contudo, géis à base de água ou outros solventes são incompressíveis, isto é, quando submetidos à uma força de compressão ocorre um deslocamento do volume, mas não uma redução. A medida neste caso reflete tensão e a taxa de deformação na proximidade da sonda. No entanto como géis são incompressíveis o deslocamento das redes dos polímeros reflete sofre deformação em função do tempo ($N.s^{-1}$).

A compressibilidade é, geralmente, caracterizada pela formação de estruturas fibrilares durante o processo de separação. As condições moleculares da rede de polímeros necessárias para a formação de fibrilas têm sido discutidas e é consenso entre numerosos autores que a formação de estrutura fibrilar está relacionada com a massa das reticulações entre os diferentes polímeros. No entanto, nós temos observado que reticulações excessivas leva a uma falha prematura da formação de fibrilas aumentando a dureza dos hidrogéis reduzindo a compressibilidade e a adesividade.

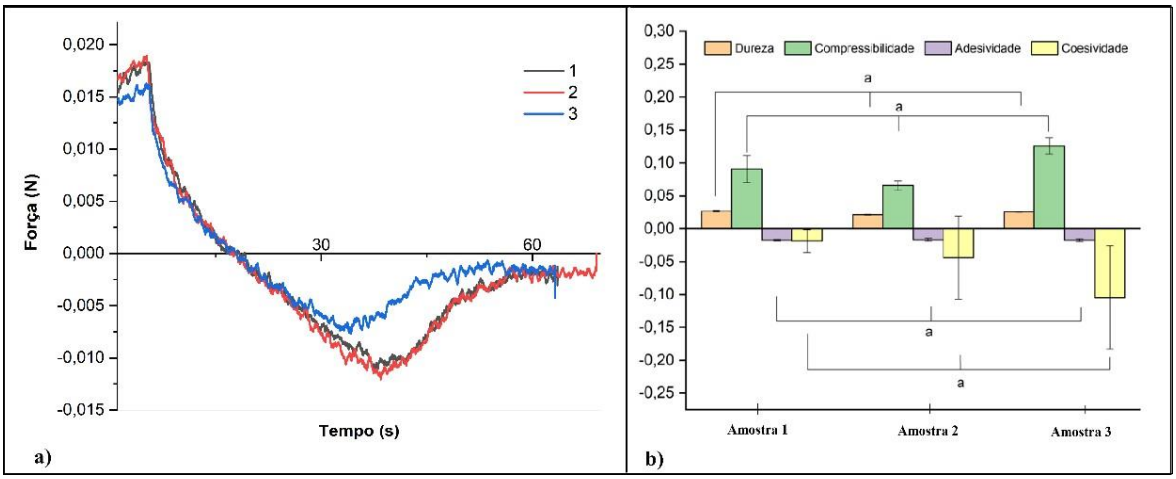
Adesividade e coesividade são propriedades dos hidrogéis que estão inter-relacionadas. A falha na coesividade acontece no sentido lateral – centro (axial) ou do centro para as laterais (radial). As falhas de coesividade são percebidas facilmente durante a medida, neste caso a força medida durante a separação atinge o máximo rapidamente para, em seguida, reduzir drasticamente até zero. A falha na coesividade é ampliada na presença de bolhas de ar no hidrogel. Nosso estudo mostrou que os hidrogéis alcançam o pico máximo e mantém esta resistência por algum tempo indicando boa coesividade. Então, a área sob curva (ASC) quando não há falha de coesividade é maior que a ASC na presença de falha coesiva (dados não mostrados). A ausência de falhas na coesividade leva a formação de filmes mais resistentes à tração e à compressão. Os resultados mostrados na Tabela 7 e Figura 24 mostram as propriedades de dureza, compressibilidade, adesividade e coesividade da formulação F-IV.

Tabela 7 – Resultados das propriedades avaliadas na textura do hidrogel F-IV (n=3).

Propriedades	**Média**
Dureza ($N.s^{-1}$)	$2{,}4.10^{-2} \pm 0{,}003$
Compressibilidade ($N.s^{-1}$)	$9{,}4.10^{-2} \pm 0{,}0029$
Adesividade ($N.s^{-1}$)	$1{,}7.10^{-2} \pm 0{,}002$
Coesividade	$5{,}6.10^{-2} \pm 0{,}064$

Fonte: Elaboração própria.

Figura 24 – Resultado da análise das propriedades de textura do hidrogel F-IV. Painel A mostra o gráfico gerado após o teste de tração-adesividade (n=3). O Painel B mostra o gráfico com os valores nominais para as medidas de textura extrapolados Painel A, a letra "a" refere, à ausência de diferença estatística entre as amostras analisadas.



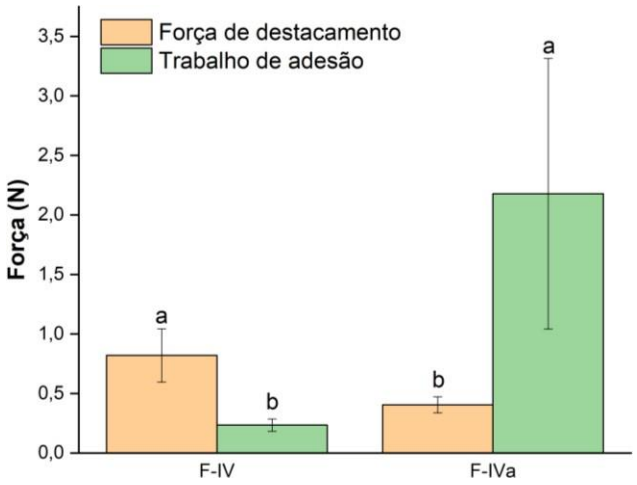
Fonte: Elaboração própria.

5.4.2 Caracterização das propriedades dos filmes hidrogelatinosos com e sem partículas

Os filmes foram obtidos por moldagem seguido de secagem em calor seco (37 ± 1ºC) em estufa de ar circulante. A condição amena de temperatura e a eliminação do vapor por circulação de ar quente foi realizada para um tempo de secagem de 6h. O tempo relativamente longo é necessário para consolidar as interações poliméricas e obtenção de um filme mecanicamente resistente e flexível o suficiente para moldar às superfícies da cavidade oral e evitar a contaminação microbiana, dado que conservantes microbiológicos não foram utilizados.

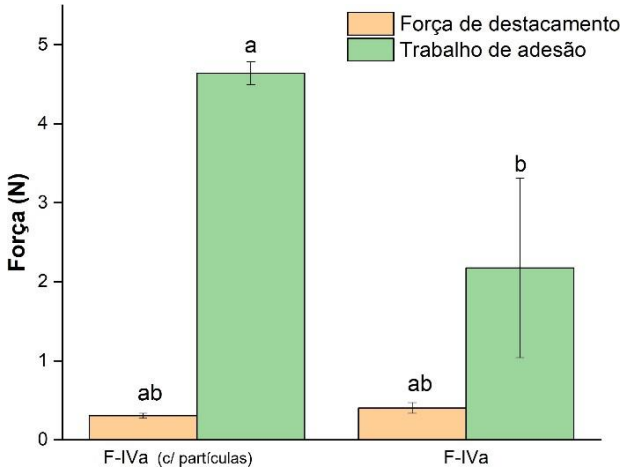
A medida da adesividade dos filmes sobre discos de mucina foi determinada pela força de destacamento das superfícies e trabalho de adesão (Figura 25). A partir deste resultado de adesividade para F-IV um novo hidrogel e outro filme baseado nesta formulação foram preparados com redução de 50% do agente plastificante PEG-400 (F-IVa). Esta modificação reduziu a força de destacamento, em contrapartida aumentou significativamente ($p < 0,05$) o trabalho de adesão. Este resultado sugere que o tempo de permanência do filme sobre a mucosa hidratada e com fluxo constante de FSS será aumentado (Sanyang *et al.*, 2016; Trivedi; Rao; Kumar, 2014). Paralelamente, foram analisadas as propriedades adesivas dos filmes com as partículas carregadas com fármaco. A Figura 26 mostra os resultados para adesividade dos filmes, com e sem partículas, obtidos da formulação F-IVa. Os resultados mostram que a força de destacamento manteve igual para ambas as formulações, no entanto o trabalho de adesão aumentou significativamente ($p < 0,05$). Este aumento do trabalho de adesão pode ser atribuído à adesividade das partículas de alginato revestidas com Qt.

