



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

AYLLA MESQUITA PESTANA

**AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES MUCOADESIVAS, MECÂNICAS
E REOLÓGICAS *IN VITRO* DE HIDROGÉIS PARA USO EM CAVIDADE
BUCAL**

Piracicaba

2021

AYLLA MESQUITA PESTANA

**AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES MUCOADESIVAS, MECÂNICAS
E REOLÓGICAS *IN VITRO* DE HIDROGÉIS PARA USO EM CAVIDADE
BUCAL**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestra em Odontologia, na área de concentração de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica.

Orientadora: Profa. Dra. Michelle Franz-Montan Braga Leite

Coorientadora: Dra. Giovana Maria Fioramonti Calixto Balian

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA ALUNA AYLLA MESQUITA PESTANA E ORIENTADA PELA PROFA. DRA. MICHELLE FRANZ MONTAN BRAGA LEITE.

Piracicaba

2021

Agências de Fomento e nºs do processo: CAPES, 8887.341997/2019-00 e 88887.480042/2020-00
CNPq, 130391/2020-4

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Marilene Girello - CRB 8/6159

P439a Pestana, Aylla Mesquita, 1994-
Avaliação das propriedades mucoadesivas, mecânicas e reológicas *in vitro*
de hidrogéis para uso em cavidade bucal / Aylla Mesquita Pestana. –
Piracicaba, SP : [s.n.], 2021.

Orientador: Michelle Franz Montan Braga Leite.
Coorientador: Giovana Maria Fioramonti Calixto Balian.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade
de Odontologia de Piracicaba.

1. Mucosa bucal. 2. Odontologia. 3. Hidrogéis. 4. Adesão. 5. Tratamento. I.
Franz-Montan, Michelle, 1982-. II. Balian, Giovana Maria Fioramonti. III.
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba.
IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Evaluation of *in vitro* mucoadhesive, mechanical and rheological properties of hydrogels for use in the oral cavity

Palavras-chave em inglês:

Mouth mucosa

Dentistry

Hydrogels

Adesion

Treatment

Área de concentração: Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica

Titulação: Mestra em Odontologia

Banca examinadora:

Michelle Franz Montan Braga Leite [Orientador]

Marlus Chorilli

Luciana Salles Branco de Almeida

Data de defesa: 13-09-2021

Programa de Pós-Graduação: Odontologia

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-7494-9900>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/0878628891488344>



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 13 de setembro de 2021, considerou a candidata AYLLA MESQUITA PESTANA aprovada.

PROF^a. DR^a. MICHELLE FRANZ MONTAN BRAGA LEITE

PROF^a. DR^a. LUCIANA SALLES BRANCO DE ALMEIDA

PROF. DR. MARLUS CHORILLI

A Ata da defesa, assinada pelos membros da Comissão Examinadora, consta no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

DEDICATÓRIA

Com todo amor e de todo o coração, à minha família, em especial à minha avó, minha segunda mãe, Maria dos Remédios Sousa Pestana, que me deu forças, acreditou em cada passo meu e me fez confiar cada vez mais no meu potencial.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, na pessoa do diretor, Prof. Dr. Francisco Haiter Neto.

Ao Departamento de Biociências da FOP-UNICAMP, na pessoa de sua Chefe Profa. Dra. Cínthia Pereira Machado Tabchoury.

Aos professores da área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica, Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo e Profa. Dra. Karina Cogo Muller.

À Coordenadoria de Pós-Graduação (CPG) da FOP-UNICAMP, na pessoa de sua coordenadora Profa. Dra. Karina Gonzales Silvério Ruiz

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, na pessoa de sua coordenadora Profa. Dra. Michelle Franz Montan Braga Leite.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, na pessoa do Prof. Dr. Marlus Chorilli, coordenador do laboratório de Farmacotécnica do Departamento de Fármacos e Medicamentos, pela doação dos polímeros utilizados para preparação dos hidrogéis utilizados no presente estudo.

À Profa. Dra. Ângela Maria Moraes da Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP, e seu orientado Lucas Camargo pela contribuição na idealização de parte deste estudo e levantamento bibliográfico inicial necessário para a realização do planejamento fatorial realizado neste trabalho.

Ao Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo pela contribuição na análise estatística dos resultados deste trabalho.

Aos professores das bancas de qualificação de primeira e de segunda fase, Prof. Dr. Marcos Bruschi, Prof. Dr. Bruno da Fonseca dos Santos e Profa. Dra. Lígia Nunes, pelas valiosas e essenciais contribuições.

Aos técnicos dos laboratórios de Fisiologia e Farmacologia Fábio Padilha e Eliane Melo, pela amizade, conversas entusiasmadas, solicitude e orientações.

À Sra. Érica Alessandra Sinhoreti, à Sra. Ana Paula Carone e à Sra. Raquel Quintana Sachi e Leandro Viganó, membros da CPG da FOP-UNICAMP, e à Srta. Elisa dos Santos, secretária do PPG-O da FOP-UNICAMP pela cordialidade, solicitude e presteza de seus serviços.

Às agências de fomento à pesquisa. O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), processo nº 130391/2020-4 e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – código de financiamento 001.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Às minhas orientadoras, Profas. Dras. Michelle Franz Montan Braga Leite e Giovana Maria Fioramonte Calixto Balian, grata pela confiança em mim depositada, pela orientação, conselhos, conhecimentos transmitidos, pela atenção e por fazerem despertar em mim, cada vez mais, o amor pela ciência. Agradeço, sobretudo, pela amizade construída e pelo agradável convívio diário.

Aos meus pais, Keila Regina Mesquita Pestana e Antonio de Jesus Pestana Filho, por todo amor, carinho, confiança e atenção. Vocês me educaram de maneira brilhante e me deram todo alicerce para chegar até aqui.

Aos meus padrinhos, Maria do Rosário de Sousa e Nereo Cardoso de Matos Júnior, por serem verdadeiros segundos pais e me darem todo o amor e suporte que eu precisei, durante esse período de mestrado e ao longo da vida.

Ao meu irmão, Arthur Mesquita Pestana, por sempre me encorajar a seguir, principalmente nos meus momentos de fraqueza e por ter me dado um sobrinho lindo, Heitor Fontenele Pestana, para amar.

Aos meus amigos e companheiros de moradia, Ana Ferreira Souza, Camilla Karoline de Carvalho Beckman e Iago Torres Cortês de Sousa, pelo convívio diário, companheirismo, amor e atenção.

Às amigas conquistadas nesse período de mestrado, em especial Ademir Melo Leite Filho, Ive Bartelli Camatta e Rosana Rodrigues Marana, vocês são o presente mais precioso que conquistei nos últimos anos. Obrigada pelo apoio e suporte em todos os momentos que precisei.

Aos meus amigos de São Luís, André Oliveira Pestana, Júlia Michelle Sousa dos Santos, Júlia Walleska Dias Castro, Magna Fonseca Protásio, Marcio Santos de Carvalho e Tainá Santini Fernandes, vocês são sinônimo de leveza para os meus dias e paz para o meu coração.

RESUMO

Os hidrogéis (HG) têm sido investigados para a administração tópica de fármacos em mucosa bucal pois apresentam elevado tempo de contato com a mucosa e, assim, aumentam a disponibilidade, possibilitando efeito local e sistêmico. Nesse contexto, a avaliação da capacidade mucoadesiva de diferentes polímeros empregados na obtenção de HG é essencial para garantir um delineamento racional de sistemas mucoadesivos para via tópica bucal. Assim, o objetivo do presente estudo foi comparar as propriedades mucoadesivas, mecânicas e reológicas de diferentes HG compostos por Carbopol® 974P (CBP), Quitosana (QUIT), Hidroxietilcelulose de Sódio (HEC), Carboximetilcelulose de Sódio (CMC), Goma Xantana (GX), Ácido Hialurônico (AH), Alginato de Sódio (AS) e Policarbofil (PCB) a 5%, comumente empregados no desenvolvimento de formulações para uso bucal. Como objetivos secundários, este estudo otimizou a condição experimental que resultou em maior capacidade mucoadesiva *in vitro* utilizando um analisador de textura (TA.XT Plus), além de fornecer valores de referência das variáveis dependentes força máxima mucoadesiva (F_{max}) e trabalho de mucoadesão (T_{muc}), que podem ser afetados pela força de contato (F), tempo de contato (T) e/ou velocidade da sonda (V), variáveis independentes ajustadas no equipamento, dificultando a comparação entre formulações de diferentes estudos. A padronização da metodologia para o ensaio de mucoadesão envolveu um planejamento estatístico fatorial 2^3 (8 variáveis experimentais e 1 triplicata na condição central pré-determinada: $F = 0,5 \text{ N}$, $V = 1 \text{ mm/s}$, $T = 30 \text{ s}$). Utilizou-se uma formulação comercial e mucosa jugal suína fresca como substrato. $F = 0,552 \text{ N}$, $T = 10 \text{ s}$ e $V = 2 \text{ mm/s}$ garantiram a máxima capacidade mucoadesiva da formulação com valores de referência de $0,170 \text{ N}$ para F_{max} e $0,659 \text{ N.s}$ para T_{muc} , sendo, então, as condições estabelecidas para a avaliação da capacidade mucoadesiva dos HG. Os parâmetros mecânicos: dureza (facilidade de remoção da embalagem), compressibilidade (facilidade de espalhabilidade), adesividade (força de atração) e coesividade (estabilidade da formulação), utilizando TA.XT Plus no modo TPA (*Texture Profile Analysis*) e o comportamento reológico de fluxo e oscilatório foram avaliados. O hidrogel de CBP apresentou o maior T_{muc} em relação ao valor de referência, podendo ser considerado o hidrogel mais mucoadesivo para incorporação em fármacos para administração tópica bucal, além de ter apresentado o maior valor de adesividade (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$). Os HG de PCB, CMC e GX apresentaram os menores valores de dureza, garantindo a fácil remoção dessas formulações da embalagem. A análise de compressibilidade mostrou todos os HG com valores muito baixos, caracterizando-os como formulações de baixa resistência às tensões de cisalhamento no momento da aplicação. AS, QUIT e CMC, apresentaram os maiores valores de coesividade, portanto, são caracterizados como géis de alta estabilidade molecular. Todos os HG são elásticos e pseudoplásticos, características reológicas importantes para adequada aplicação bucal. Além disso, pela correlação de Spearman ($p < 0,05$), a propriedade “adesividade” não apresentou correlação com a capacidade mucoadesiva das formulações, não sendo possível utilizá-la como preditor de mucoadesão. Esse estudo padronizou condições experimentais para avaliar mucoadesão de HG além de fornecer suas características reológicas e mecânicas para otimizar a escolha de HG que podem resultar em melhor eficácia clínica.

Palavras-chave: Mucosa oral; odontologia; hidrogéis; adesão; tratamento

ABSTRACT

Hydrogels (HG) have been investigated for the topical administration of drugs to the oral mucosa because they have a long time of contact with the mucosa and, thus, increase bioavailability, enabling local and systemic effects. In this context, the assessment of the mucoadhesive capacity of different GH is essential to ensure a rational design of mucoadhesive systems for the topical oral route. Thus, the aim of the present study was to compare the mucoadhesive, mechanical and rheological properties of different HG composed of Carbopol® 974P (CBP), Chitosan (QUIT), Sodium Hydroxyethylcellulose (HEC), Sodium Carboxymethylcellulose (CMC), Xanthan Gum (GX), Hyaluronic Acid (HA), Sodium Alginate (AS) and Polycarbophil (PCB) at 5%, commonly used in the development of formulations for oral use. As secondary objectives, this study optimized the experimental condition that resulted in greater in vitro mucoadhesive capacity using a texture analyzer (TA.XT Plus), in addition to providing reference values for the dependent variables maximum mucoadhesive strength (Fmax) and mucoadhesion work (Tmuc), which can be affected by the contact force (F), contact time (T) and/or probe speed (V), independent variables adjusted in the equipment, making it difficult to compare formulations from different studies. The standardization of the methodology for the mucoadhesion test involved a 2³ factorial statistical design (8 experimental variables and 1 triplicate in the predetermined central condition: F = 0.5 N, V = 1 mm/s, T = 30 s). A commercial formulation and fresh porcine jugal mucosa were used as substrate. F = 0.552 N, T = 10 s and V = 2 mm/s guaranteed the maximum mucoadhesive capacity of the formulation with reference values of 0.170 N for Fmax and 0.659 Ns for Tmuc, thus being the conditions established for the assessment of mucoadhesive capacity of the GH. The mechanical parameters: hardness (ease of removal from the package), compressibility (ease of spreading), stickiness (attraction force) and cohesiveness (formulation stability), using TA.XT Plus in TPA mode (Texture Profile Analysis) and behavior flow rheological and oscillatory were evaluated. The CBP hydrogel had the highest Tmuc in relation to the reference value, and can be considered the most mucoadhesive hydrogel for incorporation into drugs for oral topical administration, in addition to having the highest adhesiveness value (Kruskal-Wallis, p<0.05). The PCB, CMC and GX HG had the lowest hardness values, ensuring the easy removal of these formulations from the packaging. The compressibility analysis showed all HG with very low values, characterizing them as low shear strength formulations at the time of application. AS, QUIT and CMC, presented the highest cohesiveness values, therefore, they are characterized as gels with high molecular stability. All HG are elastic and pseudoplastic, important rheological characteristics for proper oral application. Furthermore, according to Spearman's correlation (p<0.05), the property "adhesiveness" was not correlated with the mucoadhesive capacity of the formulations, making it impossible to use it as a predictor of mucoadhesion. This study standardized experimental conditions to evaluate HG mucoadhesion in addition to providing its rheological and mechanical characteristics to optimize the choice of HG that can result in better clinical efficacy.

Keywords: Oral mucosa; dentistry; hydrogels; adhesion; treatment

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Estrutura química do Carbopol 974P.....	17
Figura 2. Estrutura química da Quitosana.....	18
Figura 3. Estrutura química da Hidroxietilcelulose de Sódio.....	18
Figura 4. Estrutura química da Carboximetilcelulose de Sódio.....	19
Figura 5. Estrutura química da Goma Xantana.....	20
Figura 6. Estrutura química do Ácido Hialurônico.....	20
Figura 7. Estrutura química do Alginato de Sódio.....	21
Figura 8. Estrutura química do Policarbofil.....	22
Figura 9. Preparo da mucosa suína para o teste de mucoadesão: (A) separação do epitélio da mucosa suína dos tecidos adjacentes; (B) amostra do epitélio da mucosa fixada no dispositivo de mucoadesão (A/MUC); (C) formulação fixada na sonda A/MUC; (D) a formulação fixada na sonda A/MUC e o suporte imerso em saliva artificial.....	30
Figura 10. Gráfico de superfície da formulação de Omcilon® no que se refere ao estudo do pico da força mucoadesiva (N), de mucoadesão, considerando a velocidade de 1mm/s.....	37
Figura 11. Gráfico de superfície da formulação de Omcilon® no que se refere ao estudo do trabalho de mucoadesão (N.s), considerando a velocidade de 1mm/s.....	38
Figura 12. Design space® (região em amarelo) das formulações de Omcilon® analisadas no planejamento fatorial.....	39
Figura 13. Trabalho de mucoadesão (N.s) dos hidrogéis. Policarbofil (PCF); Hidroxietilcelulose de sódio (HEC); Alginato de sódio (AS); Ácido hialurônico (AH); Carboximetilcelulose de sódio (CMC); Omcilon (OMC); Quitosana (QUIT); Goma Xantana (GX); Carbopol (CBP). $P < 0,05$, Kruskal-Wallis.....	40
Figura 14. Perfil de adesividade das formulações. Policarbofil (PCF); Hidroxietilcelulose de sódio (HEC); Alginato de sódio (AS); Ácido hialurônico (AH); Carboximetilcelulose de sódio (CMC); Omcilon (OMC); Quitosana (QUIT); Goma Xantana (GX); Carbopol (CBP). $P < 0,05$, Kruskal-Wallis.....	41
Figura 15. Perfil de dureza das formulações. Policarbofil (PCF); Hidroxietilcelulose de sódio (HEC); Alginato de sódio (AS); Ácido hialurônico (AH); Carboximetilcelulose de sódio (CMC); Omcilon (OMC); Quitosana (QUIT); Goma Xantana (GX); Carbopol (CBP). $P < 0,05$, Kruskal-Wallis.....	41
Figura 16. Perfil de compressibilidade das formulações. Policarbofil (PCF); Hidroxietilcelulose de sódio (HEC); Alginato de sódio (AS); Ácido hialurônico	

(AH); Carboximetilcelulose de sódio (CMC); Omcilon (OMC); Quitosana (QUIT); Goma Xantana (GX); Carbopol (CBP). P< 0,05, Kruskal-Wallis.....	42
Figura 17. Perfil de coesividade das formulações. Policarbofil (PCF); Hidroxietilcelulose de sódio (HEC); Alginato de sódio (AS); Ácido hialurônico (AH); Carboximetilcelulose de sódio (CMC); Omcilon (OMC); Quitosana (QUIT); Goma Xantana (GX); Carbopol (CBP). p<0,05, Kruskal-Wallis.....	42
Figura 18. Correlação entre trabalho de mucoadesão e adesividade. Policarbofil (PCF); Hidroxietilcelulose de sódio (HEC); Alginato de sódio (AS); Ácido hialurônico (AH); Carboximetilcelulose de sódio (CMC); Omcilon (OMC); Quitosana (QUIT); Goma Xantana (GX); Carbopol (CBP). Correlação de Spearman. P<0,05.....	43
Figura 19. Curvas de fluxo (tensão de cisalhamento versus taxa de cisalhamento) dos hidrogéis. Ácido hialurônico (AH); Alginato de sódio (AS) Carbopol (CBP); Carboximetilcelulose de sódio (CMC); Goma Xantana (GX); Hidroxietilcelulose de sódio (HEC); Omcilon (OMC); Policarbofil (PCF); Quitosana (QUIT).....	45
Figura 20. Variação do módulo de armazenagem G' (símbolos cheios) e de perda G'' (símbolos vazios) em função da frequência dos hidrogéis a 37 °C. Ácido hialurônico (AH); Alginato de sódio (AS) Carbopol (CBP); Carboximetilcelulose de sódio (CMC); Goma Xantana (GX); Hidroxietilcelulose de sódio (HEC); Omcilon (OMC); Policarbofil (PCF); Quitosana (QUIT).....	46

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Condições central e limites superiores e inferiores das condições experimentais de força de contato (N), tempo de contato (s) e velocidade da sonda (s).....	31
Quadro 2. Condições experimentais utilizadas nos ensaios de mucoadesão	32
Quadro 3. Características físico-químicas dos polímeros e pH final dos hidrogéis.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores do pico da força mucoadesiva (N) e trabalho de mucoadesão (N.s) dos 11 diferentes ensaios de mucoadesão realizados com a formulação comercial Omcilon®- A Orabase.....	36
Tabela 2. Correlação entre trabalho de mucoadesão e adesividade. Policarbofil (PCF); Hidroxietilcelulose de sódio (HEC); Alginato de sódio (AS); Ácido hialurônico (AH); Carboximetilcelulose de sódio (CMC); Omcilon (OMC); Quitosana (QUIT); Goma Xantana (GX); Carboximetilcelulose de sódio (CMC); Omcilon (OMC); Quitosana (QUIT); Goma Xantana (GX); Carbopol (CBP). Correlação de Spearman (rS). Intervalo de confiança > 95%. P (two-tailed): teste de dois extremos.....	44
Tabela 3. Valores da viscosidade aparente (η_{ap}) e índice de fluxo (n), valores de tixotropia e para o modelo de Herschel-Bulkley, dos hidrogéis. Ácido hialurônico (AH); Alginato de sódio (AS) Carbopol (CBP); Carboximetilcelulose de sódio (CMC); Goma Xantana (GX); Hidroxietilcelulose de sódio (HEC); Omcilon (OMC); Policarbofil (PCF); Quitosana (QUIT).....	45
Tabela 4. Valores de força do gel (S) e expoente viscoelástico dos hidrogéis. dos hidrogéis. Ácido hialurônico (AH); Alginato de sódio (AS) Carbopol (CBP); Carboximetilcelulose de sódio (CMC); Goma Xantana (GX); Hidroxietilcelulose de sódio (HEC); Omcilon (OMC); Policarbofil (PCF); Quitosana (QUIT).....	47

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DA LITERATURA	17
3	PROPOSIÇÃO	28
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	29
4.1.	Material.....	29
4.2.	Equipamentos.....	29
4.3.	Métodos	30
4.3.1.	Preparo dos tecidos para os ensaios de mucoadesão <i>in vitro</i>	30
4.3.2.	Avaliação <i>in vitro</i> da capacidade de mucoadesiva das formulações	30
4.3.3.	Influência das variáveis experimentais do ensaio de mucoadesão <i>in vitro</i> nas propriedades mucoadesivas.....	31
4.3.4.	Preparo dos hidrogéis.....	32
4.3.5.	Ensaio <i>in vitro</i> de Mucoadesão e Perfil de Textura dos hidrogéis	33
4.3.7.	Determinação do comportamento reológico.....	34
4.4.	Análise estatística	35
5	RESULTADOS.....	36
5.1.	Determinação da condição experimental para o experimento de mucoadesão	36
5.2.	Capacidade mucoadesiva dos hidrogéis para uso em cavidade bucal ..	39
5.3.	Análise de perfil de textura dos hidrogéis para uso em cavidade bucal	40
5.4.	Análise de correlação entre adesividade e trabalho de mucoadesão.....	43
5.5.	Determinação do comportamento reológico dos hidrogéis para uso em cavidade bucal.....	44
5.5.1.	Análise reológica de cisalhamento contínuo (fluxo).....	44
5.5.2.	Análise reológica oscilatória	46
6	DISCUSSÃO	48
7	CONCLUSÃO	56
	REFERÊNCIAS	58
	ANEXO 1	75

1 INTRODUÇÃO

A administração tópica de fármacos na mucosa bucal se destaca, sobretudo, por ser uma via de fácil acesso e não invasiva. Além disso, oferece uma série de vantagens perante à via enteral devido ao fato de evitar o efeito hepático de primeira passagem, a eliminação pré-sistêmica do fármaco no trato gastrointestinal e, assim, sua eventual degradação química (Senel et al., 2000). Outra vantagem relacionada à essa via é que a mucosa bucal, em sua maioria, é altamente vascularizada, o que pode permitir rápida disponibilidade do fármaco, o que a torna adequada tanto para a administração de fármaco com vista à ação local, como um anestésico local, quanto de ação sistêmica, como anti-hipertensivos e ansiolíticos (Baus et al., 2019).