Figura 25 – Ilustração gráfica do resultado da análise da força de destacamento (N) e trabalho de adesão ($N.s^{-1}$) comparando as formulações F-IV e F-IVa (n=3) para um tempo de contato de 180s. As letras “a” e “b” mostram que há diferença significativa entre as amostras analisadas.



Fonte: Elaboração própria.

Figura 26 – Ilustração gráfica comparando a adesividade dos filmes com e sem partículas (n=3). As letras “a” e “b” mostram diferença significativa entre os parâmetros analisados e “ab” não mostra diferença significativa.



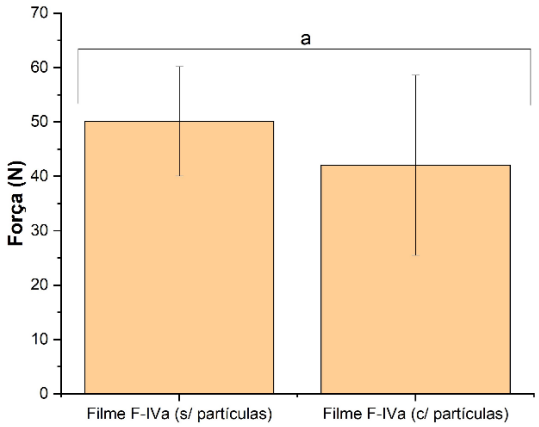
Fonte: Elaboração própria.

A resistência à tração para as formulações F-IV e F-IVa são, respectivamente, superiores a 60 N e 50N. Estas resistências à força de tração são consideradas altas para filmes hidrogelatinosos, mesmo quando medida após a secagem. A secagem reduz a mobilidade das moléculas poliméricas. Contudo, é importante relatar que os filmes mantiveram a flexibilidade com resistência maior que 300 dobraduras subsequentes.

A rigidez dos filmes foi confirmada pela determinação do módulo de Young (elasticidade – E). Para a F-IV o valor nominal de E foi de 2.466 Pa, enquanto para a F-IVa este valor foi de 2.951 Pa. Os resultados mostram que o plastificante influencia na relação entre tensão e deformação (E), e ela é resultado da combinação entre os tipos e concentração dos polímeros e a concentração do plastificante.

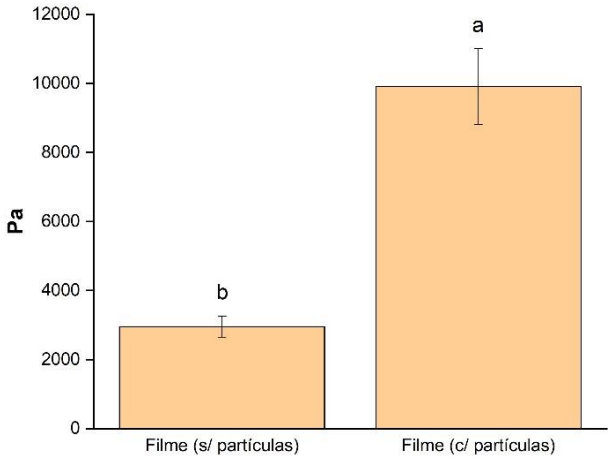
As medidas de resistência à tração e módulo de Young foram determinadas também para os filmes com partículas. Os resultados são apresentados na Figura 27 e Figura 28. A resistência à tração para estas formulações foram respectivamente 50N e 42N para os filmes sem e com partículas (Figura 27). A redução da resistência à tração era esperada uma vez que as partículas interferem fisicamente no retículo polimérico dos filmes. Consequentemente a mobilidade da cadeia polimérica aumenta para F-IVa com partículas (Figura 28).

Figura 27 – Medida de tração para amostra do filme F-IVa carregadas ou não com partículas (n=3). A letra "a" mostra que não há diferença significativa.



Fonte: Elaboração própria.

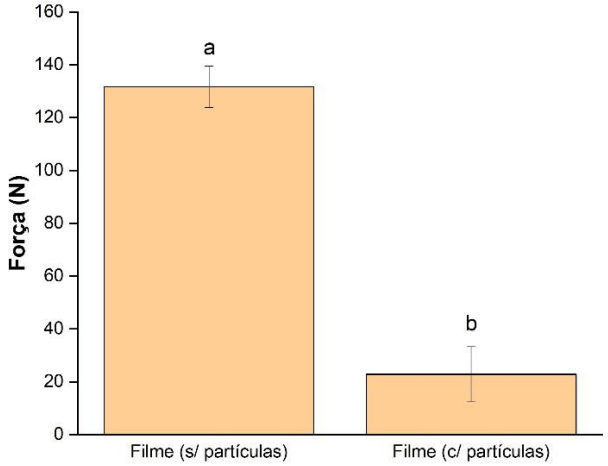
Figura 28 – Ilustração gráfica do resultado e análise estatística das amostras de filmes da formulação F-IVa com sem e com partículas (n=3). As letras "a" e "b" mostram diferença significativa.



Fonte: Elaboração própria.

A resistência à perfuração é uma propriedade de resistência à compressão utilizada para medir firmeza, tenacidade e a resistência da amostra para uma força contrária à da tração. Esta propriedade foi analisada entre as amostras de filmes sem e com partículas (Figura 29). Neste caso a medida de resistência foi cerca de 60 vezes maior para os filmes sem partículas. O efeito físico das partículas sobre o retículo polimérico do filme foi mais acentuado para resistência à perfuração quando comparado com a resistência à tração.

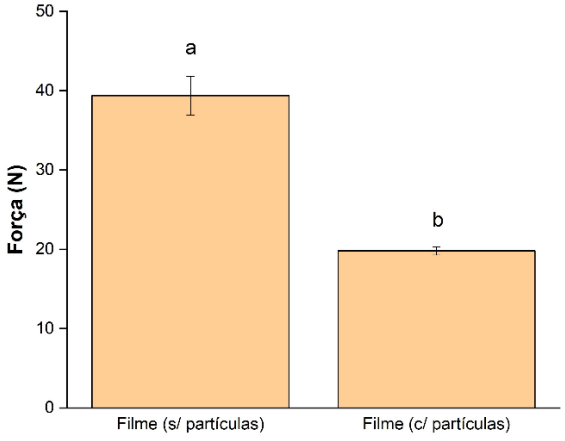
Figura 29 – Ilustração gráfica do resultado da análise da resistência à perfuração dos filmes obtidos da formulação F-IVa sem e com partículas distribuídas de forma homogênea (n=3). As letras “a” e “b” mostram diferença significativa.



Fonte: Elaboração própria.

A resiliência é um indicador de como um material se recupera espontaneamente após sofrer uma deformação, isto é, mede a quantidade de energia que um material pode absorver sem que ocorra deformação permanente. O teste foi realizado para a F-IVa com e sem partículas e os resultados são apresentados na Figura 30. Como era esperado, a interferência física das partículas no retículo polimérico dos filmes reduz a capacidade de recuperação do filme após sofrer deformação.

Figura 30 – Ilustração gráfica do resultado da análise de resiliência entre amostras de filmes obtidos da formulação F-IVa sem e com partículas (n=3). As letras “a” e “b” mostram diferença significativa.