No entanto, a complexidade da barreira da mucosa bucal dificulta a permeação total do fármaco, apesar de ser considerada erroneamente como uma barreira permeável (Franz-Montan et al., 2017a). Além disso, a cavidade bucal apresenta alguns desafios à administração tópica no local que podem reduzir a absorção do fármaco como: fluxo contínuo de saliva, movimentos relacionados a mastigação e a fala, que podem levar a diluição do fármaco e a remoção involuntária da forma farmacêutica a partir do sítio de ação, respectivamente (Franz-Montan et al., 2017a; Franz-Montan et al., 2017b; Hearnden et al., 2012).

Com o objetivo de melhorar a biodisponibilidade dos fármacos administrados por esta via, surgiram várias estratégias, como, por exemplo, o desenvolvimento de sistemas mucoadesivos, os quais proporcionam um contato mais prolongado e íntimo da formulação com a superfície de absorção, resultando na diminuição da frequência de administração e no aumento da disponibilidade do fármaco (Mazzarino et al., 2014).

Diversos estudos demonstraram a eficácia clínica de formulações mucoadesivas para liberação local de fármacos na mucosa oral, como aciclovir (Chaudhary & Verma, 2014), lidocaína (Cavallari et al., 2013), triancinolona acetonida (Ungphaiboon & Maitani, 2001), dentre outros. Dentre estas formulações, destacam-se os estudos envolvendo sistemas mucoadesivos, sobretudo hidrogéis, como promissores para essa via de administração (Fonseca-Santos et al., 2017; Rodero et al., 2018; Salmazi et al., 2015; dos Santos Ramos et al., 2016).

Os hidrogéis são compostos por redes poliméricas tridimensionais reticuladas que podem servir como depósitos de fármacos eficazes para permitir sua entrega local. Os polímeros são capazes de absorver grandes quantidades de água enquanto permanecem

insolúveis devido às interconexões entre as suas cadeias poliméricas individuais (Frade et al., 2018). Além disso, podem ser formados por moléculas hidrofílicas de origem natural, semissintética ou sintética, contendo numerosas funções orgânicas, tais como grupos carboxilas, hidroxilas e aminas, que são capazes de estabelecer ligações químicas com a superfície biológica e, assim, promovendo sua mucoadesão (Bassi da Silva et al., 2018).

Apesar dos estudos envolvendo hidrogéis objetivando administração tópica bucal demonstrarem capacidade mucoadesiva das formulações em desenvolvimento, não existe um ensaio padronizado para essa avaliação e assim, muitos protocolos experimentais são relatados na literatura, o que impede que uma classificação (*ranking*) da capacidade mucoadesiva desses polímeros seja estabelecida.

O poder mucoadesivo de formulações contendo esses tipos de polímeros tem sido avaliado por métodos mecânicos, conhecidos como força de destacamento e trabalho de mucoadesão, que são mensurados por ensaios *in vitro* realizados por meio de um equipamento chamado texturômetro, o qual oferece o entendimento mecanicista da mucoadesão (Bassi da Silva et al., 2018; Bernegossi et al., 2016; Fonseca-Santos et al., 2017; Rodero et al., 2018; Salmazi et al., 2015; dos Santos Ramos et al., 2016).

No entanto, a variabilidade dos parâmetros utilizados nesse teste como a velocidade da sonda, tempo de contato e força de contato podem influenciar o resultado dos parâmetros de mucoadesão e, conseqüentemente, restringir a comparação e a correlação dos resultados entre estes diferentes estudos. Dessa forma, torna-se muito importante entender a influência entre essas variáveis metodológicas para avaliação e comparação das propriedades mucoadesivas das formulações (Bassi da Silva et al., 2018; Baus et al., 2019).

O planejamento fatorial é uma técnica bastante utilizada quando se tem duas ou mais variáveis independentes (fatores). Esta técnica permite avaliar a combinação e influência de todas as variáveis em diferentes níveis, obtendo-se, assim, a análise de cada variável, sujeita aos efeitos ou influências das demais variáveis na resposta de um processo, isto é, capaz de prever a interação entre os fatores (Cunico et al., 2008).

Assim, inicialmente, o presente estudo visa determinar uma condição experimental ideal para ensaios de mucoadesão, determinando valores de referências para comparações futuras. Em seguida, determinar, qual hidrogel formulado a partir de uma variedade de polímeros comumente utilizados no desenvolvimento de formulações tópicas para uso na cavidade bucal, apresenta maior capacidade mucoadesiva e

propriedades mecânicas adequadas (análise do perfil de textura e características reológicas), visando contribuir com a escolha do polímero para futuros estudos de desenvolvimento de formulações para uso tópico em mucosa bucal.

2 REVISÃO DA LITERATURA

O termo bioadesão foi inicialmente utilizado para definir a ligação de macromoléculas naturais ou sintéticas a um substrato biológico. Quando o substrato em causa é uma membrana biológica revestida por muco, as interações desenvolvem-se diretamente com a mucosa, passando a designar-se por mucoadesão (Figueiras et al., 2007).

A mucoadesão é uma alternativa para solucionar limitações relacionadas com a administração tópica de fármacos em regiões como a cavidade bucal, uma vez que permite melhorar a disponibilidade do fármaco aumentando o tempo de contato entre as duas superfícies em resultado do estabelecimento de fortes interações entre o polímero e o muco (Bernkop-Schnürch, 2005).

Várias classes de polímeros foram investigadas a fim de atender aos requisitos adequados de um polímero mucoadesivo, tais como grupos funcionais capazes de estabelecer pontes de hidrogênio, propriedades umectantes, propriedades de dilatação/carga de água e flexibilidade suficiente para emaranhamento com a rede de muco do tecido. Derivados de celulose (metil-, hidroxipropil-, carboximetilcelulose) e poli (ácido acrílico) com alto peso molecular (policarbofil, carbômero) e polissacarídeos como quitosana, demonstraram possuir as propriedades de formação de hidrogel necessárias para garantir uma adequada mucoadesão (Dodou et al., 2005).

O potencial de utilização de sistemas mucoadesivos como carreadores de fármacos está na possibilidade deste sistema prolongar o tempo de residência no local de absorção, permitindo contato intensificado com a barreira epitelial (Hägerström, 2003). Além disso, diminuem a frequência de administração e podem aumentar a adesão do paciente à terapia, proporcionando melhor resultado do tratamento (Woodley, 2001). (Mazzarino et al., 2014).

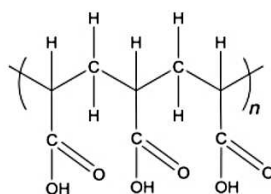


Figura 1. Estrutura química do Carbopol 974P.

A Quitosana (QS) (estrutura química ilustrada na Figura 2) é um polímero natural obtido a partir de materiais esqueléticos de crustáceos, cutículas de insetos e paredes celulares de muitos fungos, biodegradável, biocompatível, não tóxico e possui características mucoadesivas (Jayakumar et al., 2010). Assim, hidrogéis de QS têm sido extensivamente estudados como sistemas mucoadesivos de liberação de fármacos para a via bucal devido às interações eletrostáticas entre os grupos amino da QS e o muco carregado negativamente que resulta em uma elevada mucoadesão (Martínez-Martínez et al., 2019; Souza Ferreira, de et al., 2020; Xu et al., 2015).

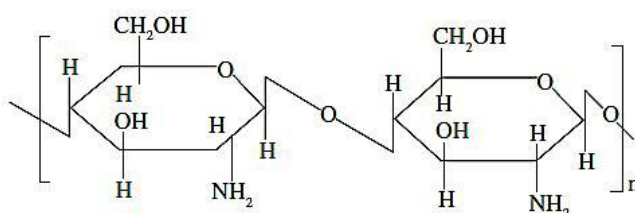


Figura 2. Estrutura química da Quitosana.

A hidroxietilcelulose de sódio (HEC) (estrutura química ilustrada na Figura 3) é um éter de celulose aniônico com boa solubilidade em água, propriedades reológicas, parâmetros hidrodinâmicos e termodinâmicos (Fekete et al., 2017; Li et al., 2014). Este polímero tem sido muito utilizado como espessante, estabilizador ou revestimento em vários campos de aplicação devido à sua alta biocompatibilidade, baixa toxicidade e não imunogenicidade (Abbas et al., 2017; Zulkifli et al., 2017). Além disso, foi incorporado em filmes bucais para administração do Maleato de Enalapril, com a finalidade melhorar a mucoadesão e, por consequência, a eficácia terapêutica, a adesão do paciente e a biodisponibilidade (Semalty et al., 2010).

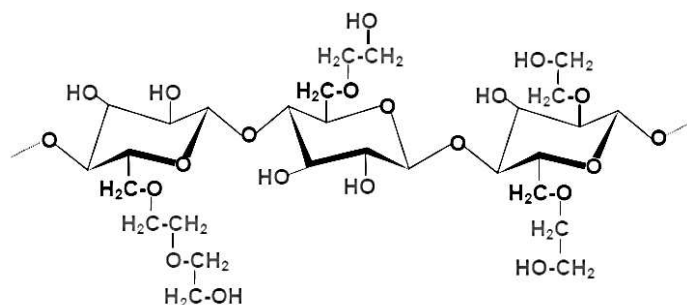


Figura 3. Estrutura química da Hidroxietilcelulose de Sódio.

A carboximetilcelulose (CMC) (estrutura química ilustrada na Figura 4) é também um éter de celulose aniônico amplamente utilizado como sistema de liberação de fármacos, devido a sua hidrofiliicidade e não toxicidade (Javanbakht e Shaabani, 2019). Tem sido incorporado em formulações desenvolvidas para tratamento de mucosite oral contendo cloridrato de benzidamina, com o objetivo de garantir o controle da dor e a proteção mecânica para promover a cicatrização da mucosa (Pagano et al., 2020).

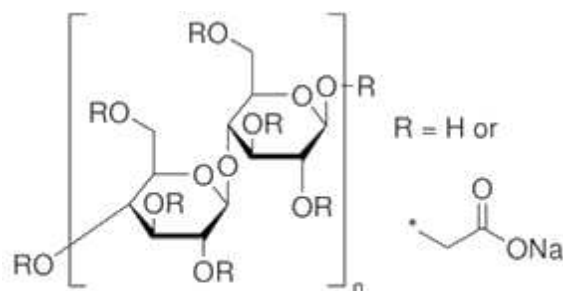


Figura 4. Estrutura química da Carboximetilcelulose de Sódio.

A goma xantana (GX) (estrutura química ilustrada na Figura 5) é um polissacarídeo aniônico produzido comercialmente por fermentação da bactéria *Xanthomonas campestris*. É amplamente utilizado na indústria de alimentos como estabilizante e espessante de produtos alimentícios devido às suas propriedades físicas (viscosidade, pseudo-elasticidade) e químicas (solubilidade em água, estabilidade de pH) específicas (Le e Turgeon, 2013). Além disso, é utilizada como sistema de liberação de fármacos na via tópica bucal devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade, não toxicidade e baixo custo (Le e Turgeon, 2013). Polímeros de GX já foram utilizados para obtenção de filmes mucoadesivos de domperidona para o tratamento de indigestão e foi demonstrado alto poder mucoadesivo em mucosa oral e liberação controlada do fármaco por 8h horas (Singh et al., 2010). Também já foi demonstrado que um filme à base de GX apresentou boa mucoadesividade e liberação sustentada de nicotina, sendo uma formulação promissora no tratamento antitabagismo (Abu-Huwaij et al., 2011).

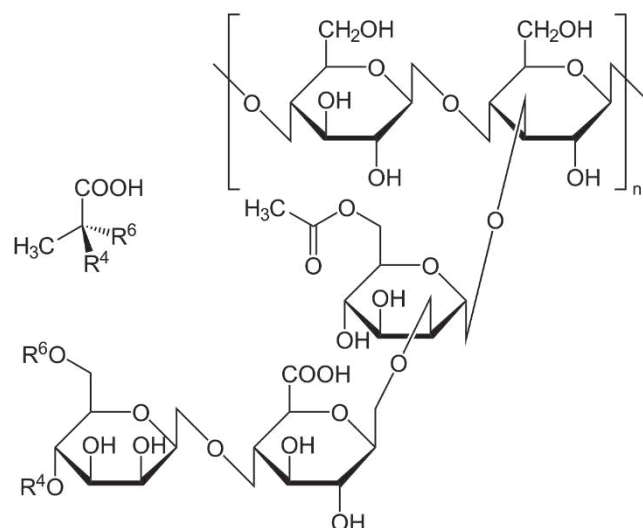


Figura 5. Estrutura química da Goma Xantana.

O ácido hialurônico (AH) (estrutura química ilustrada na Figura 6) é um mucopolissacarídeo de cadeia linear de origem natural, amplamente encontrado na matriz extracelular superior de animais e humanos, e nos tecidos conjuntivo, nervoso e epitelial (Becker et al., 2009; Pinto-Fraga et al., 2017). Além disso, é uma matriz multifuncional que exibe uma variedade de funções fisiológicas importantes, como regulação da adsorção, crescimento e diferenciação celular, lubrificação das articulações, e promoção da angiogênese e da cicatrização de feridas (Collins & Birkinshaw, 2013; Kudryavtseva et al., 2017). Por ser um polissacarídeo onipresente, apresenta baixa toxicidade e elevada biocompatibilidade, e já compõe diversos produtos comercialmente disponíveis na forma de soluções para injeção intra-articular, oftálmica e preenchimento dérmico (Luo et al., 2018). Foi demonstrado que o AH foi eficiente para incorporação da doxorrubicina para tratamento de câncer bucal, com o objetivo de inibir o crescimento da linha de células de carcinoma, demonstrando alta capacidade mucoadesiva em mucosa oral suína e liberação sustentada prolongada (Pornpitchanarong et al., 2020).

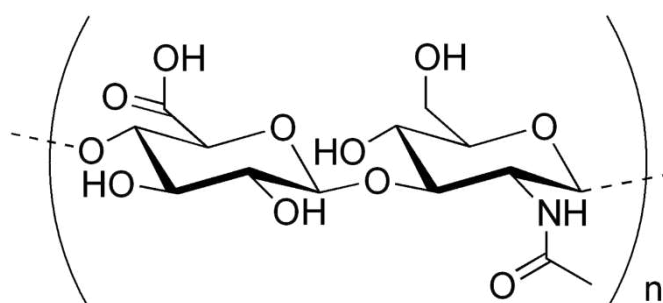


Figura 6. Estrutura química do Ácido Hialurônico.

Alginato de Sódio (AS) (estrutura química ilustrada na Figura 7) é o sal de sódio do ácido algínico, que quando extraído de algas marinhas da espécie *laminaria*, forma uma goma, podendo ser utilizado na indústria como emulsificante. O AS é bastante utilizado em formulações para tratamento de indigestão, bem como material para realização de moldagem em odontologia (Barbosa et al., 2018). Usualmente, este polímero é utilizado para incorporação de antifúngicos, como Nistatina, para tratamento de candidíase oral (Martin et al., 2015).

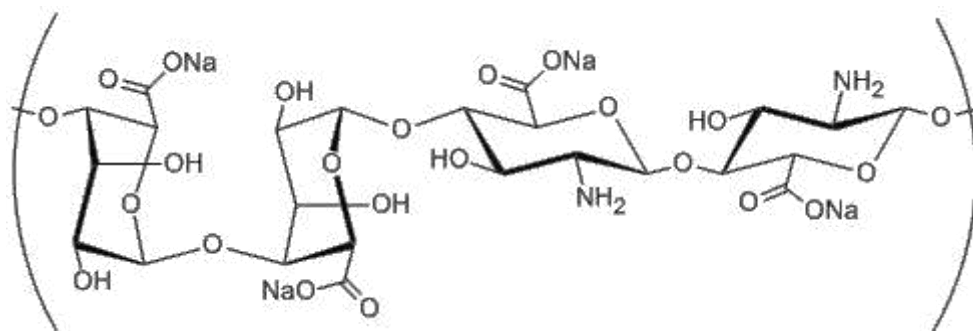


Figura 7. Estrutura química do Alginato de Sódio.

O policarbofil (PCF) (estrutura química ilustrada na Figura 8) é amplamente utilizado em uma variedade de formulações farmacêuticas para tratamento de obstipação, devido à sua propriedade de forte capacidade de adesão às barreiras epiteliais e mucosas (bio/mucoadesão). É um homopolímero de alto peso molecular de grupos poli (ácido acrílico) reticulado com divinil glicol (Bassi da Silva et al., 2018). Este polímero tem sido amplamente utilizado em formulações sólidas, semissólidas e líquidas comerciais para uma ampla variedade de aplicações médicas (Bassi da Silva et al., 2018). Foi demonstrado que a incorporação da felodipina, um fármaco que apresenta baixa biodisponibilidade, em microemulsão-gel à base de PCF promoveu elevada mucoadesão após aplicação tópica em mucosa, *in vitro*, e melhora da sua biodisponibilidade, podendo reduzir assim o efeito de primeira passagem (Singh et al., 2018).

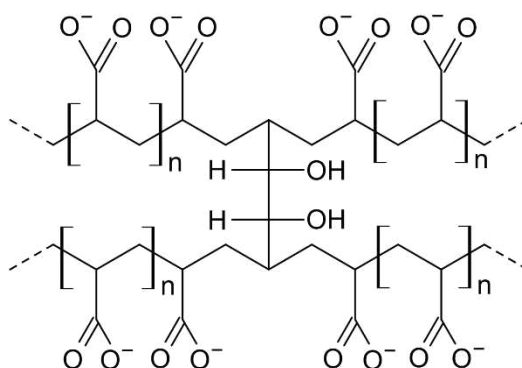


Figura 8. Estrutura química do Policarbofil.