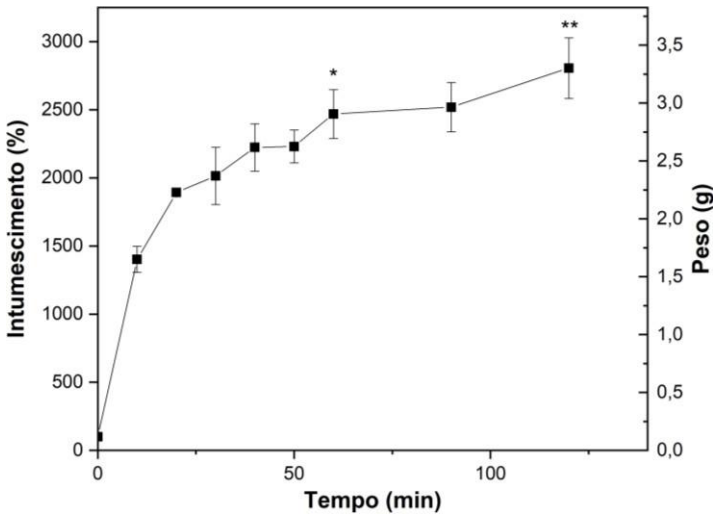
Fonte: Elaboração própria.

5.4.3 Avaliação da capacidade de intumescimento e desintegração do filme mucoadesivo

Intumescimento e desintegração são medidas que ocorrem simultaneamente e são usadas para avaliar, respectivamente, a capacidade de absorção e o efeito do teor de FSS na resistência hidrolítica do filme à desintegração. Os resultados (Figura 31) mostram que a capacidade de intumescimento foi de aproximadamente 2.400% (60 min) com início de

modificação da estrutura. No entanto a perda de massa com desintegração total ocorreu em 120 min. Nestas condições é esperado que o tempo do filme aderido à mucosa bucal seja suficiente para garantir a mucoadesão na cavidade bucal e sustentar as partículas antes da adesão destas à superfície da mucosa. Além disto, devido à rápida renovação de células da superfície da mucosa, de 2 a 4 horas (Dawes, 2003) não haveria necessidade de permanência prolongada do filme para além deste tempo. Por outro lado, as partículas foram preparadas com revestimento de quitosana para suportar a própria mucoadesividade.

Figura 31 – Intumescimento e desintegração do filme F-IVa. (* 60 min) início da modificação na estrutura do filme; (** 120 min) desintegração total do filme.

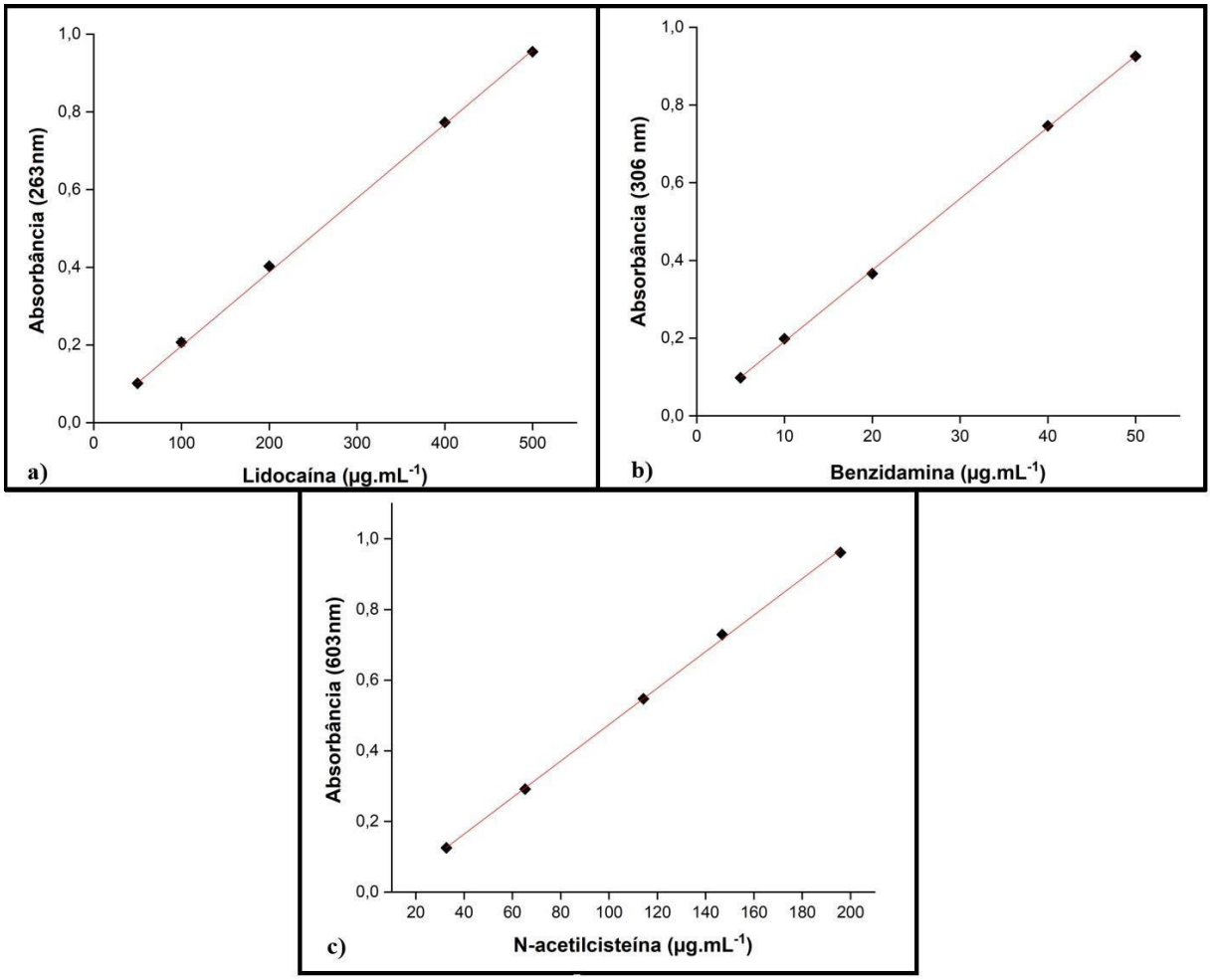


Fonte: Elaboração própria.

5.5 Construção da curva analítica

A análise espectrofotométrica resultou em λ máximo de absorbância de 263nm para LID, 306nm para BZD, 603nm para a N-AC. Os resultados coincidiram com as absorbâncias reportadas por outros pesquisadores (Kukoc-Modun; Radić, 2011; Preda *et al.*, 2016; Sharma; Singh; Garg, 2018). A curva analítica mostrada na Figura 43 foi construída pela média dos resultados de três curvas construídas separadamente. O coeficiente de correlação foi determinado usando o *software* Excel. O resultado mostra que a relação direta entre concentração do analito e absorbância no espectro de onda do UV-Vis para concentrações da LID, BZD, N-AC, respectivamente, entre 50 – 500 $\mu g.mL^{-1}$, 5 – 50 $\mu g.mL^{-1}$ e 32,64 – 195,84 $\mu g.mL^{-1}$ (Tabela 8).

Figura 32 – Curva analítica da lidocaína (Painel a), benzidamina (Painel b) e n-acetilcisteína (Painel c).



Fonte: Elaboração própria.

Tabela 8 – Resultados da construção da curva analítica.

Parâmetros	LID	BZD	N-AC
Concentração (µg.mL^{-1})	50 – 500	5 – 50	32,64 – 195,84
Coeficiente de correlação (*r*)	0,9998	0,9998	0,9997
Equação da reta	y = 0,0019x + 0,0158	y = 0,0184x + 0,0073	y = 0,0052x - 0,0422

Fonte: Elaboração própria.

5.6 Determinação do teor de fármaco nas partículas

A eficiência de encapsulação (EE) mede o teor de fármaco encapsulado. Na Tabela 9 é mostrado maior EE para BZD, LID e N-AC e compreende a concentração de cada fármaco adicionado no meio reacional (solução de $CaCl_2$/NaCl) e dispersão de AS. Como a concentração de cada fármaco foi determinada com base na respectiva dose terapêutica, o número de moléculas dispersas em um mesmo volume do meio reacional é mais difícil de capturar em reação do tipo “click”. Seguindo este raciocínio a EE da N-AC poderia ser melhorada para um volume menor do meio reacional. O teor de cada fármaco ajustado para 100 mg de partículas,

após a secagem, é apresentado na Tabela 10. O teor de fármaco, ao contrário da EE, é dependente da solubilidade aquosa dos compostos seja na solução reagente ou na dispersão de AS. Desta forma é esperado que o teor de LID (4,1 $mg.mL^{-1}$) seja maior que da BZD (hidrodispersível) e da N-AC (0,18 $mg.mL^{-1}$).

Tabela 9 – Eficiência de encapsulação em comparação ao conteúdo total de fármaco adicionado

	Conteúdo adicionado (mg)	**Eficiência de encapsulação (EE%)**
Cloridrato de lidocaína (MM 234,33)	1.938,75	69,95
Cloridrato de Benzidamina (MM 309,41)	449,85	93,18
N-Acetilcisteína (MM 163,19)	179,94	13,24

Fonte: Elaboração própria

Tabela 10 – Teor de fármaco em 100 mg de partículas.

	Teor de fármaco (mg)
Cloridrato de lidocaína	125,29
Cloridrato de Benzidamina	22,43
N-Acetilcisteína	18,94

Fonte: Elaboração própria

5.7 Perfil de liberação dos fármacos

O efeito do filme no perfil de liberação dos fármacos foi determinado pela liberação dos fármacos das partículas comparado com a liberação dos fármacos nas partículas incorporadas ao filme, conforme previamente descrito por (Oliveira *et al.*, 2020; Valencia-Sullca *et al.*, 2024).

Os resultados apresentados na Tabela 11 correspondem ao percentual máximo de cada fármaco liberado em cada tempo até 480 min. (8h). A taxa de liberação entre cada fármaco é equivalente. Este resultado mostra a uniformidade das partículas e o comportamento de liberação sugere o princípio de difusão sem desintegração durante 8h. O resultado para liberação do fármaco a partir das partículas incorporadas no filme sugerem o mesmo comportamento.

Na Figura 33 (Painéis a – c) os perfis de liberação dos fármacos são semelhantes. Um "burst" de liberação pode ser observado nos primeiros 30 min, tanto para os fármacos incorporados às partículas, como para as partículas incorporadas ao filme. Contudo, o máximo de liberação para as partículas foi alcançado após 360 min. (6h) para LID, BZD e 480 min. (8h) para N-AC. Quando as partículas contendo o fármaco foram incorporadas ao filme o máximo de liberação para LID e BZD ocorreu em 1440 min. (24h) e para N-AC em 480 min. (8h).

Destes resultados é possível concluir que o filme cumpre uma função de barreira retardando e prolongando a liberação dos fármacos.

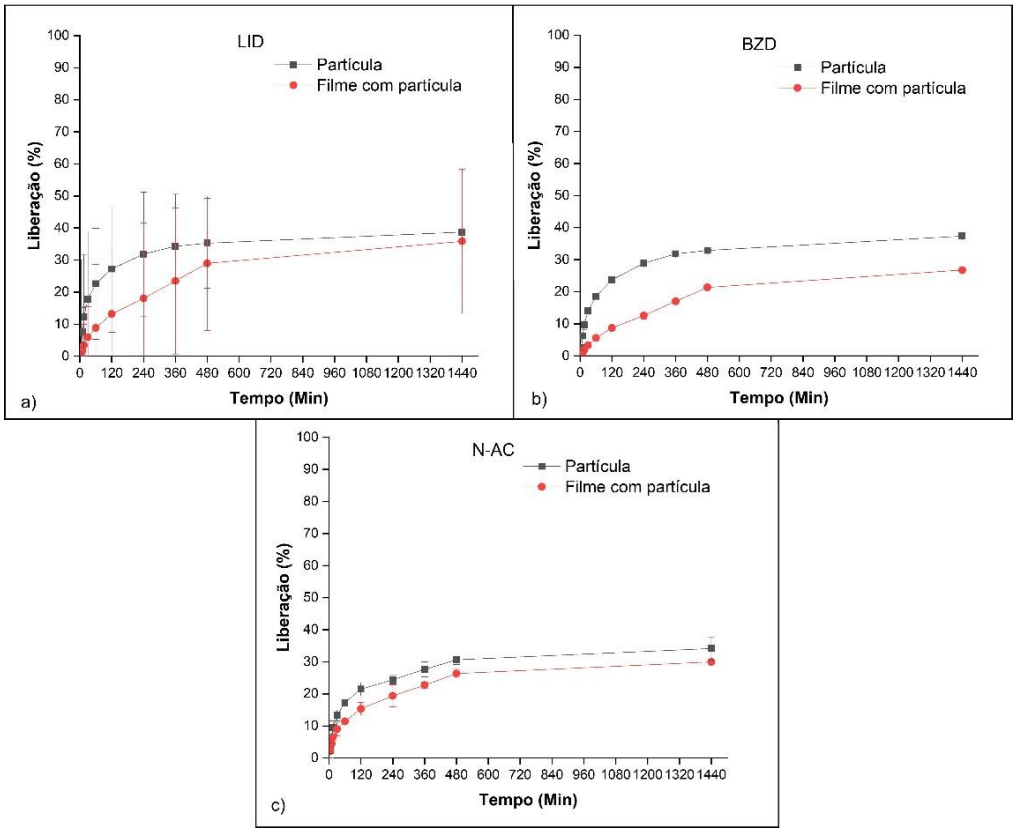
Embora a concentração de LID liberada mostre o efeito do fator de barreira não há diferença estatística entre as concentrações liberadas. Isto pode ser explicado pela elevada solubilidade aquosa da LID. Contudo, o esperado é que o efeito anestésico ocorra de forma eficiente independentemente da presença do filme. Outro ponto de vista a ser considerado é o intervalo de tempo entre a coleta de amostra entre os tempos 8h e 24h (16h de intervalo). Durante este tempo o meio receptor pode ficar saturado e interromper a liberação pelo efeito de semelhança nos gradientes de concentração (estado de equilíbrio), diferente do que acontece *in vitro*.

Tabela 11 – Resultado de liberação de fármacos ajustado para 100 mg de partículas.

Liberação (%)	Partícula livre	Partícula em filme polimérico
LID	38,70 ± 19,00	35,85 ± 20,93
BZD	37,35 ± 0,59	26,76 ± 0,90
N-AC	34,16 ± 1,43	29,97 ± 1,40

Fonte: Elaboração própria.

Figura 33 – Perfil de liberação dos fármacos, nas partículas livres e das partículas contidas no filme, de lidocaína (Painel a), benzidamina (Painel b) e n-acetilcisteína (Painel c).



Fonte: Elaboração própria.

Os modelos matemáticos constituem uma ferramenta fundamental para compreender o perfil de liberação de fármacos e outros compostos bioativos empregados na concepção e otimização de formulações farmacêuticas. Estes modelos contribuem na avaliação de processos de liberação de fármacos *in vitro*, oferecendo uma abordagem sistemática e quantitativa para investigar a dinâmica da liberação de substâncias ativas. Além disso, são instrumentos para proposição de designs ideais para novos sistemas farmacêuticos, permitindo uma previsão mais precisa e eficiente do comportamento do fármaco ao longo do tempo e em diferentes condições ambientais.

O valor preditivo do perfil de liberação foi calculado utilizando os modelos matemáticos de Ordem Zero, Primeira Ordem, Higuchi, Peppas-Sahlin e Korsmeyer-Peppas. Entre estes modelos o resultado da avaliação do processo de liberação de Peppas-Sahlin mostrou correlação positiva alta para as partículas de LID e de BZD com coeficiente de determinação ajustado de 0,952 e 0,976, respectivamente. Já para as partículas de LID, BZD e N-AC incorporadas aos filmes e para as partículas contendo N-AC houve correlação positiva alta para o modelo matemátivo de Korsmeyer-Peppas de modelo Fickiano ($n \leq 0,5$), apresentando coeficiente de determinação ajustado de 0,976; 0,973; 0,971 e 0,964, respectivamente.