A mucosa da cavidade bucal é relativamente mais permeável que a pele, e permite uma absorção mais rápida do fármaco quando comparado com a via transdérmica (Galey et al., 1976). Esta mucosa é caracterizada por uma camada epitelial cuja superfície é coberta por muco (Carvalho et al., 2010).

Os grânulos das células de *Goblet* localizados na zona apical do epitélio estratificado são responsáveis pelo armazenamento do muco, o qual pode ser liberado por exocitose ou esfoliação celular. Essas células garantem uma secreção basal, que é caracterizada por uma liberação ininterrupta, fazendo com que haja a formação de um filme contínuo de muco na superfície mucosa. Na presença de estímulos extracelulares, as células de *Globet* são hiper excitadas, proporcionando uma maior quantidade de secreção de muco para o exterior (Carvalho et al., 2010; Serra et al., 2009).

Para o desenvolvimento e produção de polímeros mucoadesivos, é necessário ter conhecimento dos mecanismos e forças que estabelecem a ligação mucoadesiva. Apesar desses mecanismos não estarem completamente elucidados, sabe-se que a mucoadesão pode ser dividida em três etapas: 1) contato entre o sistema mucoadesivo e a camada de muco, permitindo a fusão, conduzindo à intumescência e desenrolamento das cadeias poliméricas; 2) interpenetração das cadeias poliméricas bioadesivas desenroladas, no interior da rede glicoproteica do muco; 3) formação de ligações interfaciais entre as cadeias poliméricas e a rede glicoproteica de muco (Bassi da Silva et al., 2017; Carvalho et al., 2010; Serra et al., 2009). As possíveis interações que se estabelecem entre as cadeias poliméricas e o muco são ligações físicas, ligações químicas primárias e ligações químicas secundárias (Serra et al., 2009).

As ligações físicas permitem o estabelecimento de ligações químicas primárias ou secundárias entre as superfícies de contato, pois implicam na interpenetração das cadeias poliméricas da rede glicoproteica do muco e da formulação, o que corresponde à fase de interpenetração. Este fenômeno depende da flexibilidade das cadeias poliméricas e do seu

coeficiente de difusão, ou seja, da facilidade com que essas as cadeias se ligam ao muco (Carvalho et al., 2010; Smart, 2005; Souto & Lopes, 2011).

Após esta fase, estabelecem-se então ligações químicas primárias ou secundárias. As ligações químicas primárias são ligações covalentes, caracteristicamente fortes, de caráter permanente, podendo ou não ser desejável. Considerando que a maioria das células epiteliais sofrem esfoliação a cada 3 a 4 dias, as ligações permanentes estabelecidas com o epitélio podem ser temporárias (Andrews et al., 2009; Carvalho et al., 2010; Figueiras et al., 2007; Serra et al., 2009; Smart, 2005; Souto & Lopes, 2011).

As ligações químicas secundárias são ligações de caráter fraco, mas que, em conjunto, podem estabelecer uma ligação forte mediante o estabelecimento de vários locais de interação. Este tipo de ligação inclui as interações eletroestáticas, hidrofóbicas e de *Van der Waals*, as ligações iônicas e as pontes de hidrogênio. Estas são, provavelmente, as ligações secundárias mais relevantes para a mucoadesão, considerando que os principais grupos funcionais dos polímeros são grupos hidroxila, carboxila, amina e tiol (Smart, 2005).

Considerando que a mucoadesão é um fenômeno influenciado por múltiplos fatores, e que existem diversas teorias que visam explicar seu mecanismo de ação, o conjunto dessas teorias muitas vezes se complementam e permitem explicar as inúmeras interações que constituem em uma ligação mucoadesiva (Smart, 2005; Souto & Lopes, 2011).

A teoria eletrônica foi baseada na premissa de que tanto os materiais mucoadesivos quanto os biológicos, possuem cargas elétricas opostas. Assim, quando os materiais entram em contato, são capazes de transferirem elétrons levando à formação de uma dupla camada eletrônica na sua interface, onde as forças de atração no interior dessa dupla camada eletrônica determinam a força mucoadesiva (Andrews et al., 2009; Boddupalli et al., 2010; Derjaguin et al., 1977; Dodou et al., 2005; Edsman & Hägerström, 2005; Laffleur, 2014; Shinkar et al., 2012; Smart, 2005; Wang et al., 2020).

De acordo com a teoria de adsorção, o sistema mucoadesivo adere ao muco devido a uma ou mais forças secundárias, como ligações de pontes de hidrogênio, interações hidrofóbicas, interações de *van der Waals*, e forças eletrostáticas. Por exemplo, as pontes de hidrogênio são as forças interfaciais predominantes em polímeros contendo grupos carboxila (Hägerström, 2003; Huang et al., 2000; Lee et al., 2000; Smart, 2005). Estas forças têm sido consideradas as mais importantes no fenômeno de interação adesiva

(Smart, 2005) pois, embora sejam individualmente fracas, o conjunto dessas interações resulta em uma adesão intensa (Mathiowitz et al., 1999).

A teoria da difusão descreve a interpenetração das cadeias de polímero e muco a uma profundidade suficiente para criar uma ligação adesiva semipermanente. Acredita-se que a força de adesão aumenta com o grau de penetração das cadeias poliméricas (Mathiowitz et al., 1999). Esta taxa de penetração depende do coeficiente de difusão, flexibilidade e natureza das cadeias mucoadesivas, mobilidade e tempo de contato (Hägerström, 2003; Huang et al., 2000; Lee et al., 2000; Smart, 2005). De acordo com a literatura, a profundidade de interpenetração necessária para produzir uma ligação mucoadesiva eficiente é aproximadamente 0,2 a 0,5 μm (Mathiowitz et al., 1999). Para que a difusão ocorra, é importante que ambos os componentes envolvidos tenham boa solubilidade, ou seja, tanto o polímero quanto o muco tenham estruturas químicas semelhantes. Desta forma, quanto maior for a semelhança estrutural, melhor será a ligação mucoadesiva (Mathiowitz et al., 1999).

A teoria da fratura é, talvez, a teoria mais utilizada em estudos sobre a mensuração mecânica da mucoadesão (Mathiowitz et al., 1999). Ele analisa a força necessária para separar duas superfícies após a adesão ter sido estabelecida (Hägerström, 2003; Smart, 2005). Essa força é, frequentemente, calculada em testes de resistência à ruptura pela razão da força máxima de desprendimento e a área de superfície total envolvida na interação adesiva (Mathiowitz et al., 1999).

A teoria mecânica considera que a adesão é devida ao preenchimento das irregularidades de uma superfície rugosa por um líquido mucoadesivo. Além disso, tal rugosidade aumenta a área interfacial disponível para ocorrer interações químicas auxiliando na dissipação de energia mecânica e pode ser considerada o fenômeno mais importante do processo de mucoadesão (Peppas & Sahlin, 1996; Smart, 2005).

Os mecanismos responsáveis pela mucoadesão também são determinados pelas propriedades intrínsecas da formulação e pelo ambiente em que ela é aplicada (Lee et al., 2000). Os fatores intrínsecos do polímero estão relacionados ao seu peso molecular, concentração e flexibilidade da cadeia. Para polímeros lineares, a mucoadesão aumenta com o peso molecular, mas a mesma relação não é válida para polímeros não lineares, nesse caso, a concentração e flexibilidade da cadeia são as características que definem a capacidade de mucoadesão (Carvalho et al., 2010).

Ensaios *in vitro/ex vivo* são importantes no desenvolvimento de um sistema bioadesivo de liberação controlada, pois são capazes de simular uma condição real para

diferentes locais de administração de tópica, como oral, nasal, vaginal, retal e com isso podem avaliar a capacidade de permeação, mecanismo e velocidade de liberação do fármaco; compatibilidade, estabilidade mecânica e física da formulação, e finalmente, a interação superficial e força da ligação bioadesiva entre formulação e membrana mucosa (Carvalho et al., 2010).

Apesar de muitos avanços nas metodologias de avaliação de mucoadesão, nenhuma delas apresenta uma condição experimental ideal para esse tipo de ensaio. A maioria dos testes disponíveis foram adaptados de outras técnicas preexistentes, mas não são úteis para selecionar os candidatos promissores como mucoadesivos, bem como para elucidar seus mecanismos de ação (Carvalho et al., 2010).

A técnica do saco intestinal é um tipo de método *ex vivo*, empregado desde 1954 para estudar o transporte intestinal. Santos e colaboradores (1999) utilizaram este método adaptado para mensurar a mucoadesão. De acordo com os autores, o método é fácil de ser reproduzido. Um segmento de tecido intestinal do rato é removido e evertido. Uma de suas extremidades é suturada e então, o saco é preenchido com solução salina e introduzido em tubos contendo o sistema em análise. Em seguida são agitados, incubados e, por fim, removidos. A porcentagem da taxa de adesão do sistema de liberação no saco é determinada subtraindo a massa residual da porção do saco intestinal da sua massa inicial (Santos et al., 1999).

Uma outra metodologia que permite analisar macroscopicamente a ocorrência de interação entre a formulação/polímero e a mucina, isto é, uma previsão indireta de capacidade mucoadesiva, é a análise reológica de formulações semissólidas, conforme inicialmente proposta por Hassan e Gallo (1990). Esta metodologia utiliza ensaios viscosimétricos que preveem o aumento da viscosidade da formulação devido à sua interação com a mucina. A força de mucoadesão é obtida a partir de mudanças da viscosidade dentro do sistema polimérico, resultado do rearranjo de macromoléculas dos polímeros, onde a energia de interação pode ser transformada em trabalho. Desta forma, a mucoadesão positiva é caracterizada quando a resposta reológica da mistura polímero-mucina for maior do que a do polímero e da solução de mucina individualmente (Callens et al., 2003; Carvalho et al., 2010; Hägerström, 2003; Hassan e Gallo, 1990).

Também existem experimentos que analisam as interações moleculares envolvidas na mucoadesão. O uso de espectroscopia dielétrica de baixa frequência representa uma tentativa de estudar as interações gel-muco próximas ao nível molecular, conforme proposto por Hägerström em 2003. Esse experimento avalia as possíveis

interações físico-químicas entre moléculas e glicoproteínas do muco com a formulação em resposta à aplicação de um campo elétrico. Esta é a etapa que antecede a formação das ligações durante o processo de mucoadesão. Uma tensão elétrica é aplicada em toda a amostra e a resposta é medida em função da frequência. A partir das respostas referentes às interações entre a formulação e o muco, a impedância ou permissividade da amostra é obtida e a propriedade da variação das cargas no sistema pode ser determinada (Hägerström, 2003).

O ensaio de colorimétrico também é um método *in vitro* que permite avaliar a capacidade mucoadesiva de formulações. Na metodologia descrita por He e colaboradores (1998), as propriedades mucoadesivas do polímero são avaliadas por sua interação com a mucina. Uma solução de reagente de *Schiff* é adicionada à solução de polímero e mucina e, então centrifugada. O sobrenadante é utilizado para a medição do teor de mucina livre estimando assim a quantidade de mucina aderida à formulação (He et al., 1998).

O método mais empregado na literatura para mensurar a mucoadesão é o ensaio que avalia a resistência à tração de ruptura através de um analisador de textura (Bromberg et al., 2004; Bruschi et al., 2007; Hägerström, 2003). Trata-se de uma metodologia *in vitro* ou *ex vivo* a qual avalia a capacidade de mucoadesão de formulações a partir da mensuração da força necessária para quebrar a ligação entre a membrana e o sistema mucoadesivo, fornecendo valores de do pico da força mucoadesiva ($F_{\max}$) e do trabalho de mucoadesão (T_{muc}). Dependendo da direção em que o sistema mucoadesivo é separado do substrato, é possível obter também valores das forças de cisalhamento e ruptura (Hägerström, 2003). O substrato utilizado pode ser um disco composto de mucina (Bruschi et al., 2007), uma porção de mucosa animal (Hägerström, 2003) ou muco intestinal de ratos (Bromberg et al., 2004). O analisador de textura possui um dispositivo para fixação da membrana biológica e uma sonda (A/MUC), a qual possui ranhuras concêntricas usinadas que permite a fixação de um volume controlado da formulação à superfície inferior da sonda.

Nesse experimento, algumas variáveis como a força de contato entre a formulação e a mucosa, o tempo de contato entre ambos e a velocidade da sonda, até que haja o destacamento entre a formulação e o substrato biológico são ajustadas pelo pesquisador previamente ao ensaio de mucoadesão (Jones et al., 1997b; Bassi da Silva et al., 2017; Carvalho et al., 2012). Essas variáveis experimentais não foram padronizadas na literatura, e há relatos de diferentes condições experimentais, tais como força de contato

aplicada variando entre 0,1 a 2 N, tempo de contato variando de 10s a 10min e velocidade de sonda variando entre 0,1 mm/s a 2 mm/s (Cubayachi et al., 2015; Luo et al., 2008; LaFontaine et al., 2017; Jones et al., 2009; Wong et al., 1999), dificultando a comparação entre os estudos.

Desta forma uma das hipóteses deste estudo foi que seria possível determinar a combinação dessas variáveis experimentais que garantisse a maior capacidade mucoadesiva de uma formulação comercial através de um planejamento fatorial. Além disso, estabelecer valores de referência para $F_{\max}$ e T_{muc} . Outra hipótese do estudo foi que utilizando a condição experimental pré-determinada, seria possível escolher o hidrogel com maior capacidade mucoadesiva e, em conjunto com a determinação das propriedades mecânicas e reológicas, auxiliaria futuros estudos na escolha do polímero para o desenvolvimento de uma formulação ideal para uso tópico em cavidade bucal.

3 PROPOSIÇÃO

Avaliar e correlacionar as propriedades mucoadesivas, mecânicas e reológicas *in vitro* de diferentes hidrogéis monopoliméricos a 5% (m/m) utilizados em formulações tópicas desenvolvidas para a cavidade bucal a fim de se otimizar a escolha do hidrogel com as propriedades que podem resultar em melhor eficácia clínica.

Objetivos secundários:

- Otimizar a condição experimental (velocidade da sonda, tempo de contato e força de contato) que resulte em maior capacidade mucoadesiva *in vitro* (pico da força mucoadesiva e trabalho de mucoadesão)
- Estabelecer valores de referência das variáveis de mucoadesão ($F_{\max}$ e T_{muc}), visando a padronização do método para futuros estudos;

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

- Mucosa jugal de suínos, obtidas comercialmente no Frigorífico Angelelli[®] Ltda, Piracicaba-SP (certificado pela Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo - SIF 2259).
- Material cirúrgico: tesoura, descolador gengival, bisturi, lâmina nº11
- Polímeros utilizados para o preparo dos hidrogéis: Carbopol 974P[®] - Lubrizol[®] (São Paulo; Brasil), Quitosana - Sigma[®] (Tóquio; Japão), Hidroxietilcelulose de sódio - Audaz[®] (São Paulo; Brasil), Carboximetilcelulose de Sódio - Audaz[®] (São Paulo; Brasil), Goma xantana - Exodocientífica[®] (Sumaré-SP; Brasil), Sal de sódio de ácido hialurônico - Mapric[®] (Yiwu; China), Alginato de sódio - LS Chemicals[®] (Mumbai; Índia), Policarbofil - Lubrizol[®] (São Paulo; Brasil).
- Saliva artificial - 8g/L de cloreto de sódio (NaCl) - Exodocientífica[®] (Sumaré; Brasil), 0,19 g/L de fosfato monobásico de potássio (KH₂HPO₄) - Sigma[®] (Tóquio; Japão), 2,38 g/L de fosfato dissódico (Na₂HPO₄) – Exodocientífica[®] (Sumaré- SP; Brasil) com pH 6,8 (Marques et al., 2011).
- Trietanolamina – Sigma[®] (Tóquio; Japão)
- Tampão fosfato salino (PBS) com pH 7,4 (NaCl 137 mM, Fosfato 10 mM)
- Formulação tópica comercial: Omcilon-A em Orabase[®], composto por Triancinolona Acetonida, Sulfato de Neomicina, Gramicidina, Nistatina, Pectina, Gelatina, Carmelose Sódica, Petrolato Líquido e Polietileno (Bristol-Myers Squibb).

4.2. Equipamentos

- Analisador de textura TA-XT Plus, com a sonda A/MUC - Stable Micro Systems.
- Reômetro AR2000 de estresse controlado (Discovery Hybrid Rheometer DHR-1)
- Peagâmetro – PHS-3E – Labmeter[®]
- Centrífuga - Rotina 420R[®]
- Banho Maria – MA 179 – Marconi[®]
- Agitador Magnético – Thermo Scientific – Cimatec[®]

4.3. Métodos

4.3.1. Preparo dos tecidos para os ensaios de mucoadesão *in vitro*

As maxilas de porco (*Sus scrofa* doméstica, da raça Landrace, com cinco meses de idade e pesando entre 75 e 80 Kg) foram adquiridas do Frigorífico Angelelli® Ltda e transportadas em tampão fosfato salina - PBS (pH 7,4) para o laboratório em até 30 minutos após o abate dos animais. O preparo da mucosa jugal foi realizada de acordo com o método descrito por Franz-Montan e colaboradores (Franz-Montan et al., 2016).

As bochechas dos animais foram separadas do tecido adjacente com auxílio de lâmina de bisturi e lavadas com PBS. Posteriormente, as mucosas foram imersas em banho de água destilada a 60 °C, por 2 minutos, sendo este aumento da temperatura incapaz de provocar alterações nas características histológicas (Nicolazzo et al., 2003). Após este período, o epitélio foi delicadamente separado do tecido conjuntivo (lâmina própria) com auxílio de um descolador de Molt e analisado, visualmente, para detecção de possíveis injúrias do tecido, a fim de excluí-lo do estudo (Franz-Montan et al., 2016).

4.3.2. Avaliação *in vitro* da capacidade de mucoadesiva das formulações

A capacidade mucoadesiva das formulações (Omcilon-A em Orabase® e todos os hidrogéis) foi avaliada medindo a força necessária para separar a formulação do substrato biológico (mucosa jugal de porco) utilizando um analisador textura TA-XT Plus® (Stable Micro Systems) no modo de tensão (Jones, 1999).

Inicialmente, o epitélio de mucosa jugal foi fixado no suporte para tecidos da sonda A/MUC seguida de umedecimento desta com saliva artificial a 37 °C. A formulação foi acondicionada no suporte específico para formulação da sonda A/MUC, conforme ilustra a Figura 9.

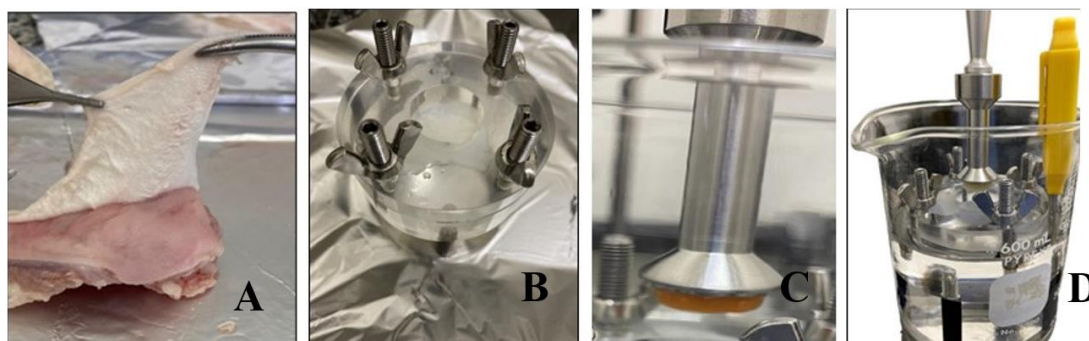


Figura 9. Preparo da mucosa suína para o teste de mucoadesão: (A) separação do epitélio da mucosa suína dos tecidos adjacentes; (B) amostra do epitélio da mucosa fixada no dispositivo de mucoadesão (A/MUC); (C) formulação fixada na sonda A/MUC; (D) a formulação fixada na sonda A/MUC e o suporte imerso em saliva artificial.