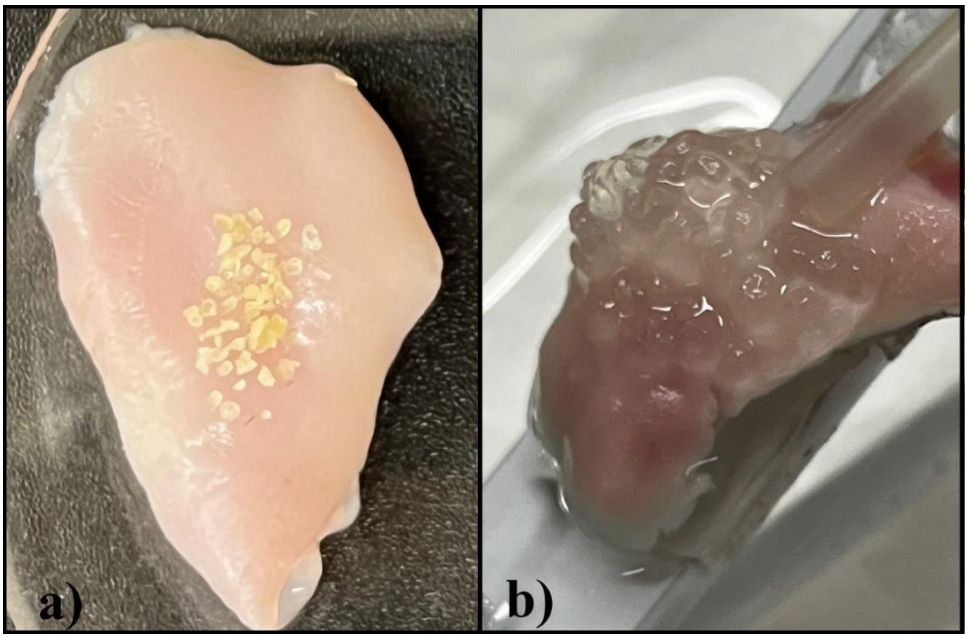
O modelo matemático de Peppas-Sahlin indica que é possível calcular dois mecanismos de contribuição (difusão e relaxação das cadeias poliméricas) em um processo anômalo de liberação de fármacos. Já o modelo Korsmeyer-Peppas é uma equação semi-empírica utilizada para descrever a liberação dos analitos a partir de sistemas poliméricos, estabelecendo a relação exponencial entre a liberação *versus* tempo. Dependendo do valor de *n*, que melhor se ajusta ao perfil de liberação de um agente ativo em um sistema matricial, é possível estabelecer uma classificação, de acordo com o tipo de comportamento observado, se é Fickiano (a liberação ocorre pela difusão dos fármacos) ou se é não-Fickiano (a liberação ocorre por intumescimento ou relaxação das cadeias poliméricas).

5.8 Análise da mucoadesão *ex vivo* das partículas e dos filmes sobre a mucosa dissecada de suíno

A mucoadesão sob fluxo contínuo de FSS foi realizada para mimetizar condições *in vivo* do fluxo salivar normal, não-estimulado 0,3 – 0,5 $mL.min^{-1}$ e estimulado 0,5 – 0,7 $mL.min^{-1}$ (Gholami *et al.*, 2017). O período de 6 min. de contato entre as partículas e a mucosa dissecada de suíno, antes de iniciar o fluxo contínuo de FSS sobre as amostras, foi suficiente para mucoadesão, dado que não houve deslocamento visível das partículas da superfície da mucosa. Para adesividade do filme com partículas sobre a mucosa, o filme foi depositado sobre a mucosa dissecada de suíno com leve compressão durante 30s.

Na Figura 34 (Painel-a) a imagem mostra as partículas secas, sobre a mucosa hidratada, antes do início do teste; o Painel-b mostra as mesmas partículas ao final do teste (1,3 $mL.min^{-1}$ de FSS), condição que supera consideravelmente as condições fisiológicas da cavidade bucal. Este volume de líquido, fluindo continuamente, durante 15 min. não deslocou as partículas da superfície da mucosa, ao mesmo tempo que intumesceu as partículas sem desintegração. A mucoadesão foi atribuída ao revestimento de Qt. Contudo após este tempo não pode ser descartado o fenômeno de entrelaçamento das cadeias do alginato com a mucina.

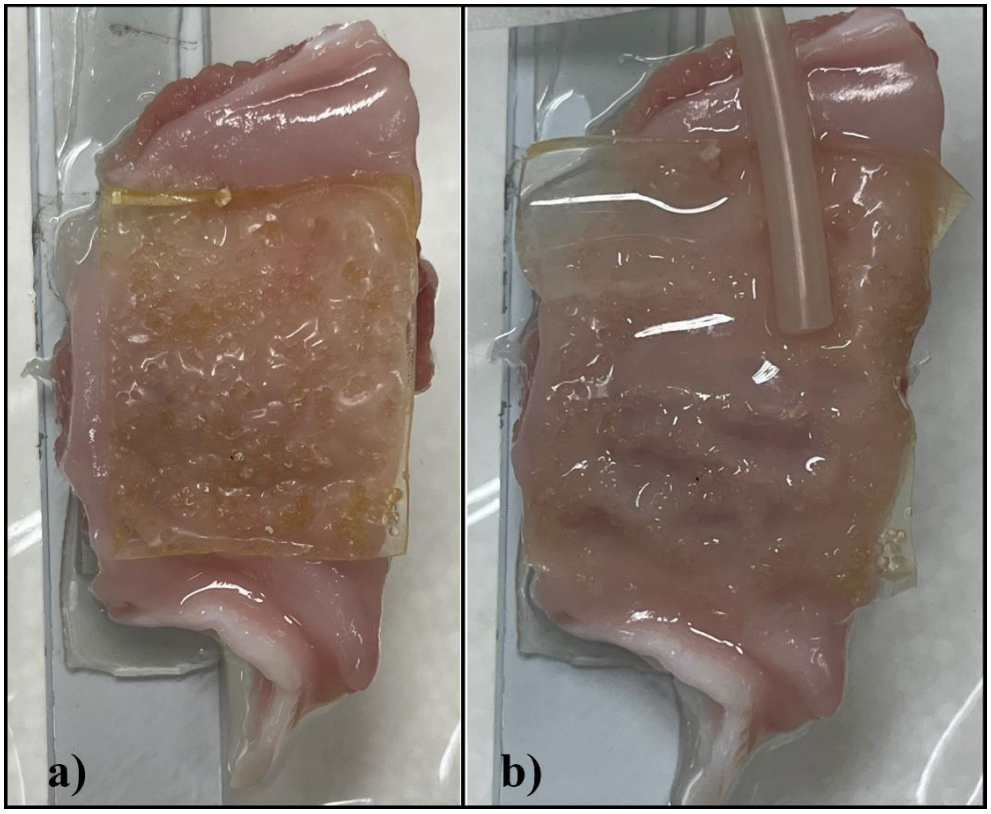
Figura 34 – Fotografia ilustrativa do teste de mucoadesão *ex vivo* (Painel a) das partículas secas em mucosa suína e (Painel b) ao final do teste todas as partículas permaneceram aderidas à mucosa mesmo após intumescimento. A amostra da mucosa estava aderida ao aparato e a cânula da bomba peristáltica cuidadosamente posicionada sobre a mucosa para permitir que o fluxo percorresse toda a superfície.



Fonte: Acervo próprio.

Na Figura 35 (Painel a) a imagem mostra o filme antes do início do teste sobre a mucosa hidratada; o Painel-b mostra o filme ao final do teste (1,3 $mL.min^{-1}$ de FSS). Este volume de líquido, fluindo continuamente, durante 120 min não deslocou as partículas da superfície do filme. No final deste tempo o filme intumescido desintegrou por perda gradual de massa. No entanto, as partículas permaneceram aderidas, com expansão de volume, sobre a superfície da mucosa ao final dos 120 min. A mucoadesão do filme e das partículas obedeceu ao mesmo fenômeno descrito anteriormente; ou seja, a interação eletrostática das moléculas de Qt com a mucina e o entrelaçamento das cadeias poliméricas do filme e da quitosana com a mucina.

Figura 35 – Fotografia ilustrativa do teste de mucoadesão *ex vivo* (Painel a) do filme com partículas em mucosa suína e (Painel b) ao final do teste, o filme intumescido. A amostra da mucosa estava aderida ao aparato e a cânula da bomba peristáltica cuidadosamente posicionada sobre a mucosa para permitir que o fluxo percorresse toda a superfície.



Fonte: Acervo próprio.

Contudo o que se observou foi o intumescimento completo do filme e posteriormente o intumescimento das partículas, seguido de desintegração gradual. Este resultado corrobora com resultados do perfil de liberação (Figura 33), onde ocorreu um “burst” de liberação provavelmente dos fármacos dispersos na matriz polimérica (alginato de cálcio) seguido da liberação sustentada por cerca de 6 horas.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise dos resultados mostrou que a metodologia foi adequada para a preparação das partículas de alginato de cálcio por reticulação ionotrópica.

O processo de preparação, usando fluidização descendente, gerou partículas em escala micrométrica da ordem de 500 µm. A associação destas técnicas mostrou que o método utilizado é de baixo custo, reprodutível e tem potencial para ser escalonado e para obtenção de partículas com diâmetros micrométricos e sub-micrométricos. Além disso, este sistema particulado mostrou propriedades para funcionalização e direcionamento a um alvo específico.

Os filmes preparados com uma mistura polimérica (HPMC K100M e K4M, AGAR e Qt adicionado de PEG 400) apresentaram propriedades físico-mecânicas adequadas para uso bucal com mucoadesão e para transporte das partículas e resistência hidrolítica tempo determinado para FSS.

Os testes em FSS mostram que as partículas mantiveram as propriedades mucoadesivas e de desintegração, bem como permitiram a liberação modificada do fármaco.

7 CONCLUSÃO

A associação do sistema particulado por geleificação ionotrópica associado a filmes poliméricos ambos obtidos com material biocompatível e preparado em meio aquoso para veiculação de fármacos (LID, BZD, N-AC) é promissor para administração bucal e liberação modificada e simultânea de fármacos com propriedades anestésica, anti-inflamatória e fluidificante / antioxidante. Os resultados mostram que as partículas contendo fármacos, transportadas pelo filme, promoveu um sistema de liberação modificada com “burst” de liberação nos primeiros 30 min., e uma liberação sustentada entre 6 e 8h. Este mecanismo de liberação, se comprovado *in-vivo*, trará resultados terapêuticos e bem-estar para pacientes com mucosite oral.

REFERÊNCIAS

ABOUREHAB, Mohammad A S *et al.* Alginate as a Promising Biopolymer in Drug Delivery and Wound Healing: A Review of the State-of-the-Art. **International Journal of Molecular Sciences**, Basiléia, v. 23, n. 9035, p. 1–57, 2022.

ABRUZZO, Angela *et al.* Mucoadhesive buccal films for local delivery of Lactobacillus brevis. **Pharmaceutics**, Basiléia, v. 12, n. 241, p. 1–13, 2020.

ALQUADEIB, Bushra T.; ELTAHIR, Eram K.D.; ALAGILI, Modhi F. The oral administration of lidocaine HCL biodegradable microspheres: Formulation and optimization. **International Journal of Nanomedicine**, Macclesfield, v. 15, p. 857–869, 2020.

ALVES, Thais F.R. *et al.* Bilayer mucoadhesive buccal film for mucosal ulcers treatment: Development, characterization, and single study case. **Pharmaceutics**, Basiléia, v. 12, n. 7, p. 1–24, 2020.

ALVES, Thais *et al.* Formulation and evaluation of thermoresponsive polymeric blend as a vaginal controlled delivery system. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, Nova Iorque, v. 86, n. 3, p. 536–552, 2018.

BALDOCK, G *et al.* Pharmacokinetics of benzydamine after intravenous, oral, and topical doses to human subjects. **Biopharmaceutics & Drug Disposition**, Hoboken (Nova Jersey), v. 12, n. 7, p. 481–492, 1991.

BEECHAM, Gabriel B; NESSEL, Trevor A; GOYAL, Amandeep. **Lidocaine**. Treasure Island (FL): StatsPearls Publishing, 2022.

BEPPU, Maris M.; ARRUDA, Eduardo J.; SANTANA, Cesar C. Synthesis and characterization of dense and porous structures of chitosan. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Carlos (SP), v. 9, n. 4, p. 163–169, 1999.

BOBO, Daniel *et al.* Nanoparticle-Based Medicines: A Review of FDA-Approved Materials and Clinical Trials to Date. **Pharmaceutical Research**, Nova Iorque, v. 33, n. 10, p. 2373–2387, 2016.

BRASIL. **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos**. Brasília: Agência de Vigilância Sanitária, 2004. v. 1

CARDA, Carmen *et al.* A structural and functional salivary disorders in type 2 diabetic patients. **Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal**, Valência, v. 11, n. 4, p. 209–214, 2006.

ÇENGEL, Yunus A.; CIMBALA, John M. **Fluid Mechanics: fundamentals and applications.** Nova Iorque: McGraw-Hill, 2021.

CHUNG, Ying Chien; CHEN, Chih Yu. Antibacterial characteristics and activity of acid-soluble chitosan. **Bioresource Technology**, Amsterdã, v. 99, n. 8, p. 2806–2814, 2008.

DA SILVA, Eduardo Liberato *et al.* Efficacy of topical non-steroidal immunomodulators in

the treatment of oral lichen planus: a systematic review and meta-analysis. **Clinical oral investigations**, Germany, v. 25, n. 9, p. 5149–5169, 2021.

DAWES, Colin. Estimates , from salivary analyses , of the turnover time of the oral mucosal epithelium in humans and the number of bacteria in an edentulous mouth. **Archives of Oral Biology**, Amsterdã, v. 48, p. 329–336, 2003.

DE FLORA, Silvio; CESARONE, Carmelo F.; IZZOTTI, Alberto. Chemistry and Pharmacokinetics of N-acetylcysteine. **Alternative Medicine Review**, Nova Iorque, v. 5, n. 5, p. 467–471, 2000.

DHANIKULA, Anand Babu; PANCHAGNULA, Ramesh. Development and characterization of biodegradable chitosan films for local delivery of paclitaxel. **AAPS Journal**, Columbia, v. 6, n. 3, p. 1–12, 2004.

DIMA, Cristian *et al.* The kinetics of the swelling process and the release mechanisms of Coriandrum sativum L. essential oil from chitosan/alginate/inulin microcapsules. **Food Chemistry**, Amsterdã, v. 195, p. 39–48, 2016.

DINIZ, Flavia Resende *et al.* Silver nanoparticles-composing alginate/gelatine hydrogel improves wound healing in vivo. **Nanomaterials**, Basiléia, v. 10, n. 390, p. 1–16, 2020.

EGHTEDARI, Yas *et al.* The role of topical N-acetylcysteine in ocular therapeutics. **Survey of Ophthalmology**, Amsterdã, v. 67, n. 2, p. 608–622, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2021.07.008.

EL-FEKY, Gina S. *et al.* Mucosal co-delivery of ketorolac and lidocaine using polymeric wafers for dental application. **Drug Delivery**, Milton Park (Oxfordshire), v. 25, n. 1, p. 35–42, 2018.

EL-KAMEL, Amal H. In vitro and in vivo evaluation of Pluronic F127-based ocular delivery system for timolol maleate. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdã, v. 241, p. 47–55, 2002.

EL-REFAIE, Wessam M *et al.* Novel curcumin-loaded gel-core hyaluosomes with promising burn-wound healing potential: Development, in-vitro appraisal and in-vivo studies. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdã, v. 486, n. 1–2, p. 88–98, 2015.