O teste foi iniciado com uma velocidade de tensão constante até que a mucosa entrasse em contato com a formulação. A mucosa e a formulação foram mantidas em contato e uma força foi aplicada durante tempo determinado. A escolha desses parâmetros é descrita a seguir, no item 4.3.3.

Em seguida, uma velocidade de tração foi aplicada até que ocorresse o destacamento entre a mucosa e a formulação. O trabalho de mucoadesão (T_{muc}), que se refere à força necessária para que haja o destacamento da mucosa/formulação em determinado tempo, foi calculado a partir da área sob a curva força *versus* tempo (N.s), utilizando o Software Expoent 6.1.18 (Stable Micro Systems, UK).

4.3.3. Influência das variáveis experimentais do ensaio de mucoadesão *in vitro* nas propriedades mucoadesivas

Com o intuito de avaliar a influência da variação das condições operacionais (variáveis independentes) do ensaio de mucoadesão: velocidade da sonda, força e tempo de contato e determinar a combinação dessas condições experimentais que garanta maior mucoadesão, um planejamento fatorial 2^3 , composto de oito ensaios nos pontos experimentais e uma triplicata na condição central foi aplicado. A formulação comercial escolhida para esse estudo foi o Omcilon-A em Orabase[®].

O Quadro 1 ilustra as condições experimentais utilizadas no presente estudo: ponto central (0) e os limites superiores (+1) e inferiores (-1). A escolha da condição central foi baseada em alguns trabalhos descritos na literatura (Cubayachi, 2015; Jones et al., 1997a; Jones et al., 1997b; Jones et al., 1997c; Jones et al., 2009).

Quadro 1. Condições central e limites superiores e inferiores das condições experimentais de força de contato (N), tempo de contato (s) e velocidade da sonda (s).

Fatores	Níveis		
	(-1)	(0)	(+1)
Força de contato (N)	0,1	0,5	0,9
Tempo de contato (s)	10	30	50
Velocidade da sonda (mm/s)	0,1	1,0	1,9

Com a finalidade de otimizar o planejamento, os efeitos das variáveis independentes (pico da força mucoadesiva e trabalho de mucoadesão) sobre as respostas obtidas foram modelados usando um modelo linear matemático para descrever as

variáveis independentes e suas interações com as várias respostas medidas geradas pelo planejamento fatorial 2^3 .

No Quadro 2, são apresentadas as condições experimentais das possíveis combinações obtidas com o planejamento fatorial 2^3 utilizadas nos ensaios de mucoadesão.

Quadro 2. Condições experimentais utilizadas nos ensaios de mucoadesão.

Condições experimentais			
Ensaio	Força (N)	Tempo (s)	Velocidade (mm/s)
1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	+1	+1	-1
5	-1	-1	+1
6	+1	-1	+1
7	-1	+1	+1
8	+1	+1	+1
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0

A repetibilidade experimental foi investigada avaliando a dispersão dos resultados no ponto central (nível 0 para as variáveis). Para a avaliação do planejamento experimental estatístico foi utilizado o software livre GUI Octave 1.0.14. A análise de variância (ANOVA) foi usada para investigação dos dados para obter a interação entre as variáveis processadas e as respostas. A qualidade do ajuste polinomial foi expressa pelo coeficiente de determinação (R^2) e sua significância estatística foi avaliada pelo Teste F no mesmo programa. Os termos do modelo foram avaliados para um valor de P (probabilidade) com um nível de confiança de 95% ($\alpha = 0,05$).

4.3.4. Preparo dos hidrogéis

Os hidrogéis monopoliméricos foram preparados no laboratório de Fisiologia Oral da Faculdade de Odontologia de Piracicaba utilizando os seguintes polímeros: Carbopol

974P[®], quitosana, hidroxietilcelulose de sódio, carboximetilcelulose de sódio, goma xantana, sal de ácido hialurônico, alginato de sódio e policarbofil, gentilmente doados pelo Prof. Dr. Marlus Chorilli, coordenador do laboratório de Farmacotécnica do Departamento de Fármacos e Medicamentos, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. O Quadro 3 apresenta as características físico-químicas dos polímeros e o pH final dos hidrogéis. Os hidrogéis foram todos preparados a uma concentração polimérica de 5% (m/m). O polímero de quitosana foi disperso em ácido acético a 2% (v/v), enquanto todos os outros foram dispersos em água desmineralizada em agitador magnético a 500 rpm. Com exceção do hidroxietilcelulose de sódio, que foi disperso com água desmineralizada aquecida a uma temperatura de 60-70 °C, todos os demais foram dispersos em temperatura ambiente. O pH de todas as formulações foi mensurado e o ajuste das formulações compostas de Carbopol e do policarbofil, polímeros ácidos, foi feito com a adição de 2 mL de trietanolamina às formulações. A dispersão foi homogeneizada e então deixada por 48h para intumescimento completo e equilíbrio do polímero à temperatura ambiente (Baus et al., 2019).

Quadro 3. Características físico-químicas dos polímeros e pH final dos hidrogéis.

Polímero	Massa molecular [kDa]	Carga elétrica	pH dos hidrogéis
Carbopol 974P [®]	3000	Aniônico	6,0
Quitosana	50-190	Catiônico	5,2
Hidroxietilcelulose	300	Não iônico	6,8
Carboximetilcelulose de sódio	450	Aniônico	7,1
Goma Xantana	1000	Aniônico	7,2
Sal de Ácido Hialurônico	1500-1800	Aniônico	6,3
Alginato de sódio	100-200	Aniônico	7,0
Policarbofil	3000	Aniônico	5,8

4.3.5. Ensaios *in vitro* de Mucoadesão e Perfil de Textura dos hidrogéis

A análise de mucoadesão *in vitro* dos hidrogéis foi realizada conforme descrição no item 4.3.3. utilizando as condições experimentais que resultaram em maior

mucoadesão da formulação comercial avaliada: força de contato = 0,552 N, tempo de contato = 10 s e velocidade da sonda = 2 mm/s.

A análise do perfil de textura (TPA – sigla do inglês *Texture Profile Analysis*) dos hidrogéis foi realizada usando o equipamento *TA-XT Plus®* (Stable Micro Systems, Surrey, Inglaterra) no modo TPA (Jones, 1997; Jones, 2002), a partir do qual foram calculadas as propriedades mecânicas, tais como a dureza, compressibilidade, adesividade e coesividade.

Para a realização da análise das propriedades mecânicas, os hidrogéis preparados (10 g) foram colocadas em tubos de centrifuga cônicos de 50 mL (Falcon, BD®, Franklin Lakes, EUA) e centrifugados a 4000 rpm, durante 3 minutos, para homogeneização das formulações. As formulações foram mantidas em descanso em temperatura ambiente durante 24 h. O experimento foi conduzido com uma sonda analítica de 10 mm de diâmetro, com velocidade de compressão de 2 mm/s e profundidade de penetração de 10 milímetros. Em seguida, foi programado para retornar para a superfície da amostra na mesma velocidade. Uma segunda compressão foi iniciada nas mesmas condições após o intervalo de 5 s entre as compressões. Os experimentos foram realizados à temperatura ambiente (± 25 °C). As análises foram realizadas em 10 replicatas.

4.3.7. Determinação do comportamento reológico

4.3.7.1 Análise reológica de cisalhamento contínuo (fluxo)

Essa análise foi realizada utilizando o reômetro híbrido modelo Discovery Series DHR-1 (TA Instruments Ltd. Leatherhead, Reino Unido) com geometria placa com 40 mm de diâmetro e com gap de 500 μm . A análise foi realizada em triplicata à 37 °C. O software HR1 - 5332-1380 TA Instruments Trios v.4.1.0.31739 foi usado para aquisição de dados.

Aproximadamente 3 g de cada hidrogel foi aplicado, com o auxílio de uma espátula, na placa inferior do reômetro, seguido do repouso de 30 s para início da análise. A taxa de cisalhamento empregada foi de 0,01 a 100 s^{-1} para a curva ascendente e de 100 a 0,01 s^{-1} para a curva descendente, com duração de 120 s cada.

Os dados das curvas ascendentes foram ajustados de acordo com o modelo reológico de Herschel-Bulkley (Schenkels et al., 1995; Marena et al., 2020) onde se obteve os parâmetros reológicos contínuos através da Equação 1:

$$\tau = \tau_0 + k \times \gamma^\eta$$

Onde: τ é tensão de cisalhamento (Pa); τ_0 é tensão de cisalhamento inicial (Pa); k é coeficiente de consistência (Pa.s^n); γ é taxa de cisalhamento (s^{-1}); η é índice de comportamento do fluido (adimensional).

4.3.7.2 Análise reológica oscilatória

A análise oscilatória foi realizada utilizando o mesmo equipamento descrito no item anterior. Inicialmente, foi realizado o teste de varredura de tensão com o intuito de se determinar a região viscoelástica linear (RVL) de cada polímero. A faixa de tensão de cisalhamento empregada nessa análise foi de 0 a 10 Pa e frequência de 1 Hz, à 37,0°C. Após a definição da tensão da região viscoelástica, foi realizado o teste de varredura de frequência para se determinar o módulo elástico (G') e módulo viscoso (G''). Para essa análise foi empregada a faixa de frequência de 0 a 10 Hz, à tensão constante selecionada da RVL à 37 °C (Calixto et al., 2015; Victorelli et al., 2018).

Os dados foram analisados para se determinar a relação de G' de acordo com a Equação 2:

$$G' = S \times \omega^\eta \text{ (equação 2)}$$

Onde: G' representa o módulo de armazenamento, ω a frequência oscilatória, S a resistência do gel, e η o expoente viscoelástico (Saxena et al., 2011).

4.4. Análise estatística

Os resultados de pico da força mucoadesiva, trabalho de mucoadesão, dureza, compressibilidade, coesividade e adesividade foram comparados através da análise de variância de múltiplas comparações para dados não-paramétricos (Kruskal-Wallis). Em todos os casos, as comparações “post-hoc” foram realizadas pelo procedimento de escalonamento linear de dois estágios (teste de Benjamin, Krieger e Yekutieli), considerando valor de $p < 0,05$. A correlação entre as variáveis trabalho de mucoadesão (teste de mucoadesão) e adesividade (análise do perfil de textura) foi avaliada pelo teste de Spearman. O software utilizado nessas análises foi o GraphPad Prism 9.

Os dados dos estudos reológicos foram analisados por meio de estatística descritiva seguida de Análise de Variância a dois fatores independentes, utilizando o *post-hoc* Bonferroni para de comparações múltiplas e valor de significância igual a 5%. O software utilizado foi o IBM® SPSS® Statistics.

5 RESULTADOS

5.1. Determinação da condição experimental para o experimento de mucoadesão

Os resultados obtidos em relação ao pico da força mucoadesiva (N) e trabalho de mucoadesão (N.s) dos 11 ensaios de mucoadesão realizados com a formulação comercial Omcilon®- A Orabase estão na Tabela 1.

Tabela 1. Valores do pico da força mucoadesiva (N) e trabalho de mucoadesão (N.s) dos 11 diferentes ensaios de mucoadesão realizados com a formulação comercial Omcilon®- A Orabase.

Testes	Pico da força mucoadesiva (N)	Trabalho de mucoadesão (N.s)
1	0,067822792	0,299
2	0,297278789	0,741
3	0,067822792	0,321
4	0,290492587	0,936
5	0,067822792	0,209
6	0,223807367	0,392
7	0,072343657	0,198
8	0,397875405	0,537
9	0,170115958	0,659
10	0,167291643	0,64
11	0,172940273	0,678

Para cada uma dessas respostas foi gerado um modelo matemático que descreve o papel de cada fator e sua interação. Além disso, o software empregado (Design Expert®) determinou a existência dos modelos e fatores significativos através da análise da ANOVA com ($p < 0,05$). Também, por meio da análise dos fatores do modelo (força de contato, tempo de contato e velocidade da sonda), determinou-se ou um efeito positivo, o qual com o aumento de um coeficiente há um aumento da resposta estudada; ou ao contrário, onde o aumento de um ou mais fatores contribui para diminuir a resposta, tendo efeito negativo na mesma. Esta abordagem quimiométrica também permitiu avaliar se houve interação entre os fatores (força de contato, tempo de contato e velocidade) e como isso modulou a resposta (Rodrigues, 2017).

Os valores de pico da força mucoadesiva (N) e trabalho de mucoadesão (N.s) das amostras de Omcilon® experimentalmente avaliadas pela combinação dos fatores em

diferentes níveis (conforme estabelecidos na Tabela 4) variou de 0,007-0,398 N e 0,198-0,741 (N.s), respectivamente.

Com relação à resposta obtida do pico da força mucoadesiva (N), a análise da variância confirmou que o modelo foi significativo ($p < 0,0001$), assim pelo menos um dos fatores foi significativo para a modulação dos resultados de pico da força mucoadesiva (N) empregados no teste de mucoadesão. Ainda, a falta de ajuste ao modelo não foi significativa ($p > 0,05$), de acordo com o preconizado para este tipo de análise. Além disso, apenas a variável independente força de contato (N) ($p < 0,0001$) teve papel relevante na modulação dos valores de pico da força mucoadesiva (N) do Omcilon®, tendo efeito positivo no mesmo, ou seja, à medida que a força de contato (N) aumenta, o valor do pico da força mucoadesiva também aumenta.

Entretanto, a variação de condições experimentais de tempo de contato (s) e velocidade (mm/s) no teste de mucoadesão não foi responsável pela modulação da resposta pico da força mucoadesiva ($p > 0,05$).

O gráfico de superfície, ilustrado na Figura 10, evidencia o papel positivo da força de contato (N) na modulação da resposta do pico da força mucoadesiva (N).

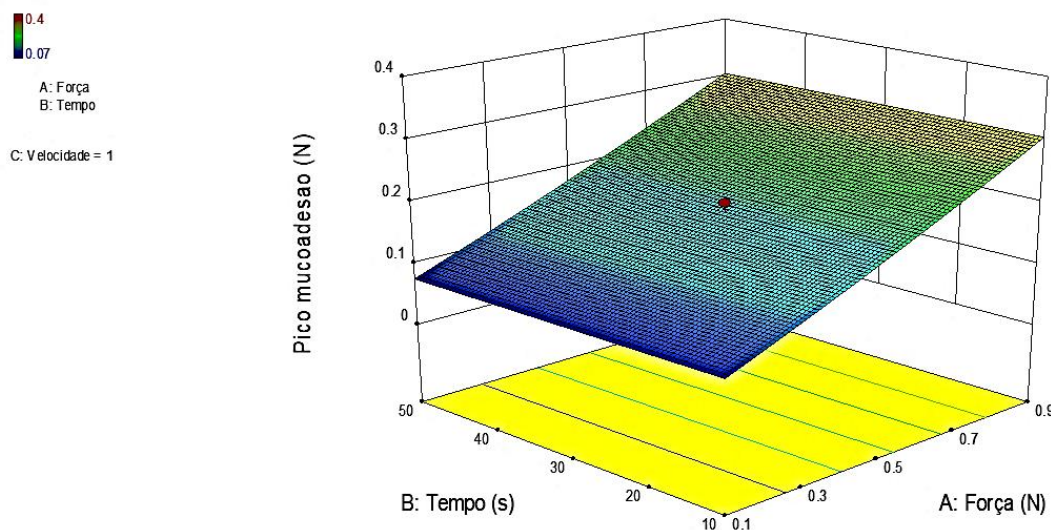


Figura 10. Gráfico de superfície da formulação de Omcilon® no que se refere ao estudo do pico da força mucoadesiva (N), de mucoadesão, considerando a velocidade de 1mm/s.

O modelo foi significativo ($p = 0,0146$) em relação à resposta trabalho de mucoadesão (N.s), o qual pelo menos umas das variáveis independentes avaliadas

modulou tal resposta de maneira estatisticamente significativa e que não houve falta de ajuste do modelo ($p>0,05$).

Evidenciou-se também que o único fator significativo para o modelo também foi a força de contato (N) ($p=0,0146$). A força de contato (N) também teve um efeito positivo, ou seja, à medida que aumenta a força de contato (N), o trabalho de mucoadesão (N.s) também aumenta. Assim, a Figura 11 dispõe o gráfico de superfície que evidencia o papel da força de contato (N) na modulação do trabalho de mucoadesão (N.s).

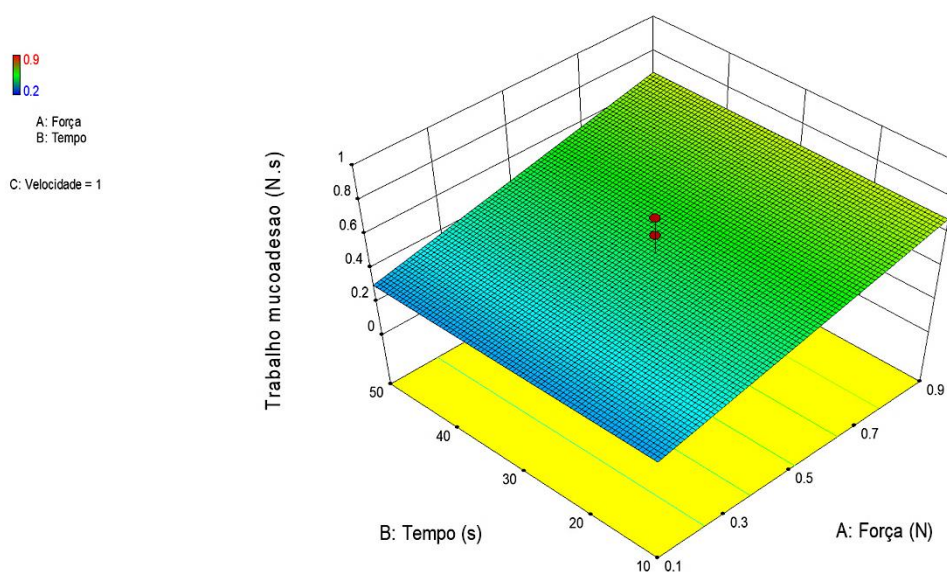


Figura 11. Gráfico de superfície da formulação de Omcilon® no que se refere ao estudo do trabalho de mucoadesão (N.s), considerando a velocidade de 1mm/s.

De maneira similar ao observado para a resposta de pico da força mucoadesiva (N), as variáveis independentes tempo de contato (s) e velocidade (mm/s) não foram capazes de modular a resposta trabalho de mucoadesão (N.s) de maneira significativa ($p>0,05$).

De maneira geral, os resultados desse estudo baseados nos dados supramencionados e na otimização numérica dos valores obtidos com faixas aceitáveis de pico da força mucoadesiva de no mínimo 0,2 N e trabalho de mucoadesão de 0,6 N.s, permitiram definir o Design Space, ilustrado na Figura 12.

O Design Space® compreende uma região robusta (amarelo) que sugere as melhores condições experimentais (Rodrigues, 2017) responsáveis pelos parâmetros ótimos de execução do teste de mucoadesão por meio de um analisador de textura, dada

pela sobreposição dos resultados do pico de Força (N) e trabalho de mucoadesão (N.s). Desta forma, concluiu-se que a força de contato empregada no teste deve ser de no mínimo 0,552 N. No entanto, as demais variáveis (velocidade da sonda e tempo de contato) não foram significativas para a otimização das respostas de mucoadesão.

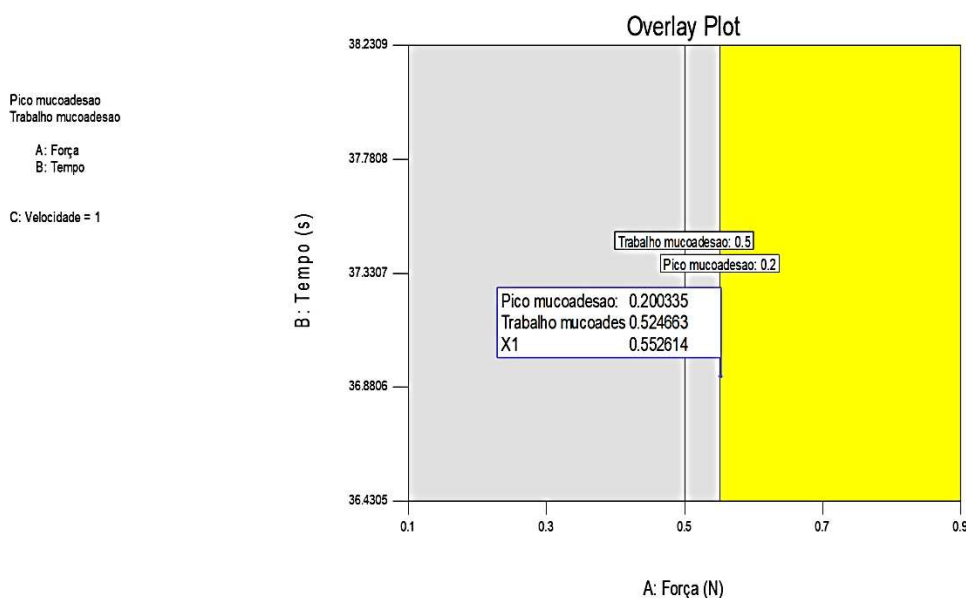


Figura 12. Design space® (região em amarelo) das formulações de Omcilon® analisadas no planejamento fatorial.

5.2. Capacidade mucoadesiva dos hidrogéis para uso em cavidade bucal

As respostas referentes ao trabalho de mucoadesão dos hidrogéis e da formulação comercial – Omcilon- A Orabase® (OMC), estão expressas na Figura 13. O hidrogel de Carpobol apresentou o maior valor ($p < 0,05$) de trabalho de mucoadesão. Goma Xantana e Omcilon representam um grupo com a segunda maior capacidade mucoadesiva, sem diferenças estatísticas entre as formulações ($p = 0,466$). Em seguida, a quitosana expressou o terceiro maior trabalho de mucoadesão. Já os menores valores estão representados pelos hidrogéis de carboximetilcelulose de sódio, ácido hialurônico, alginato de sódio ($p > 0,05$), e, por último, os hidrogéis de policarbofil e hidroxietilcelulose de sódio ($p > 0,05$).

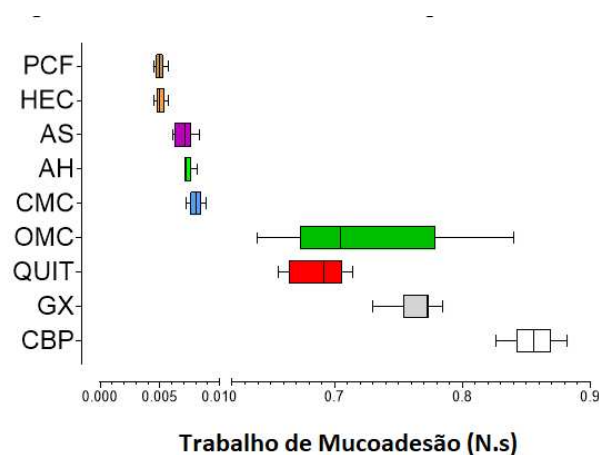


Figura 13. Trabalho de mucoadesão (N.s) dos hidrogéis. Policarbofil (PCF); Hidroxietilcelulose de sódio (HEC); Alginato de sódio (AS); Ácido hialurônico (AH); Carboximetilcelulose de sódio (CMC); Omcilon (OMC); Quitosana (QUIT); Goma Xantana (GX); Carbopol (CBP). $P < 0,05$, Kruskal-Wallis.

5.3. Análise de perfil de textura dos hidrogéis para uso em cavidade bucal

Os resultados dos parâmetros de adesividade, dureza, coesividade, compressibilidade para o Omcilon® e cada um dos hidrogéis investigados, estão apresentados nas Figuras 14, 15, 16 e 17, respectivamente.

A Figura 14 mostra os hidrogéis de Carbopol 974P® e ácido hialurônico com os maiores valores ($p < 0,05$) de adesividade ($p = 0,864$), seguidos de hidroxietilcelulose de sódio com adesividade igual. Na sequência, o Omcilon®, o hidrogel de policarbofil e o hidrogel de carboximetilcelulose de sódio também se apresentaram significativamente semelhantes entre si ($p > 0,05$). Os menores valores deste parâmetro foram representados pelos hidrogéis de goma xantana, alginato de sódio (0,0465 N.s) ($p = 0,102$), e, por fim, a quitosana com o menor valor de adesividade.

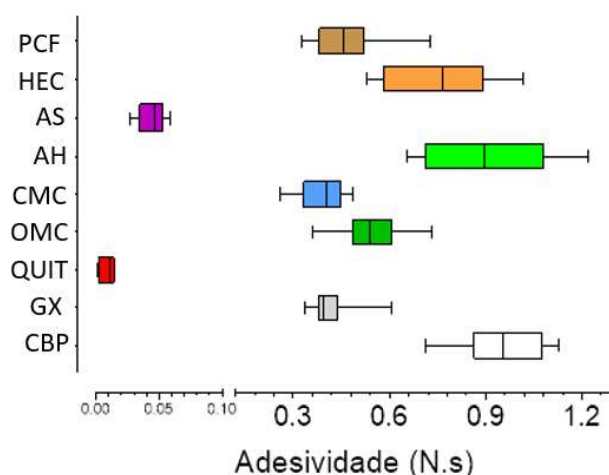


Figura 14. Perfil de adesividade das formulações. Policarbofil (PCF); Hidroxietilcelulose de sódio (HEC); Alginato de sódio (AS); Ácido hialurônico (AH); Carboximetilcelulose de sódio (CMC); Omcilon (OMC); Quitosana (QUIT); Goma Xantana (GX); Carbopol (CBP). $P < 0,05$, Kruskal-Wallis.

Em relação à resistência do material à penetração mecânica (dureza), demonstrada na Figura 15, os hidrogéis de ácido hialurônico, hidroxietilcelulose de sódio e carbopol apresentaram os maiores valores ($p < 0,05$) e apresentam-se significativamente semelhantes entre si ($p = 0,104$), na sequência, hidroxietilcelulose de sódio e Omcilon® ($p = 0,086$). Já os menores valores são representados pelos hidrogéis de policarbofil, carboximetilcelulose de sódio, goma xantana ($p > 0,05$), seguidos de quitosana e alginato de sódio que também apresentaram semelhança significativa entre si.

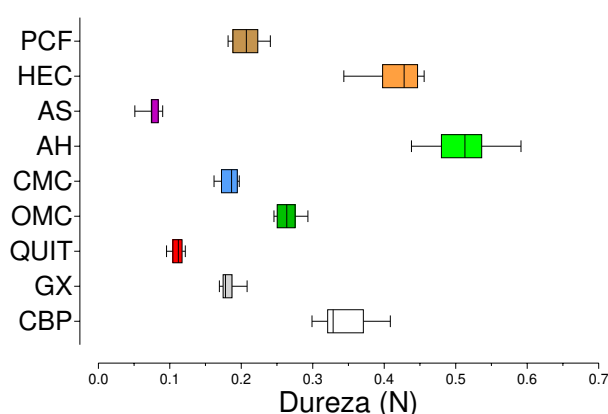


Figura 15. Perfil de dureza das formulações. Policarbofil (PCF); Hidroxietilcelulose de sódio (HEC); Alginato de sódio (AS); Ácido hialurônico (AH); Carboximetilcelulose de sódio (CMC); Omcilon (OMC); Quitosana (QUIT); Goma Xantana (GX); Carbopol (CBP). $P < 0,05$, Kruskal-Wallis.

A Figura 16, ilustra os valores do parâmetro compressibilidade dos hidrogéis. Quitosana e alginato de sódio apresentaram os maiores valores em relação às demais formulações, sem diferença entre si ($p = 0,3920$). O Omcilon e os demais hidrogéis

apresentaram valores muito próximos, porém com diferenças estatísticas entre si. Carboximetilcelulose de sódio e Omcilon, representaram o segundo grupo com maior compressibilidade ($p=0,174$), seguidos de ácido hialurônico e hidroxietilcelulose de sódio ($p = 0,942$). Por último, goma xantana, policarbofil e carbopol apresentam os menores valores, sem diferença estatística entre si ($p>0,05$).

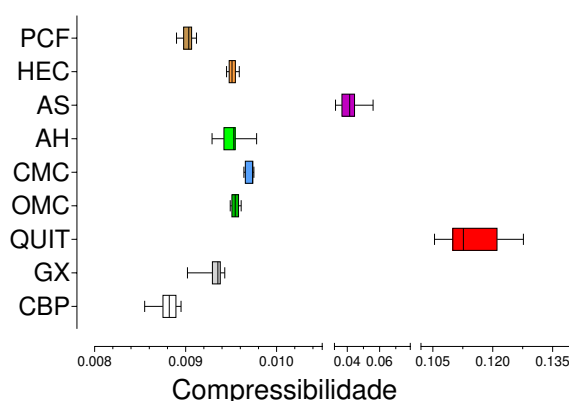


Figura 16. Perfil de compressibilidade das formulações. Policarbofil (PCF); Hidroxietilcelulose de sódio (HEC); Alginato de sódio (AS); Ácido hialurônico (AH); Carboximetilcelulose de sódio (CMC); Omcilon (OMC); Quitosana (QUIT); Goma Xantana (GX); Carbopol (CBP). $P < 0,05$, Kruskal-Wallis

Os resultados quanto à coesividade do Omcilon e hidrogéis investigados estão ilustrados na Figura 17 e mostraram que os hidrogéis de alginato de sódio, quitosana e carboximetilcelulose de sódio apresentam os maiores valores ($p < 0,05$) de coesividade, sem diferenças estatísticas entre as formulações, seguidos de hidroxietilcelulose de sódio e ácido hialurônico ($p=0,288$). Carbopol e Omcilon também se apresentaram estatisticamente semelhantes ($p = 0,847$). Já os menores valores estão representados pelos hidrogéis de policarbofil e goma xantana ($p = 0,290$).

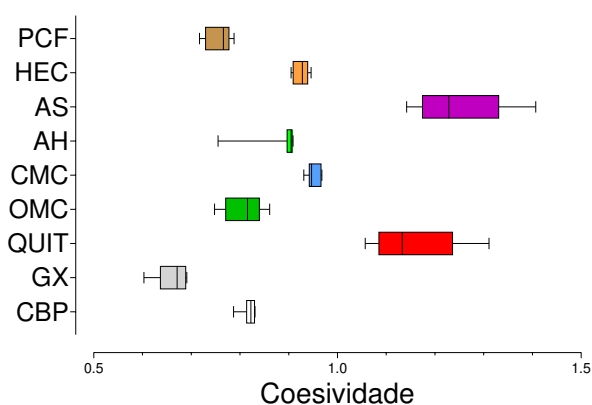


Figura 17. Perfil de coesividade das formulações. Policarbofil (PCF); Hidroxietilcelulose de sódio (HEC); Alginato de sódio (AS); Ácido hialurônico (AH); Carboximetilcelulose

de sódio (CMC); Omcilon (OMC); Quitosana (QUIT); Goma Xantana (GX); Carbopol (CBP). $p < 0,05$, Kruskal-Wallis

5.4. Análise de correlação entre adesividade e trabalho de mucoadesão

Através da análise de correlação de Spearman (r_s), foi investigada a relação entre o trabalho de mucoadesão e adesividade das formulações. Esta análise permitiu agrupar os hidrogéis em quatro grupos distintos, conforme ilustra a Figura 18. O grupo 1, composto apenas pelo alginato de sódio, tem como característica uma formulação que apresenta baixa adesividade e baixa mucoadesão. O grupo 2, composto apenas pela quitosana, tem como característica uma formulação que apresenta baixa adesividade e alta mucoadesão. O grupo 3, composto por ácido hialurônico, hidroxietilcelulose de sódio, policarbofil e carboximetilcelulose de sódio, tem como característica formulações que apresentam alta adesividade, mas baixa mucoadesão, e o grupo 4, composto por carbopol, goma xantana e Omcilon tem como característica formulações que apresentam alta adesividade e alta mucoadesão. Desta forma, considerando as diferentes características dos quatro grupos distintos e os valores da análise de correlação, detalhados na Tabela 2 foi possível verificar que não houve correlação entre adesividade e mucoadesão em nenhum dos grupos.

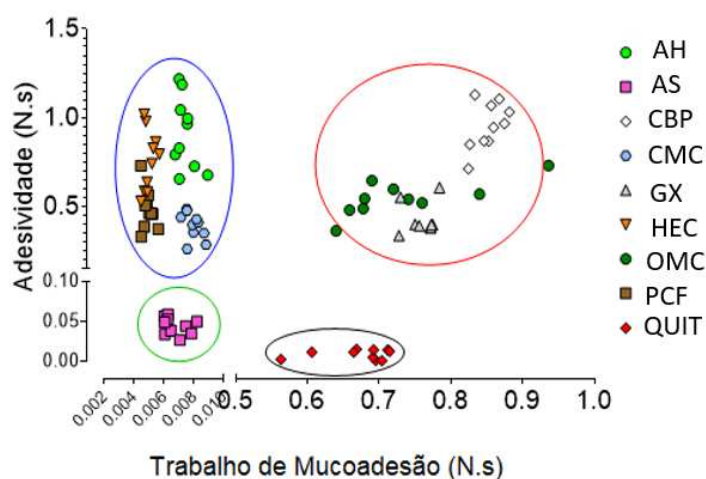


Figura 18. Correlação entre trabalho de mucoadesão e adesividade. Policarbofil (PCF); Hidroxietilcelulose de sódio (HEC); Alginato de sódio (AS); Ácido hialurônico (AH); Carboximetilcelulose de sódio (CMC); Omcilon (OMC); Quitosana (QUIT); Goma Xantana (GX); Carbopol (CBP). Correlação de Spearman. $P < 0,05$.

Tabela 2. Correlação entre trabalho de mucoadesão e adesividade. Policarbofil (PCF); Hidroxietilcelulose de sódio (HEC); Alginato de sódio (AS); Ácido hialurônico (AH); Carboximetilcelulose de sódio (CMC); Omcilon (OMC); Quitosana (QUIT); Goma Xantana (GX); Carboximetilcelulose de sódio (CMC); Omcilon (OMC); Quitosana (QUIT); Goma Xantana (GX); Carbopol (CBP). Correlação de Spearman (rS). Intervalo de confiança > 95%. P (two-tailed): teste de dois extremos.

Formulações	rS	P (two-tailed)
AH	-0,2485	0,4918
AS	-0,3091	0,3869
CBP	0,5152	0,1334
CMC	-0,6121	0,0667
GX	0,3576	0,3129
HEC	0,2242	0,5367
OMC	-0,1273	0,7331
PCF	-0,2485	0,4918
QUIT	0,1152	0,7589

5.5. Determinação do comportamento reológico dos hidrogéis para uso em cavidade bucal

5.5.1. Análise reológica de cisalhamento contínuo (fluxo)

As relações entre a taxa de cisalhamento e tensão de cisalhamento dos hidrogéis estão ilustrados na Figura 19 e os valores da viscosidade aparente (η_{ap}), índice de fluxo (η) e tixotropia estão descritos na Tabela 3.

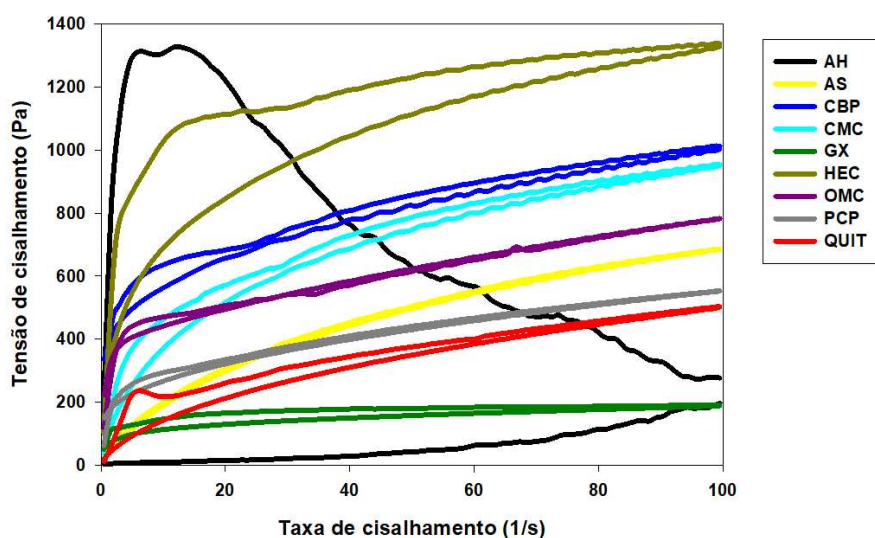


Figura 19. Curvas de fluxo (tensão de cisalhamento versus taxa de cisalhamento) dos hidrogéis. Ácido hialurônico (AH); Alginato de sódio (AS) Carbopol (CBP); Carboximetilcelulose de sódio (CMC); Goma Xantana (GX); Hidroxietilcelulose de sódio (HEC); Omcilon (OMC); Policarbofil (PCF); Quitosana (QUIT).

Tabela 3. Valores da viscosidade aparente (η_{ap}) e índice de fluxo (n), valores de tixotropia e para o modelo de Herschel-Bulkley, dos hidrogéis. Ácido hialurônico (AH); Alginato de sódio (AS) Carbopol (CBP); Carboximetilcelulose de sódio (CMC); Goma Xantana (GX); Hidroxietilcelulose de sódio (HEC); Omcilon (OMC); Policarbofil (PCF); Quitosana (QUIT).

Hidrogéis	Reologia de Fluxo			
	Viscosidade aparente (Pa.s) (η_{ap})	Índice de Fluxo (n)	Tixotropia (Pa/s)	R ²
AH	3.020.797,0 $\pm$ 835876,8 ^a	0,00013	66.344,5 $\pm$ 1.645,9 ^a	0,9665
AS	109,4 $\pm$ 11,2 ^b	0,43062	840,9 $\pm$ 410,8 ^b	0,9987
CBP	439,4 $\pm$ 99,2 ^b	0,23527	2.159,8 $\pm$ 1.173,8 ^b	0,9836
CMC	448,5 $\pm$ 78,6 ^b	0,26935	2.598,2 $\pm$ 1.818,7 ^b	0,9686
GX	181.605,9 $\pm$ 79952,9 ^b	0,00017	2.152,8 $\pm$ 518,7 ^b	0,5972
HEC	1.665.347,0 $\pm$ 207661,7 ^c	0,00013	13.954,9 $\pm$ 1.063,7 ^c	0,9455
OMC	260,2 $\pm$ 101,0 ^b	0,32108	2.551,3 $\pm$ 280,7 ^b	0,9697
PCP	105,4 $\pm$ 24,1 ^b	0,33903	953,1 $\pm$ 256,7 ^b	0,9821
QUIT	89,6 $\pm$ 15,4 ^b	0,38873	3.127,8 $\pm$ 828,7 ^b	0,9792

Letras diferentes denotam valores com diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), de acordo com ANOVA de um fator com pós-teste de comparação múltipla de Tukey. Os valores representam as médias $\pm$ DP e um $n = 3$ para cada grupo.

Foi possível observar pela análise qualitativa das curvas de fluxos que todos os hidrogéis exibiram comportamento não Newtoniano com redução da viscosidade de acordo com o aumento da taxa de cisalhamento, descrevendo um comportamento pseudoplástico, também demonstrado pelos valores do índice de fluxo menores que 1 na Tabela 3.

Além disso, para todos os hidrogéis, as curvas ascendentes e descendentes não foram sobrepostas e a curva descendente foi menor, formando uma área de histerese. Este fenômeno é característico da tixotropia, para a qual a viscosidade aparente (η_{ap}) é reduzida com o tempo de cisalhamento, sob uma tensão constante.

Para realizar uma análise quantitativa dos dados experimentais, os modelos matemáticos newtonianos, *Bingham*, *Ostwald de Waele & Herschel-Bulkley* (Schenkels et al., 1995; Marena et al., 2020) foram ajustados aos dados reológicos da curva ascendente das formulações e a melhor correlação foi determinada pelo modelo de Herschel-Bulkley de acordo com seus valores de r^2 ($r^2 > 0,99$) e demonstrou que o hidrogel de AH obteve os maiores valores de viscosidade aparente e de tixotropia, seguido de HEC. Não houve efeito significativamente estatístico dessas variáveis respostas entre os outros hidrogéis.