ELAD, Sharon *et al.* MASCC/ISOO clinical practice guidelines for the management of mucositis secondary to cancer therapy. **Cancer**, Hoboken (Nova Jersey), v. 126, n. 19, p. 4423–4431, 2020.

GÅSERØD, Olav; SMIDSRØD, Olav; SKJÅK-BRÆK, Gudmund. Microcapsules of alginate-chitosan — I. A quantitative study of the interaction between alginate and chitosan. **Biomaterials**, Amsterdã, v. 19, p. 1815–1825, 1998.

GHOLAMI, Neda *et al.* Effect of stress, anxiety and depression on unstimulated salivary flow rate and xerostomia. **J Dent Res Dent Clin Dent Prospects**, Tabriz (Irã), v. 11, n. 4, p. 247–252, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.15171/joddd.2017.043.

GUARVE, Kumar; KRIPLANI, Priyanka. HPMC- A Marvel Polymer for Pharmaceutical Industry-Patent Review. **Recent Advances on Drug Delivery & Formulation**, Sharjah

(Emirados Árabes Unidos), v. 15, n. 1, p. 46–58, 2021.

HINES, Robert *et al.* Use of lidocaine patch 5% for chronic low back pain: A report of four cases. **Pain Medicine**, Columbia, v. 3, n. 4, p. 361–365, 2002.

JILLANI, Umair *et al.* Design and Characterization of Agarose/HPMC Buccal Films Bearing Ondansetron HCl in Vitro and in Vivo: Enhancement Using Iontophoretic and Chemical Approaches. **BioMed Research International**, Londres, v. 2022, p. 1–17, 2022.

KOTTKE, Dina *et al.* Manufacturing and characterisation of a novel composite dosage form for buccal drug administration. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdã, v. 15, n. 589, p. 119839, 2020.

KUKOC-MODUN, Lea; RADIĆ, Njegomir. Spectrophotometric Determination of N-Acetyl-L-Cysteine and N-(2-Mercaptopropionyl)-Glycine in Pharmaceutical Preparations. **International Journal of Analytical Chemistry**, Londres, v. 2011, n. 2, p. 1–6, 2011.

LACERDA, Loreana *et al.* Development and evaluation of pH-sensitive sodium alginate/chitosan microparticles containing the antituberculosis drug rifampicin. **Materials Science and Engineering C**, Amsterdã, v. 39, n. 1, p. 161–167, 2014.

LANDAU, Ralph; ACHILLADELIS, Basil; SCRIABINE, Alexander. **Pharmaceutical innovation**. Philadelphia, PA: Chemical Heritage Press, 1999-. ISSN 22108807.v. 1

LASRAM, Mohamed Montassar *et al.* A review on the possible molecular mechanism of action of N-acetylcysteine against insulin resistance and type-2 diabetes development. **Clinical Biochemistry**, Amsterdã, v. 48, n. 16–17, p. 1200–1208, 2015.

LISCIANI, R.; BARCELLONA, P. Scorza; SILVESTRINI, B. Researches on the topical activity of benzydamine. **European Journal of Pharmacology**, Amsterdã, v. 3, n. 2, p. 157–162, 1968.

LOUREIRO, Kahynna Cavalcante *et al.* Antibacterial activity of chitosan / collagen membranes containing red propolis extract. **Pharmazie**, Berlim, v. 75, n. 2, p. 75–81, 2020.

MARKWALTER, Chester E. *et al.* Flash nanoprecipitation for the encapsulation of hydrophobic and hydrophilic compounds in polymeric nanoparticles. **Journal of Visualized Experiments**, Cambridge, v. 2019, n. 143, p. 1–13, 2019.

MEKHEMAR, Nashwa Abdallah *et al.* Comparative study between benzydamine hydrochloride gel , lidocaine 5 % gel and lidocaine 10 % postoperative sore throat. **Brazilian Journal of Anesthesiology (English edition)**, Amsterdã, v. 66, n. 3, p. 5–11, 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.bjane.2014.09.007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Relação Nacional de Medicamentos Essenciais Rename 2022**. Brasília: [*s. n.*], 2022. Disponível em: http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/dezembro/17/170407M2018final.pdf.

MISHRA, Ashwani; PATHAK, A.K. **Plasticizers: A Vital Excipient in Novel Pharmaceutical Formulations**. Gwalior (India): [*s. n.*], 2017. v. 7

MORALES, Javier O.; MCCONVILLE, Jason T. Manufacture and characterization of

mucoadhesive buccal films. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Amsterdã, v. 77, n. 2, p. 187–199, 2011.

MUKHOPADHYAY, Rohan *et al.* Polymers in designing the mucoadhesive films: A comprehensive review. **International Journal of Green Pharmacy**, Mumbai, v. 12, n. 2, p. S330–S344, 2018.

NAMANGKALAKUL, Worachat *et al.* Activity of chitosan antifungal denture adhesive against common Candida species and Candida albicans adherence on denture base acrylic resin. **Journal of Prosthetic Dentistry**, Amsterdã, v. 123, n. 1, p. 181.e1-181.e7, 2020.

OLIVEIRA, Daniele Martins de Lima *et al.* Double membrane based on lidocaine-coated polymyxin-alginate nanoparticles for wound healing: In vitro characterization and in vivo tissue repair. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdã, v. 591, p. 120001, 2020.

OLIVEIRA, Isabel *et al.* Promising biomolecules. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, Londres, v. 1059, p. 189–205, 2018.

OMMATI, Mohammad Mehdi *et al.* N-acetyl cysteine treatment mitigates biomarkers of oxidative stress in different tissues of bile duct ligated rats. **Stress**, Milton Park (Oxfordshire), v. 24, n. 2, p. 213–228, 2021.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Web Annex A. WHO Model List of Essential Medicines - 23rd List, 2023. *In*: WORLD HEALTH ORGANIZATION; 2023 (WHO/MHP/HPS/EML/2023.02) (org.). **The selection and use of essential medicines 2023: Executive summary of the report of the 24th WHO Expert Committee on the Selection and Use of Essential Medicines, 24-28 April**. Geneva: World Health Organization, 2023. p. 71.

PASSALI, Desiderio *et al.* Benzydamine hydrochloride for the treatment of sore throat and irritative/inflammatory conditions of the oropharynx: a cross-national survey among pharmacists and general practitioners. **BMC Primary Care**, Londres, v. 23, n. 1, p. 1–12, 2022.

PEI, Yanping *et al.* Biological activities and potential oral applications of N-acetylcysteine: Progress and prospects. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, Londres, v. 2018, p. 14, 2018.

PESTOVSKY, Yuri; MARTÍNEZ-ANTONIO, Agustino. The Synthesis of Alginate Microparticles and Nanoparticles. **Drug designing & Intellectual Properties International Journal**, Nova Iorque, v. 3, n. 1, p. 293–327, 2019.

POPA, Elena Geta; REIS, Rui Luís; GOMES, Manuela Estima. Seaweed polysaccharide-based hydrogels used for the regeneration of articular cartilage. **Critical Reviews in Biotechnology**, Nova Iorque, v. 35, n. 3, p. 410–424, 2015.

PORTO, Isabel Cristina Celerino de Moraes; ALMEIDA, Amanda Gomes Amaral. Avaliação em curto e médio prazo da sorção e da solubilidade de resinas compostas à base de metacrilato e de silorano em saliva artificial. **Revista de Odontologia da UNESP**, Araraquara, v. 42, n. 3, p. 176–181, 2013.

PREDA, Gabriela *et al.* An in vitro study of the release capacity of the local anaesthetics from

siloxane matrices. **Romanian Journal of Anaesthesia and Intensive Care**, Cluj-Napoca (Romênia), v. 23, n. 2, p. 123–131, 2016.

PUSHP, Pallavi *et al.* Plasticized poly(vinylalcohol) and poly(vinylpyrrolidone) based patches with tunable mechanical properties for cardiac tissue engineering applications. **Biotechnology and Bioengineering**, Hoboken (Nova Jersey), v. 118, n. 6, p. 2312–2325, 2021.

QUANE, Pamela; GRAHAM, Garry; ZIEGLER, John B. Pharmacology of benzydamine. **Inflammopharmacology**, Dordrecht, v. 6, n. 2, p. 95–107, 1998.

RASTOGI, Prasansha; KANDASUBRAMANIAN, Balasubramanian. Review on alginate-based hydrogel bio-printing for application in tissue engineering. **Biofabrication**, Bristol, v. 11, n. 4, 2019.

RAUSCHKOLB, Jean Carlo. **Estimação dos parâmetros da equação de Mark-Houwink de polietilenoglicol empregando massa molecular e viscosidade intrínseca em diferentes temperaturas**. 2018. 1–71 f. - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - URI - Campus Erechim, Erechim, 2018.

ROCHA NETO, João Batista Maia *et al.* Controlling antimicrobial activity and drug loading capacity of chitosan-based layer-by-layer films. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdã, v. 172, p. 154–161, 2021.

ROY, Jagadish Chandra *et al.* Chitosan–carboxymethylcellulose-based polyelectrolyte complexation and microcapsule shell formulation. **International Journal of Molecular Sciences**, Basiléia, v. 19, n. 9, 2018.

SAN MARTIN, Sebastian *et al.* The effects of fi brin and fi brin-agarose on the extracellular matrix pro fi le of bioengineered oral mucosa. **J Tissue Eng Regen Med**, Hoboken (Nova Jersey), v. 7, n. 1, p. 10–19, 2011.

SANYANG, Muhammed Lamin *et al.* Effect of plasticizer type and concentration on physical properties of biodegradable films based on sugar palm (arenga pinnata) starch for food packaging. **J Food Sci Technol**, Londres, v. 53, n. 1, p. 326–336, 2016.

ŞENEL, Sevda; ÖZDOĞAN, Ayben Işılay; AKCA, Gülçin. Current status and future of delivery systems for prevention and treatment of infections in the oral cavity. **Drug Delivery and Translational Research**, Nova Iorque, v. 11, n. 4, p. 1703–1734, 2021.

SEVERINO, Patrícia *et al.* Production and characterization of mucoadhesive membranes for anesthetic vehiculation. **Chemical Engineering Transactions**, Milão, v. 64, p. 421–426, 2018.

SHARMA, Deepak; SINGH, Rajindra; GARG, Rajeev. Development and validation of stability indicating UV spectro-photometric method for the estimation of benzydamine hydrochloride in bulk and in pharmaceutical dosage form: a novel analytical technique for conducting quality control tests. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, Panchkula, v. 9, n. 2, p. 678–686, 2018.

SIZÍLIO, Rosangela H. *et al.* Chitosan/pvp-based mucoadhesive membranes as a promising delivery system of betamethasone-17-valerate for aphthous stomatitis. **Carbohydrate**

Polymers, Amsterdã, v. 190, p. 339–345, 2018.

SMILKENSTEIN, Martin *et al.* Efficacy of oral N-acetylcysteine in the treatment of acetaminophen overdose. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 319, n. 24, p. 1557–1562, 1988.

SONIS, Stephen T. Oral mucositis. **Anti-Cancer Drugs**, Filadélfia, v. 22, n. 7, p. 607–612, 2011.

SONIS, Stephen T. Pathobiology of oral mucositis: Novel insights and opportunities. **Journal of Supportive Oncology**, Maryland Heights, v. 5, n. 9 (supl. 4), p. 3–11, 2007.

SONIS, Stephen T. The pathobiology of mucositis. **Nature Reviews Cancer**, Nova Iorque, v. 4, n. 4, p. 277–284, 2004.

SUAREZ, Willian Toito. **Desenvolvimento de Procedimentos Analíticos para a Determinação de N-acetilcisteína em Produtos Farmacêuticos**. 2005. 102 f. - Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia - Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2005.

SUDEENDRA, Bhat R *et al.* Development and characterization of bioadhesive vaginal films of clotrimazole for vaginal candidiasis Development and characterization of bioadhesive vaginal films of clotrimazole for vaginal candidiasis. **ACTA Pharmaceutica Sciencia**, Istambul, v. 52, p. 417–426, 2010.

SUO, Meng *et al.* Lidocaine loaded nanostructured lipid carriers for prolonged local anesthesia: in vitro and in vivo studies. **Journal of Dispersion Science and Technology**, Columbia, v. 43, n. 5, p. 682–689, 2020.

THOMSON, Pate *et al.* Lidocaine pharmacokinetics in advanced heart failure, liver disease, and renal failure in humans. **Annals of internal medicine**, Filadélfia, v. 78, n. 4, p. 499–508, 1973.

TIMUR, Selin Seda *et al.* Localized drug delivery with mono and bilayered mucoadhesive films and wafers for oral mucosal infections. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdã, v. 559, n. 2019, p. 102–112, 2019.

TRIVEDI, Tushar J.; RAO, K. Srinivasa; KUMAR, Arvind. Facile preparation of agarose-chitosan hybrid materials and nanocomposite ionogels using an ionic liquid via dissolution, regeneration and sol-gel transition. **Green Chemistry**, Washington DC, v. 16, n. 1, p. 320–330, 2014.

USOV, Anatolii. Polysaccharides of the red algae. **Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry**, Nova Iorque, v. 65, p. 115–217, 2011.

VALENCIA-SULLCA, Cristina *et al.* Chitosan films containing encapsulated eugenol in alginate microspheres. **Food Hydrocolloids**, Amsterdã, v. 151, 2024.

VASILIU, Silvia *et al.* Chitosan-Based Polyelectrolyte Complex Hydrogels for Biomedical Applications. *In*: POLYMERS AND POLYMERIC COMPOSITES: A REFERENCE SERIES. 1. ed. Nova Iorque: Springer International Publishing, 2018. p. 1–31.

VILLA, Alessandro; SONIS, Stephen T. Mucositis: Pathobiology and management. **Current Opinion in Oncology**, Filadélfia, v. 27, n. 3, p. 159–164, 2015.

VILLA, Alessandro; SONIS, Stephen T. Pharmacotherapy for the management of cancer regimen-related oral mucositis. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, Milton Park (Oxfordshire), v. 17, n. 13, p. 1801–1807, 2016.

WAN, Qiong *et al.* Preparation and Characterization of Temperature/pH Dual-Responsive Gel Spheres for Immobilizing Nitro Bacteria. **ACS Omega**, Washington DC, v. 7, n. 7, p. 5646–5656, 2022.

WANG, Shimeng *et al.* Lichen planus pemphigoides induced by anti-PD-1 antibody: A case only involved in oral mucosa with excellent topical treatment efficiency. **Journal of Cutaneous Pathology**, Hoboken (Nova Jersey), v. 51, p. 114–118, 2023.

YAMAMURA, Keiko *et al.* Oral mucosal adhesive film containing local anesthetics: In vitro and clinical evaluation. **Journal of Biomedical Materials Research**, Hoboken (Nova Jersey), v. 43, n. 3, p. 313–317, 1998.

YAPRAK KARAVANA, Sinem; GÜNERI, Pelin; ERTAN, Gökhan. Benzydamine hydrochloride buccal bioadhesive gels designed for oral ulcers: Preparation, rheological, textural, mucoadhesive and release properties. **Pharmaceutical Development and Technology**, Nova Iorque, v. 14, n. 6, p. 623–631, 2009.

ZHANG, Wenliang *et al.* Synthesis and Applications of Carboxymethyl Cellulose Hydrogels. **Gels**, Basiléia, v. 8, n. 529, p. 1–9, 2022.

ZHENG, Ting *et al.* Preparation and Properties of Highly Electroconductive and Heat-Resistant CMC / Buckypaper / Epoxy Nanocomposites. **Nanomaterials**, Basiléia, v. 8, n. 969, p. 1–15, 2018.

ZIELIŃSKA, Aleksandra *et al.* Properties, extraction methods, and delivery systems for curcumin as a natural source of beneficial health effects. **Medicina**, Basiléia, v. 56, n. 7, p. 1–19, 2020.