5.5.2. Análise reológica oscilatória

A varredura de frequência dos hidrogéis estão ilustrados na Figura 20.

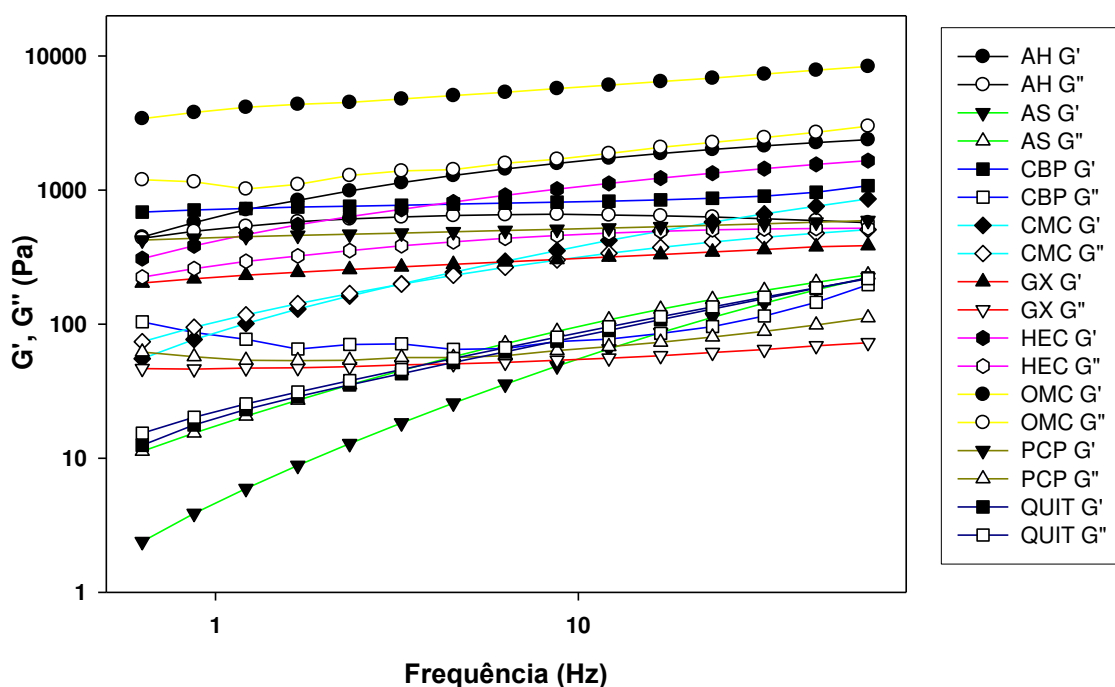


Figura 20. Variação do módulo de armazenagem G' (símbolos cheios) e de perda G'' (símbolos vazios) em função da frequência dos hidrogéis a 37 °C. Ácido hialurônico (AH); Alginato de sódio (AS) Carbopol (CBP); Carboximetilcelulose de sódio (CMC); Goma Xantana (GX); Hidroxietilcelulose de sódio (HEC); Omcilon (OMC); Policarbofil (PCF); Quitosana (QUIT).

Pela análise qualitativa dos gráficos observa-se que apenas o hidrogel de AS apresentou $G' < G''$ demonstrando um caráter viscoso enquanto para os outros hidrogéis prevaleceu $G' > G''$, ou seja, um caráter elástico.

O hidrogel de CMC apresentou G'' maior que G' em baixas frequências, mas um crossover foi observado próximo a 0,5 Hz e G' se tornou maior que G'' .

Os dados da reologia oscilatória da Tabela 4 mostram que a formulação OMC apresentou o maior valor de força do gel ($p < 0,05$). Em seguida, os hidrogéis com força menor que a força da formulação de Omcilon foram os de AH, CBP e HEC, sem diferenças estatísticas entre as formulações. E por último, os demais hidrogéis, que também não apresentaram diferenças estatísticas entre si.

Tabela 4. Valores de força do gel (S) e expoente viscoelástico dos hidrogéis. dos hidrogéis. Ácido hialurônico (AH); Alginato de sódio (AS) Carbopol (CBP); Carboximetilcelulose de sódio (CMC); Goma Xantana (GX); Hidroxietilcelulose de sódio (HEC); Omcilon (OMC); Policarbofil (PCF); Quitosana (QUIT).

Reologia Oscilatória	
S (Pa)	Expoente viscoelástico
$1.275,0 \pm 72,6^a$	0,35
$30,5 \pm 23,3^b$	1,00
$812,9 \pm 134,1^a$	0,25
$273,9 \pm 34,6^b$	0,62
$288,7 \pm 17,2^b$	0,14
$839,6 \pm 54,8^a$	0,35
$5.442,1 \pm 788,4^c$	0,18
$501,1 \pm 33,2^b$	0,07
$59,9 \pm 2,1^b$	0,60

6 DISCUSSÃO

Para a realização do ensaio de mucoadesão, os parâmetros experimentais velocidade da sonda, força e tempo de contato, bem como substrato são as condições que mais variam dentre os estudos de mucoadesão (Bassi da Silva et al., 2017), o que fornece resultados distintos, impossibilitando uma comparação direta entre os estudos. Por esta razão, a primeira etapa deste estudo foi determinar as condições experimentais que garantem uma maior mucoadesão das formulações.

Para garantir a maior semelhança às condições reais, no presente estudo, o substrato escolhido foi a mucosa jugal de suínos fresca, tendo em vista sua alta semelhança estrutural, histológica e de composição à região equivalente nos seres humanos (Consuelo et al., 2005a; Consuelo et al., 2005b). De maneira semelhante, o uso deste tecido como substrato já foi relatado por outros autores (Cubayachi et al., 2015; Muniz et al., 2018).

Em relação aos demais parâmetros experimentais (velocidade da sonda, tempo e força de contato), a escolha do ponto central para o presente estudo (“Nível 0”: força de contato de 0,5 N, tempo de contato de 30 s e velocidade da sonda de 1 mm/s), foi baseada em estudos consagrados na literatura que foram realizados no mesmo equipamento (TA.XT) (Jones et al., 1997a; Jones et al., 1997b), e futuramente, foram empregados utilizando metodologia semelhante, porém utilizando mucosa jugal e esofágica de suínos como substrato (Calixto et al., 2018a; Cubayachi, 2014; Muniz et al., 2018).

A formulação comercial escolhida para realização do presente trabalho foi o Omcilon[®]-A Orabase composto por 0,1% de triancinolona acetonida incorporado em orabase (Omcilon[®]-A Orabase, bula de remédio) pois além de ser mundialmente disponível comercialmente, é considerada padrão ouro como corticoide tópico (Chauhan et al., 2018) para aplicação em cavidade bucal, com capacidade mucoadesiva e eficácia clinicamente comprovadas para o tratamento de lesões bucais como líquen plano (Chauhan et al., 2018; Malhotra et al., 2008; Sridharan e Sivaramakrishnan, 2021; Thongprasom et al., 2007; Yoke et al., 2006) e estomatite aftosa recorrente (Browne et al., 1968; Fraiha et al., 2002; Giroh et al., 2019). Além disso, a orabase, pasta mucoadesiva de primeira geração (Kutscher et al., 1959) composta por pectina, gelatina, carmelose sódica, petrolato líquido e polietileno, é um dos veículos adesivos mais eficazes e utilizados para administração tópica de fármacos em mucosa oral (Andrews et al., 2009; Flo et al., 2016; Labib & Aldawsari, 2015; Sadeghian et al., 2019), pois é praticamente insolúvel em saliva além de conseguir permanecer aderida à superfície da mucosa oral

por aproximadamente 2,5 horas formando uma película isolante (Koyi e Khan, 2013; Sanz et al., 2017).

No presente estudo, apenas a força de contato (N) teve influência significativa no pico da força mucoadesiva (N) e no trabalho de mucoadesão do Omcilon®. Do ponto de vista interfacial, a aplicação de uma força de contato é necessária para potencializar a interação molecular entre a formulação e a mucina (Wong et al., 1999). Desse modo, essa variável força de contato é um fator crítico para aumentar a capacidade mucoadesiva da formulação, conforme demonstrado por alguns autores (Smart et al., 1984; Thirawong et al., 2007; Wong et al., 1999) e confirmado no presente estudo.

A variável velocidade da sonda não influenciou a capacidade mucoadesiva da formulação Omcilon®. De maneira semelhante, Thirawong e colaboradores também demonstraram que a capacidade mucoadesiva da formulação foi independente da velocidade da sonda e sugeriram que a hidratação mantida entre a formulação e a mucosa durante todo o experimento proporcionou uma interação, interpenetração e a formação de ligações entre as cadeias poliméricas bem consolidadas que não foram influenciadas pela tensão da velocidade da sonda (Thirawong et al., 2007). Portanto, esses resultados semelhantes podem ser em decorrência das semelhantes condições experimentais utilizadas nos estudos, isto é, realização do ensaio de mucoadesão em banho de temperatura controlada (37 °C) e utilizando substrato biológico de origem semelhante (mucosas de suínos).

Porém, outros estudos demonstraram que quanto maior a velocidade da sonda, maior a capacidade mucoadesiva da formulação (Shojaei et al., 2000; Wong et al., 1999). Considerando que nesses estudos não há menção no uso da hidratação e controle de temperatura durante a realização do experimento, fica inviabilizado discutir os diferentes resultados encontrados.

Foi relatado por alguns autores que a variável experimental tempo de contato entre a formulação (comprimidos) e o muco mostrou também ser um fator crítico para aumentar a capacidade de mucoadesão (Smart et al., 1984; Thirawong et al., 2007; Wong et al., 1999), entretanto, no presente estudo esse relato não foi confirmado. Esses autores justificaram que um tempo de contato maior poderia prolongar a hidratação da formulação e, assim, resultar em um maior intumescimento e interpenetração entre as cadeias poliméricas da formulação e do muco (Jones et al., 1997a; Jones et al., 1997b).

De fato, o tempo de contato é essencial para que ocorra o intumescimento do polímero da formulação (Baus et al., 2019). Porém, considerando que esses autores

avaliaram outra forma farmacêutica (sólida), diferente da utilizada no presente estudo, a hidratação e completo intumescimento de comprimidos foi influenciada pelo tempo de contato, o que não foi confirmado em nosso estudo. Isso pode ter ocorrido, possivelmente, pois formulações semissólidas tipicamente apresentam menor ângulo de contato em relação à superfície da mucosa, o que permite um contato mais íntimo, favorecendo a hidratação e o intumescimento dos polímeros independentemente do tempo de contato (Bassi da Silva et al., 2017).

Apesar dos estudos mencionados também terem como objetivo avaliar a influência das variáveis experimentais na performance de mucoadesão de formulações, a otimização de variáveis experimentais foi realizada por meio de metodologias que avaliam o efeito individual de cada variável (univariado), apresentando desvantagem como a falta de avaliação das possíveis interações que afetam o processo de mucoadesão. Isso resulta numa otimização ineficiente, impedindo o rápido estabelecimento de um processo otimizado, os quais podem ser atingidos pelo emprego de planejamento fatorial (Cunico et al., 2008). Desta forma, o presente estudo foi realizado utilizando o planejamento fatorial, a fim de se avaliar simultaneamente o efeito da interação de várias variáveis operacionais, a partir de um número reduzido de ensaios experimentais, quando comparados aos processos univariados (Peralta-Zamora et al., 2005).

Utilizando um modelo estatístico semelhante ao presente estudo, Bassi da Silva e colaboradores investigaram, por meio de um planejamento fatorial 2^4 com quadruplicata no ponto central, a influência de quatro variáveis operacionais: o substrato (disco de mucina ou mucosa jugal suína), a força de contato (0,03 N, 0,065 N e 0,10N) a velocidade da sonda (1,00 mm/s, 5,50 mm/s e 10 mm/s) e o tempo de contato (30 s, 75 s e 120 s) na resposta do pico da força mucoadesiva (N) e no trabalho de mucoadesão (N.s) de um gel (P407/PCB) composto por 15% (m/m) de Carbopol 974P® (C974P) e 0,15% (m/m) de Noveon® Polycarbophil (PCB) utilizando o analisador de textura (TA.XT plus, Stable Micro Systems, UK) (Bassi da Silva et al., 2018). Foi demonstrado que todos os parâmetros avaliados tiveram efeito positivo no pico da força mucoadesiva, mas o mesmo não foi observado para o trabalho de mucoadesão (Bassi da Silva et al., 2018).

Entretanto, no presente estudo, as variáveis de tempo de contato e velocidade da sonda não interferiram na capacidade mucoadesiva (tanto do pico de força, quanto do trabalho de mucoadesão) da formulação comercial Omcilon®-A Orabase. Isso pode ter ocorrido considerando que, no presente estudo foram utilizados tempos de contato e velocidade da sonda relativamente inferiores aos utilizados por esses autores. Além disso,

a formulação utilizada por esses autores foi à base de Carbopol 974P, um polímero com diferentes características físico-químicas e de mucoadesão daquelas observadas com a pectina, o principal polímero da composição do Omcilon (Omcilon®-A Orabase, bula de remédio (Omcilon-A Orabase. BulasMed, 2021. Disponível em: <https://www.bulas.med.br/p/bulas-de-medicamentos/bula/4461/omcilon+a+orabase.htm> acessado em 28 de julho de 2021).

O Carbopol® C974P é um polímero sintético aniônico altamente reticulado derivado do ácido poliacrílico e sua mucoadesão demonstra ser devido à dissociação e repulsões eletrostáticas entre os grupos carboxila do polímero carregados negativamente, que provocam o desenrolamento e a expansão do polímero, favorecendo o emaranhamento e interações secundárias mucoadesivas com a glicoproteína do muco (Carvalho et al., 2010; Thirawong et al., 2007, 2008). Já a pectina é um polissacarídeo hidrofílico, encontrado na parede celular da maioria das plantas, com cadeias lineares de resíduos de ácido α -D-galacturônico(1-4) ligados. Em pH fisiológico, a pectina é rapidamente convertida em sal de pectina ou em ácido pectínico, o que contribui para a interdifusão e a formação de pontes de hidrogênio entre o polímero e a glicoproteína do muco. Esses diferentes mecanismos de mucoadesão sugerem que a escolha da formulação poderia influenciar nos resultados da capacidade mucoadesiva (Carvalho et al., 2010; Thirawong et al., 2007, 2008).

Valores de referência de F_{max} e T_{muc} foram determinados, o que possibilitou, de acordo com as condições experimentais pré-determinadas: velocidade de sonda de 2mm/s, tempo de contato de 10 s e força de 0,552 N, de acordo com o ensaio feito a partir do planejamento fatorial, estabelecer uma classificação em ordem decrescente de capacidade mucoadesiva dos polímeros: Carbopol > Goma Xantana > Quitosana > Carboximetilcelulose de sódio, Ácido hialurônico, Alginato de sódio > Policarbofil, Hidroxietilcelulose de sódio.

Observa-se que os únicos HG que apresentaram valores da variável trabalho de mucoadesão acima do valor de referência determinado na primeira etapa do trabalho ($T_{muc} = 0,6$ N.s, Figura 13) foram Carbopol, Goma Xantana e Quitosana, o que os caracteriza como HG com bom poder mucoadesivo para uso em cavidade bucal. Entretanto, nas condições avaliadas, os HG de Carboximetilcelulose de sódio, Ácido hialurônico, Alginato de sódio, Policarbofil e Hidroxietilcelulose de sódio, apresentaram, de acordo com o valor de referência, baixa capacidade mucoadesiva.

Neste estudo, o hidrogel de Carbopol 974P[®] apresentou a maior capacidade mucoadesiva em relação aos HG avaliados, este resultado corroborou estudos anteriores que já haviam demonstrado o potencial mucoadesivo desse hidrogel (Calixto et al., 2015; Carvalho et al., 2012; Chen et al., 2018; Li et al., 2020). Esse resultado já era esperado, tendo em vista que este polímero apresenta uma densidade de reticulação polimérica que promove um aumento de suas interações com o muco (Calixto et al., 2015).

Apesar dos estudos demonstrarem a alta capacidade mucoadesiva do Carbopol 974P[®], os valores encontrados nos estudos citados são diferentes do encontrado no presente estudo, o que pode ser justificado pelas diferenças na metodologia empregada em cada um deles.

Em um estudo *in situ*, realizado por Li et al., 2020, também utilizando mucosa jugal suína e texturômetro TA.XT Plus como no presente estudo, com o objetivo de desenvolver um gel mucoadesivo para incorporar o fármaco γ -linoleato de bupivacaína (Bup- γ L), para tratamento de dor na mucosite oral, foram incorporados polímeros de Carbopol 974P[®], Carbopol 971P[®] e Noveon[®] (policarbofil) a fim de potencializar a capacidade mucoadesiva do gel em questão. Todos os polímeros aumentaram a capacidade mucoadesiva da formulação, porém, a incorporação de Carbopol 974P[®] mostrou um resultado mais promissor, com valor de trabalho de mucoadesão de aproximadamente 0,45 N.s (Li et al., 2020), o qual foi menor do que no presente estudo. Isso pode ser justificado pelo uso de diferentes condições metodológicas, i.e., força de contato de 0.09807 N, tempo contato de 30 s e velocidade da sonda de 1mm/s.

Outros autores empregaram como substrato biológico a pele de orelha de porco no mesmo equipamento utilizado no presente estudo, com as seguintes condições experimentais (V=1 mm/s; T= 60s; F= 2 mN) e (V= 1mm/s; T= 60s; F= 0N) e demonstraram que o hidrogel de Carbopol 974 P[®] a uma concentração de 1,5% e 5%, respectivamente, apresentou valor de trabalho de mucoadesão aproximado de 0,3 N.s e 0,5 N.s, respectivamente. Esses valores inferiores ao observado no presente estudo tanto pode ser justificado pelas diferenças nas condições experimentais, quando pela concentração do polímero, tendo em vista que diversos relatos na literatura (Calixto et al., 2015; Carvalho et al., 2012; Jones et al., 2009), demonstraram que o aumento da concentração do polímero melhora suas propriedades mucoadesivas (Calixto et al., 2015).

Além da capacidade de mucoadesão, no desenvolvimento de formulações farmacêuticas tópicas, como os hidrogeis, várias propriedades desejáveis da formulação, como fácil remoção do produto do recipiente, boa espalhabilidade, boa mucoadesão e

viscosidade aceitável, contribuem para a fácil administração e adesão do paciente (Jones et al., 1997c).

A análise do perfil de textura (TPA) permite avaliar as propriedades texturais de diferentes formulações semissólidas, a fim de obter informações sobre a estrutura física do gel. Portanto, a TPA é importante para prever o comportamento de uma amostra sob diferentes condições ambientais e fisiológicas (Baloglu et al., 2011).

Vários parâmetros mecânicos como adesividade (o trabalho necessário para superar as forças de atração entre as superfícies da amostra e da sonda), dureza (medida pelo pico de força aplicada pela sonda na amostra), compressibilidade (o trabalho necessário para deformar o produto durante a compressão), e coesividade (a força que liga as moléculas) (Bruschi et al., 2007; Carvalho et al., 2013), podem ser determinados pela análise do perfil de textura.

O parâmetro “dureza” expressa a facilidade de aplicação da formulação no local desejado, enquanto a “compressibilidade” determina o trabalho necessário para a remoção do produto da embalagem e a força necessária para a espalhabilidade no sítio de aplicação, formando uma camada homogênea e evitando o desconforto pelo paciente. Assim, os valores de dureza e compressibilidade devem ser baixos a fim de garantir com facilidade a remoção de sua embalagem e, conseqüentemente, sua aplicação superficial (Baloglu et al., 2011; Gratieri et al., 2010; Tuğcu-Demiröz et al., 2013). Não obstante, os valores de dureza e compressibilidade, não devem ser mínimos, o que resultaria em desperdício de formulação e perda de eficácia (Jones et al., 1997).

De acordo com Jones et al, 1997, os valores ideais de dureza e compressibilidade encontram-se próximos de 0,24 N e 1,84 N.s, respectivamente, que garantem fácil remoção da embalagem e adequada espalhabilidade (Jones et al., 1997b). Além disso, permite a formação de uma camada homogênea no local de aplicação, evitando assim o desconforto do paciente e facilitando a difusão do fármaco (Gratieri et al., 2020). No presente estudo, os HG à base de policarbofil, carboximetilcelulose de sódio, goma xantana e quitosana, apresentaram os valores mais próximos aos estipulados por Jones e colaboradores (1997b), dessa forma seriam as formulações com essas características desejáveis.

Entretanto, os hidrogéis à base de ácido hialurônico, à base de Carbopol e à base de quitosana apresentaram os maiores valores de dureza e compressibilidade, respectivamente, o que poderia resultar em difícil remoção da embalagem e espalhabilidade. Clinicamente, essas características impactariam em maior desconforto

ao paciente, menor permeação do fármaco e, consequentemente, menor adesão e eficácia ao tratamento (Gratieri et al., 2020).

A coesividade, por sua vez, é um parâmetro que pode influenciar no desempenho e estabilidade do sistema, visto que está relacionado à reestruturação da cadeia polimérica e garantem que a formulação permaneça intacta no sítio de aplicação após as sucessivas tensões de cisalhamento empregadas durante a aplicação (Tuğcu-Demiröz et al., 2013). A manutenção da coesividade em sistemas poliméricos é relacionada às interações intermoleculares, principalmente as ligações de hidrogênio e ligações cruzadas com a participação de grupos carboxílicos livres (não carregados) e a mobilidade da água na amostra (Figueiras et al., Veiga, 2007; Jones et al., 2009).

Os hidrogéis de alginato de sódio, quitosana e carboximetilcelulose de sódio apresentaram os maiores valores de coesividade no presente estudo, o que pode representar elevadas forças atrativas entre as moléculas do polímero, e consequentemente, a total recuperação estrutural após a aplicação da formulação, resultando em elevado desempenho do produto no local de aplicação e maior estabilidade dessas formulações. Desta maneira, tem-se a total recuperação estrutural após a aplicação da formulação (Tuğcu-Demiröz et al., 2013).

A alta adesividade representa um parâmetro desejável no desenvolvimento de géis mucoadesivos, uma vez que uma maior adesão pode implicar em uma maior retenção na superfície mucosa, e consequentemente, maior eficácia clínica dessas formulações (Gratieri et al., 2010; Tuğcu-Demiröz et al., 2013).

Dessa forma, o teste de Análise de Perfil de Textura (TPA) é amplamente utilizado por si só para caracterizar a mucoadesão, que está relacionada com o trabalho necessário para superar as forças de atração entre a amostra e a superfície da sonda (Jones et al., 1997c). No entanto, o presente estudo demonstrou o parâmetro “adesividade” obtida pela TPA não apresentou correlação estatística com os valores de trabalho de mucoadesão, realizado em mucosa jugal de suínos, sugerindo que além da TPA, a combinação dessas técnicas é necessária para prever a mucoadesão de um sistema. Esses resultados corroboram estudos anteriores que também demonstraram não haver correlação entre as características reológicas, os parâmetros mecânicos (TPA) e a capacidade mucoadesiva de diferentes polímeros (Carvalho et al., 2012; Ferreira et al., 2017ab).

Desta forma, o presente estudo em conjunto com outros estudos da literatura, destacam a importância do uso de técnicas complementares para avaliar o desempenho *in vitro* de hidrogéis, a fim de prever sua eficácia clínica.

A caracterização reológica de sistemas mucoadesivos indica a rigidez e elasticidade da rede polimérica. Produtos desenvolvidos para residência prolongada em mucosa estão sujeitos às tensões oscilatórias em uma ampla faixa de frequências como resultado de atividades diárias normais. Consequentemente, os efeitos de tais estresses nas propriedades reológicas de cada formulação são avaliados para garantir que o desempenho clínico possa ser previsto (Jones et al., 1998).

No presente estudo, todos os hidrogéis se comportaram como fluidos não Newtonianos com um comportamento pseudoplástico de acordo com a equação de Herschel-Bulkley. Além disso, as curvas de fluxo ascendente e descendente não foram sobrepostas, descrevendo um comportamento tixotrópico (Risaliti et al., 2021). Este comportamento sugere que o arranjo estrutural da rede polimérica dos hidrogéis flui na direção de cisalhamento. Assim, tanto o parâmetro mecânico de coesividade, como a viscosidade diminuem com o aumento da taxa de cisalhamento. Porém, quando esse cisalhamento cessa, o arranjo estrutural da rede polimérica se reestrutura devido ao movimento Browniano das moléculas do hidrogel na forma sol e o hidrogel recupera a viscosidade gel inicial (Ghica et al., 2016).

Quando comparamos o parâmetro de coesividade dos hidrogéis, pode-se observar que assim como todos os HG apresentaram comportamento pseudoplástico, todos eles apresentaram valor de coesividade semelhantes, sugerindo estabilidade das redes poliméricas.

Além disso, tanto essa propriedade reológica, quanto os parâmetros de dureza e compressibilidade dos hidrogéis, favorecem a aplicação tópica, pois a forma menos viscosa do produto permite uma aplicação na superfície biológica sem esforço. Uma vez que a tensão de cisalhamento é removida, o produto recupera sua conformação de gel inicial, que é mais bem retida na superfície (Calixto et al., 2018b).

O tempo necessário de reestruturação das moléculas, avaliado pela variável tixotropia, demonstrou que o HG de AH foi significativamente o maior ($p < 0,05$) em relação aos demais hidrogéis, o que sugere que esse polímero requer mais energia para eliminar a influência do tempo no comportamento do fluxo, pois tende ter uma estrutura polimérica mais forte e estável (Oliveira Cardoso et al., 2020). Além disso, esse polímero também apresentou a maior viscosidade aparente. Essas características reológicas podem ter refletido em seu baixo valor de trabalho de mucoadesão pois a alta viscosidade dos hidrogéis pode prejudicar a flexibilidade e mobilidade do polímero, uma vez que diminui

as interações secundárias, a difusão da formulação e o emaranhamento pelo muco o que, consequentemente, prejudica a mucoadesão (Alawdi & Solanki, 2021).

Os resultados observados na reologia oscilatória foram de considerável relevância para as tendências observadas durante os testes de mucoadesão e apontaram elasticidade para todas as formulações, que é um fator importante na determinação da mucoadesão, com exceção do hidrogel de alginato de sódio (Kelly et al., 2004).

Dessa forma, corroborando os resultados de correlação do presente estudo, as propriedades mucoadesivas, mecânicas e reológicas se completam e a realização de todas essas análises possibilitará às formulações desenvolvidas a obtenção de informações que podem impactar em maior eficácia e conforto ao paciente, e, consequentemente, maior adesão e eficácia ao tratamento.

7 CONCLUSÃO

Dentre as variáveis operacionais avaliadas, apenas a força de contato teve influência na mucoadesão, sendo necessária, para o ensaio uma força de contato de no mínimo 0,552 N, resultando em valores de referência de, aproximadamente, 0,2 N de pico de força mucoadesiva e de 0,6 N.s de trabalho de mucoadesão.

O hidrogel de Carbopol 974P[®] apresentou o maior trabalho de mucoadesão, em relação ao valor de referência, podendo ser considerado o hidrogel mais mucoadesivo para incorporação em fármacos para administração tópica bucal. O hidrogel menos mucoadesivo, de acordo com o ensaio de mucoadesão e os ensaios reológicos, foi o de ácido hialurônico, devido à sua alta viscosidade aparente e consequente baixo trabalho de mucoadesão.

A análise do perfil de textura mostrou que os hidrogéis de PCB, CMC e GX apresentaram as melhores propriedades de dureza, enquanto nenhum dos hidrogéis se mostrou estável às tensões de cisalhamento (compressibilidade). AS, QUIT e CMC apresentaram os maiores valores de coesividade, sendo caracterizados como géis de alta estabilidade molecular. Em relação ao parâmetro de adesividade, os hidrogéis de CBP e AH apresentaram os maiores valores de adesividade.

A análise de reologia demonstrou uma característica pseudoplástica de todos os hidrogéis, corroborando com o alto valor de coesividade encontrado para todos os HG no ensaio de TPA, sugerindo estabilidade de rede polimérica de todas as formulações avaliadas. Outrossim, a propriedade “adesividade” do ensaio de TPA não apresentou

correlação com a capacidade mucoadesiva das formulações, não sendo possível utilizá-la como preditor de mucoadesão.

REFERÊNCIAS

Abbas, K. et al. Designing novel bioconjugates of hydroxyethyl cellulose and salicylates for potential pharmaceutical and pharmacological applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 103, p. 441–450, 2017.

Abu-huwaij, R.; Obaidat, R. M.; Sweidan, K.; Al-Hiari, Y. Formulation and in vitro evaluation of xanthan gum or carbopol 934-based mucoadhesive patches, loaded with nicotine. **AAPS PharmSciTech**, v. 12, n. 1, p. 21–27, 2011.

Alawdi, S.; Solanki, A. B. Mucoadhesive Drug Delivery Systems: A Review of Recent Developments. **Journal of Scientific Research in Medical and Biological Sciences**, v. 2, n. 1, p. 50–64, 2021.

Andrews, G. P.; Lavery, T. P.; Jones, D. S. Mucoadhesive polymeric platforms for controlled drug delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 71, n. 3, p. 505–518, 2009.

Baloglu, E.; Karavana, S. Y.; Senyigit, Z. A.; Guneri, T. Rheological and mechanical properties of poloxamer mixtures as a mucoadhesive gel base. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 16, n. 6, p. 627–636, 2011.

Barbosa, M. A. G.; Paggiaro, A. O.; Carvalho, V. F. De; Isaac, C.; Gemperli, R. Effects of hydrogel with enriched sodium alginate in wounds of diabetic patients. **Plastic Surgical Nursing**, v. 38, n. 3, p. 133–138, 2018.

Bassi da silva, J.; Ferreira, S. B. De S.; Freitas, O. De; Bruschi, M. L. A critical review about methodologies for the analysis of mucoadhesive properties of drug delivery systems. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 43, n. 7, p. 1053–1070, 2017.

Bassi da silva, J.; Ferreira, S. B. DE S.; Reis, A. V.; Cook, M. T.; Bruschi, M. L. Assessing mucoadhesion in polymer gels: The effect of method type and instrument variables.

Polymers, v. 10, n. 3, p. 254, 2018.

Baus, R. A.; Zahir-Jouzdani, F.; Dünnhaupt, S.; Atyabi, F.; Bernkop-Schnürch, A. Mucoadhesive hydrogels for buccal drug delivery: In vitro-in vivo correlation study. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 142, p. 498–505, 2019.

Becker, L. C. et al. Final report of the safety assessment of hyaluronic acid, potassium hyaluronate, and sodium hyaluronate. **International Journal of Toxicology**, v. 28, n. 4_suppl, p. 5–67, 2009.

Bernegossi, J. et al. Peptide KSL-W-loaded mucoadhesive liquid crystalline vehicle as an alternative treatment for multispecies oral biofilm. **Molecules**, v. 21, n. 1, p. 37, 2016.

Bernkop-schnürch, A. Mucoadhesive systems in oral drug delivery. **Drug Discovery Today: Technologies**, v. 2, n. 1, p. 83–87, 2005.

Boddupalli, B. M.; Mohammed, Z. N. K.; Nath, R. A.; Banji, D. Mucoadhesive drug delivery system: An overview. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research**, v. 1, n. 4, p. 381, 2010.

Bromberg, L.; Temchenko, M.; Alakhov, V.; Hatton, T. A. Bioadhesive properties and rheology of polyether-modified poly (acrylic acid) hydrogels. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 282, n. 1–2, p. 45–60, 2004.

Browne, R. M.; Fox, E. C.; Anderson, R. J. Topical triamcinolone acetonide in recurrent aphthous stomatitis: A Clinical Trial. **The Lancet**, v. 291, n. 7542, p. 565–567, 1968.

Bruschi, M. L.; Jones, D. S.; Panzeri, H.; Gremião, M. P. D.; Freitas, O. De; Lara, E. H. G. Semisolid systems containing propolis for the treatment of periodontal disease: in vitro release kinetics, syringeability, rheological, textural, and mucoadhesive properties. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, n. 8, p. 2074–2089, 2007.

Calixto, G. M. F.; Duque, C.; Aida, K. L.; Santos, V. R. Dos; Massunari, L.; Chorilli, M. Development and characterization of p1025-loaded bioadhesive liquid-crystalline system for the prevention of *Streptococcus mutans* biofilms. **International Journal of Nanomedicine**, v. 13, p. 31, 2018.

Calixto, G. M. F.; Victorelli, F. D.; Dovigo, L. N.; Chorilli, M. Polyethyleneimine and chitosan polymer-based mucoadhesive liquid crystalline systems intended for buccal drug delivery. **AAPS PharmSciTech**, v. 19, n. 2, p. 820–836, 2018.

Calixto, G.; Yoshii, A. C.; Rocha e Silva, H.; Stringhetti Ferreira Cury, B.; Chorilli, M. Polyacrylic acid polymers hydrogels intended to topical drug delivery: preparation and characterization. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 20, n. 4, p. 490–496, 2015.

Callens, C.; Ceulemans, J.; Ludwig, A.; Foreman, P.; Remon, J. P. Rheological study on mucoadhesivity of some nasal powder formulations. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 55, n. 3, p. 323–328, 2003.

Carvalho, F. C.; Bruschi, M. L.; Evangelista, R. C.; Gremião, M. P. D. Mucoadhesive drug delivery systems. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, n. 1, p. 1–17, 2010.

Carvalho, F. C.; Calixto, G.; Hatakeyama, I. N.; Luz, G. M.; Gremião, M. P. D.; Chorilli, M. Rheological, mechanical, and bioadhesive behavior of hydrogels to optimize skin delivery systems. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 39, n. 11, p. 1750–1757, 2013.

Carvalho, F. C. et al. D. Rheological, mechanical and adhesive properties of surfactant-containing systems designed as a potential platform for topical drug delivery. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 8, n. 2, p. 280–289, 2012.

Cavallari, C.; Fini, A.; Ospitali, F. Mucoadhesive multiparticulate patch for the

intrabuccal controlled delivery of lidocaine. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 83, n. 3, p. 405–414, 2013.

Chaudhary, B.; Verma, S. Preparation and evaluation of novel in situ gels containing acyclovir for the treatment of oral herpes simplex virus infections. **The Scientific World Journal**, v. 2014, 2014.

Chauhan, P.; DE, D.; Handa, S.; Narang, T.; Saikia, U. N. A prospective observational study to compare efficacy of topical triamcinolone acetonide 0.1% oral paste, oral methotrexate, and a combination of topical triamcinolone acetonide 0.1% and oral methotrexate in moderate to severe oral lichen planus. **Dermatologic Therapy**, v. 31, n. 1, p. e12563, 2018.

Chen, X.; Yan, J.; Yu, S.; Wang, P. Formulation and in vitro release kinetics of Mucoadhesive blend gels containing matrine for buccal administration. **AAPS PharmSciTech**, v. 19, n. 1, p. 470–480, 2018.

Collins, M. N.; Birkinshaw, C. Hyaluronic acid based scaffolds for tissue engineering—A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2, p. 1262–1279, 2013.

Consuelo, I. D. Del; Falson, F.; Guy, R. H.; Jacques, Y. Transport of fentanyl through pig buccal and esophageal epithelia in vitro. Influence of concentration and vehicle pH. **Pharmaceutical Research**, v. 22, n. 9, p. 1525–1529, 2005.

Consuelo, I. D. Del; Pizzolato, G.-P.; Falson, F.; Guy, R. H.; Jacques, Y. Evaluation of pig esophageal mucosa as a permeability barrier model for buccal tissue. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 94, n. 12, p. 2777–2788, 2005.

Cubayachi, C. Desenvolvimento de sistemas semi-sólidos mucoadesivos para liberação de anestésico e aplicação de iontoforese na cavidade bucal. Tese de Doutorado. **Repositório Universidade de São Paulo**, 2014.

Cubayachi, C et al. Needle-free buccal anesthesia using iontophoresis and amino amide salts combined in a mucoadhesive formulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 136, p. 1193-1201, 2015.

Cunico, M. W. M.; Cunico, M. M.; Miguel, O. G.; Zawadzki, S. F.; Peralta-Zamora, P.; Volpato, N. Planejamento fatorial: uma ferramenta estatística valiosa para a definição de parâmetros experimentais empregados na pesquisa científica. **Visão Acadêmica**, v. 9, n. 1, 2008.

Derjaguin, B. V; Toporov, Y. P.; Muller, V. M.; Aleinikova, I. N. On the relationship between the electrostatic and the molecular component of the adhesion of elastic particles to a solid surface. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 58, n. 3, p. 528–533, 1977.

Dodou, D.; Breedveld, P.; Wieringa, P. A. Mucoadhesives in the gastrointestinal tract: revisiting the literature for novel applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 60, n. 1, p. 1–16, 2005.

Edsman, K.; Hägerström, H. Pharmaceutical applications of mucoadhesion for the non-oral routes. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 57, n. 1, p. 3–22, 2005.

Fekete, T.; Borsa, J.; Takács, E.; Wojnárovits, L. Synthesis and characterization of superabsorbent hydrogels based on hydroxyethylcellulose and acrylic acid. **Carbohydrate Polymers**, v. 166, p. 300–308, 2017.

Ferreira, S. B. D. S.; Silva, J. B. Da; Borghi-Pangoni, F. B.; Junqueira, M. V.; Bruschi, M. L. Linear correlation between rheological, mechanical and mucoadhesive properties of polycarbophil polymer blends for biomedical applications. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 68, p. 265–275, 2017.

Ferreira, S. B. D. S.; Silva, J. B. Da; Junqueira, M. V.; Borghi-Pangoni, F. B.; Gomes, R. G.; Bruschi, M. L. The importance of the relationship between mechanical analyses and

rheometry of mucoadhesive thermoresponsive polymeric materials for biomedical applications. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 74, p. 142–153, 2017.

Figueiras, A.; Carvalho, R.; Veiga, F. Sistemas mucoadesivos de administração de fármacos na cavidade oral: mecanismo de mucoadesão e polímeros mucoadesivos. **Revista Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde**, v.4, n.2, p.216-233, 2007.

Flo, A.; Calpena, A. C.; Halbaut, L.; Araya, E. I.; Fernández, F.; Clares, B. Melatonin delivery: transdermal and transbuccal evaluation in different vehicles. **Pharmaceutical Research**, v. 33, n. 7, p. 1615–1627, 2016.

Fonseca-Santos, B.; Satake, C. Y.; Calixto, G. M. F.; Santos, A. M. Dos; Chorilli, M. Trans-resveratrol-loaded nonionic lamellar liquid-crystalline systems: structural, rheological, mechanical, textural, and bioadhesive characterization and evaluation of in vivo anti-inflammatory activity. **International Journal of Nanomedicine**, v. 12, p. 6883, 2017.

Frade, M. L.; Annunzio, S. R. De; Calixto, G. M. F.; Victorelli, F. D.; Chorilli, M.; Fontana, C. R. Assessment of chitosan-based hydrogel and photodynamic inactivation against *Propionibacterium acnes*. **Molecules**, v. 23, n. 2, p. 473, 2018.

Fraiha, P. M.; Bittencourt, P. G.; Celestino, L. R. Estomatite aftosa recorrente: revisão bibliográfica. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 68, p. 571–578, 2002.

Franz-Montan, M.; de Araújo, D. R.; de Moraes, L. N. R.; de Melo, N. F. S.; de Paula, E. Nanostructured systems for transbuccal drug delivery. In: GRUMEZESCU, A.M; ANDRONESCU, E. **Nanostructures for Oral Medicine**.1ª edição. Elsevier, 2017. p. 87–121.

Franz-Montan, M.; de Paula, E.; Groppo, F. C.; Silva, A. L. R.; Ranali, J.; Volpato, M. C. Liposome-encapsulated ropivacaine for intraoral topical anesthesia. **Oral Surgery**,

Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology, v. 110, n. 6, p. 800–804, 2010.

Franz-Montan, M.; de Paula, E.; Groppo, F. C.; Silva, A. L. R.; Ranali, J.; Volpato, M. C. Liposomal delivery system for topical anaesthesia of the palatal mucosa. **British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 50, n. 1, p. 60–64, 2012.

Franz-Montan, M. et al. Recent advances and perspectives in topical oral anesthesia. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 14, n. 5, p. 673–684, 2017.

Franz-Montan, M. et al. Evaluation of different pig oral mucosa sites as permeability barrier models for drug permeation studies. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 81, p. 52–59, 2016.

Franz-Montan, M. et al. Liposome-encapsulated ropivacaine for topical anesthesia of human oral mucosa. **Anesthesia & Analgesia**, v. 104, n. 6, p. 1528–1531, 2007.

Galey, W. R.; Lonsdale, H. K.; Nacht, S. The in vitro permeability of skin and buccal mucosa to selected drugs and tritiated water. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 67, n. 6, p. 713–717, 1976.

Ghica, M. V.; Hîrjău, M.; Lupuleasa, D.; Dinu-Pîrvu, C.E. Flow and thixotropic parameters for rheological characterization of hydrogels. **Molecules**, v. 21, n. 6, p. 786, 2016.

Giroh, V. R.; Hebbale, M.; Mhapuskar, A.; Hiremutt, D.; Agarwal, P. Efficacy of aloe vera and triamcinolone acetonide 0.1% in recurrent aphthous stomatitis: A preliminary comparative study. **Journal of Indian Academy of Oral Medicine and Radiology**, v. 31, n. 1, p. 45, 2019.

Gratieri, T.; Gelfuso, G. M.; Rocha, E. M.; Sarmiento, V. H.; de Freitas, O.; Lopez, R. F. V. A poloxamer/chitosan in situ forming gel with prolonged retention time for ocular

delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 75, n. 2, p. 186–193, 2010.

Hägerström, H. Polymer gels as pharmaceutical dosage forms: rheological performance and physicochemical interactions at the gel-mucus interface for formulations intended for mucosal drug delivery. Tese de Doutorado. **Acta Universitatis Upsaliensis**, 2003.

Hassan, E. E.; Gallo, J. M. A simple rheological method for the in vitro assessment of mucin-polymer bioadhesive bond strength. **Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 5, p. 491–495, 1990.

He, P; Davis, S. S.; Illum, L. In vitro evaluation of the mucoadhesive properties of chitosan microspheres. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 166, n. 1, p. 75-88, 1998.

Hearnden, V. et al. New developments and opportunities in oral mucosal drug delivery for local and systemic disease. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, n. 1, p. 16–28, 2012.

Huang, Y.; Leobandung, W.; Foss, A.; Peppas, N. A. Molecular aspects of muco- and bioadhesion:: Tethered structures and site-specific surfaces. **Journal of Controlled Release**, v. 65, n. 1–2, p. 63–71, 2000.

Javanbakht, S.; Shaabani, A. Carboxymethyl cellulose-based oral delivery systems. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 133, p. 21–29, 2019.

Jayakumar, R.; Prabakaran, M.; Nair, S. V; Tamura, H. Novel chitin and chitosan nanofibers in biomedical applications. **Biotechnology Advances**, v. 28, n. 1, p. 142–150, 2010.

Jones, D. S.; Bruschi, M. L.; de Freitas, O.; Gremião, M. P. D.; Lara, E. H. G.; Andrews, G. P. Rheological, mechanical and mucoadhesive properties of thermoresponsive,

bioadhesive binary mixtures composed of poloxamer 407 and carbopol 974P designed as platforms for implantable drug delivery systems for use in the oral cavity. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 372, n. 1–2, p. 49–58, 2009.

Jones, D. S.; Woolfson, A. D.; Brown, A. F. Textural analysis and flow rheometry of novel, bioadhesive antimicrobial oral gels. **Pharmaceutical Research**, v. 14, n. 4, p. 450–457, 1997a.

Jones, D.S; Woolfson, A.D; Brown, A.F. Textural, viscoelastic and mucoadhesive properties of pharmaceutical gels composed of cellulose polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 151, n. 2, p. 223–233, 1997b.

Jones, D.S.; Woolfson, A.D; Brown, A.F. Viscoelastic properties of bioadhesive, chlorhexidine-containing semi-solids for topical application to the oropharynx. **Pharmaceutical Research**, v. 15, n. 7, p. 1131–1136, 1998.

Jones, D. S.; Woolfson, A. D.; Brown, A. F.; O'Neill, M. J. Mucoadhesive, syringeable drug delivery systems for controlled application of metronidazole to the periodontal pocket: in vitro release kinetics, syringeability, mechanical and mucoadhesive properties. **Journal of Controlled Release**, v. 49, n. 1, p. 71–79, 1997c.

Jones, D. S.; Woolfson, A. D.; Djokic, J. Texture profile analysis of bioadhesive polymeric semisolids: mechanical characterization and investigation of interactions between formulation components. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 61, n. 12, p. 2229–2234, 1996.

Kelly, H. M.; Deasy, P. B.; Busquet, M.; Torrance, A. A. Bioadhesive, rheological, lubricant and other aspects of an oral gel formulation intended for the treatment of xerostomia. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 278, n. 2, p. 391–406, 2004.

Koyi, P. K.; Khan, A. B. Buccal patches: a review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 4, n. 1, p. 83, 2013.

Kudryavtseva, V. et al. Atmospheric pressure plasma assisted immobilization of hyaluronic acid on tissue engineering PLA-based scaffolds and its effect on primary human macrophages. **Materials & Design**, v. 127, p. 261–271, 2017.

Kutscher, A. H. et al. A new vehicle (orabase) for the application of drugs to the oral mucous membranes. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, v. 12, n. 9, p. 1080–1089, 1959.

Labib, G. S.; Aldawsari, H. Innovation of natural essential oil-loaded Orabase for local treatment of oral candidiasis. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 9, p. 3349, 2015.

Laffleur, F. Mucoadhesive polymers for buccal drug delivery. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 40, n. 5, p. 591–598, 2014.

Lafontaine, J. S. et al. Mucoadhesive amorphous solid dispersions for sustained release of poorly water soluble drugs. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 113, p. 157-167, 2017.

Le, X. T.; Turgeon, S. L. Rheological and structural study of electrostatic cross-linked xanthan gum hydrogels induced by β -lactoglobulin. **Soft Matter**, v. 9, n. 11, p. 3063–3073, 2013.

Lee, J. W.; Park, J. H.; Robinson, J. R. Bioadhesive-based dosage forms: The next generation. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 89, n. 7, p. 850–866, 2000.

Li, T.; Bao, Q.; Shen, J.; Lalla, R. V; Burgess, D. J. Mucoadhesive in situ forming gel for oral mucositis pain control. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 580, p. 119238, 2020.

Li, Y.; Meunier, D. M.; Partain, E. M. Molecular weight distribution characterization of

hydrophobe-modified hydroxyethyl cellulose by size-exclusion chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1359, p. 182–188, 2014.

Luo, K et al. Mucoadhesive and elastic films based on blends of chitosan and hydroxyethylcellulose. **Macromolecular Bioscience**, v. 8, n. 2, p. 184-192, 2008.

Luo, P.; Liu, L.; Xu, W.; Fan, L.; Nie, M. Preparation and characterization of aminated hyaluronic acid/oxidized hydroxyethyl cellulose hydrogel. **Carbohydrate Polymers**, v. 199, p. 170–177, 2018.

Malhotra, A. K.; Khaitan, B. K.; Sethuraman, G.; Sharma, V. K. Betamethasone oral mini-pulse therapy compared with topical triamcinolone acetonide (0.1%) paste in oral lichen planus: A randomized comparative study. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 58, n. 4, p. 596–602, 2008.

Marena, GD et al. Incorporation of Ursolic Acid in Liquid Crystalline Systems Improves the Antifungal Activity Against Candida Sp. **Journal of Pharmaceutical Innovation**, p. 1-11, 2020.

Marques, M. R. C.; Loebenberg, R.; Almukainzi, M. Simulated biological fluids with possible application in dissolution testing. **Dissolution Technol**, v. 18, n. 3, p. 15–28, 2011.

Martin, M. J.; Calpena, A. C.; Fernandez, F.; Mallandrich, M.; Gálvez, P.; Clares, B. Development of alginate microspheres as nystatin carriers for oral mucosa drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 140–149, 2015.

Martínez-Martínez, M.; Rodríguez-Berna, G.; Bermejo, M.; Gonzalez-Alvarez, I.; Gonzalez-Alvarez, M.; Merino, V. Covalently crosslinked organophosphorous derivatives-chitosan hydrogel as a drug delivery system for oral administration of camptothecin. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 136, p. 174–183, 2019.

Mathiowitz, E.; Chickering III, D. E.; Lehr, C.-M. Bioadhesive drug delivery systems: fundamentals, novel approaches, and development. **Drugs and The Pharmaceutical Sciences**. v.98. New York. Marcel Dekker.1999.

Mazzarino, L.; Borsali, R.; Lemos-Senna, E. Mucoadhesive films containing chitosan-coated nanoparticles: A new strategy for buccal curcumin release. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 103, n. 11, p. 3764–3771, 2014.

Muniz, B. V. et al. Hybrid hydrogel composed of polymeric nanocapsules co-loading lidocaine and prilocaine for topical intraoral anesthesia. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–12, 2018.

Nicolazzo, J. A.; Reed, B. L.; Finnin, B. C. The effect of various in vitro conditions on the permeability characteristics of the buccal mucosa. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 92, n. 12, p. 2399–2410, 2003.

de Oliveira C. V. M.; Gremião, M. P. D.; Cury, B. S. F. Mucin-polysaccharide interactions: A rheological approach to evaluate the effect of pH on the mucoadhesive properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 149, p. 234–245, 2020.

Omcilon-A Orabase. **BulasMed**, São Paulo, 17 de abr. de 2021. Disponível em: <https://www.bulas.med.br/p/bulas-de-medicamentos/bula/4461/omcilon+a+orabase.htm>

Pagano, C.; Giovagnoli, S.; Perioli, L.; Tiralti, M. C.; Ricci, M. Development and characterization of mucoadhesive-thermoreponsive gels for the treatment of oral mucosa diseases. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 142, p. 105125, 2020.

Peppas, N. A.; Sahlin, J. J. Hydrogels as mucoadhesive and bioadhesive materials: a review. **Biomaterials**, v. 17, n. 16, p. 1553–1561, 1996.

Peralta-Zamora, P.; de Moraes, J. L.; Nagata, N. Por que otimização multivariada? **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, n. 2, p. 106–110, 2005.

Pinto-Fraga, J.; De La Rosa, L. A.; Blázquez Arauzo, F.; Urbano Rodríguez, R.; González-García, M. J. Efficacy and safety of 0.2% hyaluronic acid in the management of dry eye disease. **Eye & Contact Lens: Science & Clinical Practice**, v. 43, n. 1, p. 57–63, 2017.

Pornpitchanarong, C.; Rojanarata, T.; Opanasopit, P.; Ngawhirunpat, T.; Patrojanasophon, P. Catechol-modified chitosan/hyaluronic acid nanoparticles as a new avenue for local delivery of doxorubicin to oral cancer cells. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 196, p. 111279, 2020.

Risaliti, L.; Yu, X.; Vanti, G.; Bergonzi, M. C.; Wang, M.; Bilia, A. R. Hydroxyethyl cellulose hydrogel for skin delivery of khellin loaded in ascosomes: Characterization, in vitro/in vivo performance and acute toxicity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 179, p. 217–229, 2021.

Rodero, C. F. et al. Curcumin-loaded liquid crystalline systems for controlled drug release and improved treatment of vulvovaginal candidiasis. **Molecular Pharmaceutics**, v. 15, n. 10, p. 4491–4504, 2018.

Sadeghian, R.; Rohani, B.; Golestannejad, Z.; Sadeghian, S.; Mirzaee, S. Comparison of therapeutic effect of mucoadhesive nano-triamcinolone gel and conventional triamcinolone gel on oral lichen planus. **Dental Research Journal**, v. 16, n. 5, p. 277, 2019.

Salmazi, R.; Calixto, G.; Bernegossi, J.; dos Santos Ramos, M. A.; Bauab, T. M.; Chorilli, M. A curcumin-loaded liquid crystal precursor mucoadhesive system for the treatment of vaginal candidiasis. **International Journal of Nanomedicine**, v. 10, p. 4815, 2015.

Santos, CA. et al. Correlation of two bioadhesion assays: the everted sac technique and

the CAHN microbalance. **Journal of Controlled Release**, v. 61, n. 1–2, p. 113–122, 1999.

dos Santos Ramos, M. A. et al. Syngonanthus nitens Bong.(Rhul.)-loaded nanostructured system for vulvovaginal candidiasis treatment. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 8, p. 1368, 2016.

Sanz, R.; Calpena, A. C.; Mallandrich, M.; Gimeno, Á.; Halbaut, L.; Clares, B. Development of a buccal doxepin platform for pain in oral mucositis derived from head and neck cancer treatment. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 117, p. 203–211, 2017.

Saxena, A.; Kaloti, M.; Bohidar, H. B. Rheological properties of binary and ternary protein–polysaccharide co-hydrogels and comparative release kinetics of salbutamol sulphate from their matrices. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 48, n. 2, p. 263–270, 2011.

Semalty, A.; Semalty, M.; Nautiyal, U. Formulation and evaluation of mucoadhesive buccal films of enalapril maleate. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 72, n. 5, p. 571, 2010.

Şenel, S. et al. Enhancing effect of chitosan on peptide drug delivery across buccal mucosa. **Biomaterials**, v. 21, n. 20, p. 2067–2071, 2000.

Serra, L.; Doménech, J.; Peppas, N. A. Engineering design and molecular dynamics of mucoadhesive drug delivery systems as targeting agents. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 71, n. 3, p. 519–528, 2009.

Schenkels, LCPM; Veerman, ECI; Nieuw Amerongen, AV. Biochemical composition of human saliva in relation to other mucosal fluids. **Critical Reviews In Oral Biology & Medicine**, v. 6, n. 2, p. 161–175, 1995.

Shinkar, D. M.; Dhake, A. S.; Setty, C. M. Drug delivery from the oral cavity: A focus on mucoadhesive. **PDA J. Pharm. Sci. Technol**, v. 66, p. 466–500, 2012.

Shojaei, A. H.; Paulson, J.; Honary, S. Evaluation of poly (acrylic acid-co-ethylhexyl acrylate) films for mucoadhesive transbuccal drug delivery: factors affecting the force of mucoadhesion. **Journal of Controlled Release**, v. 67, n. 2–3, p. 223–232, 2000.

da Silva, G. H. R.; Ribeiro, L. N. M.; Mitsutake, H.; Guilherme, V. A.; Castro, S. R.; Poppi, R. J.; Breitzkreitz, M. C.; de Paula, E. Optimised NLC: a nanotechnological approach to improve the anaesthetic effect of bupivacaine. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 529, n. 1–2, p. 253–263, 2017.

Singh, M.; Tiwary, A. K.; Kaur, G. Investigations on interpolymer complexes of cationic guar gum and xanthan gum for formulation of bioadhesive films. **Research in Pharmaceutical Sciences**, v. 5, n. 2, p. 79, 2010.

Smart, J. D. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, n. 11, p. 1556–1568, 2005.

Smart, J. D.; Kellaway, I. W.; Worthington, H. E. C. An in-vitro investigation of mucosa-adhesive materials for use in controlled drug delivery. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 36, n. 5, p. 295–299, 1984.

Souto, E. B.; Lopes, C. M. Novas formas farmacêuticas para administração de fármacos. **Edições Universidade Fernando Pessoa**, p. 105–138, 2011.

Souza Ferreira, S. B. et al. Mucoadhesive emulgel systems containing curcumin for oral squamous cell carcinoma treatment: From pre-formulation to cytotoxicity in tissue-engineering oral mucosa. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 151, p. 105372, 2020.

Sridharan, K.; Sivaramakrishnan, G. Interventions for oral lichen planus: A systematic

review and network meta-analysis of randomized clinical trials. **Australian Dental Journal**, 2021.

Thirawong, N.; Kennedy, R. A.; Sriamornsak, P. Viscometric study of pectin–mucin interaction and its mucoadhesive bond strength. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, n. 2, p. 170–179, 2008.

Thirawong, N.; Nunthanid, J.; Puttipipatkachorn, S.; Sriamornsak, P. Mucoadhesive properties of various pectins on gastrointestinal mucosa: an in vitro evaluation using texture analyzer. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 67, n. 1, p. 132–140, 2007.

Thongprasom, K.; Chaimusig, M.; Korkij, W.; Sererat, T.; Luangjarmekorn, L.; Rojwattanasirivej, S. A randomized-controlled trial to compare topical cyclosporin with triamcinolone acetonide for the treatment of oral lichen planus. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 36, n. 3, p. 142–146, 2007.

Tuçcu-Demiröz, F.; Acartürk, F.; Erdoğan, D. Development of long-acting bioadhesive vaginal gels of oxybutynin: Formulation, in vitro and in vivo evaluations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 457, n. 1, p. 25–39, 2013.

Ungphaiboon, S.; Maitani, Y. In vitro permeation studies of triamcinolone acetonide mouthwashes. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 220, n. 1–2, p. 111–117, 2001.

Victorelli, F. D.; Calixto, G. M. F.; Ramos, M. A. D. S.; Bauab, T. M.; Chorilli, M. Metronidazole-loaded polyethyleneimine and chitosan-based liquid crystalline system for treatment of staphylococcal skin infections. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 14, n. 1, p. 227–237, 2018.

Wong, C. F.; Yuen, K. H.; Peh, K. K. An in-vitro method for buccal adhesion studies: importance of instrument variables. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 180, n.

1, p. 47–57, 1999.

Woodley, J. Bioadhesion. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 40, n. 2, p. 77–84, 2001.

Xu, J.; Strandman, S.; Zhu, J. X. X.; Barralet, J.; CERRUTI, M. Genipin-crosslinked catechol-chitosan mucoadhesive hydrogels for buccal drug delivery. **Biomaterials**, v. 37, p. 395–404, 2015.

Yoke, P. C. et al. A randomized controlled trial to compare steroid with cyclosporine for the topical treatment of oral lichen planus. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 102, n. 1, p. 47–55, 2006.

Zulkifli, F. H.; Hussain, F. S. J.; Zeyohannes, S. S.; Rasad, M. S. B. A.; Yusuff, M. M. A facile synthesis method of hydroxyethyl cellulose-silver nanoparticle scaffolds for skin tissue engineering applications. **Materials Science and Engineering**, v. 79, p. 151–160, 2017.

ANEXO 1

Relatório de Similaridade

AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES MUCOADESIVAS, MECÂNICAS E REOLÓGICAS IN VITRO DE HIDROGÉIS PARA USO EM CAVIDADE BUCAL

RELATÓRIO DE ORIGINALIDADE

4%	0%	3%	1%
ÍNDICE DE SEMELHANÇA	FONTES DA INTERNET	PUBLICAÇÕES	DOCUMENTOS DOS ALUNOS
FONTES PRIMÁRIAS			
1	Esra Baloglu, Sinem Yaprak Karavana, Zeynep Ay Senyigit, Tamer Guneri. "Rheological and mechanical properties of poloxamer mixtures as a mucoadhesive gel base", Pharmaceutical Development and Technology, 2010		<1%
	Publicação		
2	Mrunal Patil. "Mucoadhesion as a strategy to enhance the direct nose-to-brain drug delivery", Elsevier BV, 2021		<1%
	Publicação		
3	Submitted to University of Reading		<1%
	Documento do Aluno		
4	Raphaela Regina De Araújo Pereira, Janine Silva Ribeiro Godoy, Terezinha Inez Stivalet Svidzinski, Marcos Luciano Bruschi. "Preparation and Characterization of Mucoadhesive Thermoresponsive Systems Containing Propolis for the Treatment of		<1%