



Otimização de wafers bucais com tetrahidrocurcuminoide para melhora da recuperação pós cirúrgica

Palavras-chave: curcuminoides, anti-inflamatório, wafer bucal

Autoras:

Aluna: Natasha Kelly Wilinski Hodel, FCF - UNICAMP

Co-orientadora: Elina Sawa Akioka Ishikawa, FCF - UNICAMP

Orientadora: Profa. Dra. Laura de Oliveira Nascimento, FCF - UNICAMP

INTRODUÇÃO:

A tetrahidrocurcumina (THC) é o principal metabólito da curcumina¹ e destaca-se pelo seu potencial anti-inflamatório e antimicrobiano, sendo considerada uma molécula promissora para o tratamento de inflamações associadas a infecções bucais²⁻⁴. Segundo relatório da Organização Mundial da Saúde, 45% da população mundial é acometida por esse tipo de infecção⁵, que, quando não tratada adequadamente, pode servir como porta de entrada para bactérias, contribuindo para o desenvolvimento de doenças sistêmicas, como as cardiovasculares. De acordo com o Instituto do Coração (InCor), 36% das mortes decorrentes de problemas cardíacos estão relacionadas a infecções bucais não tratadas⁶, o que reforça a importância de abordagens terapêuticas eficazes voltadas para a prevenção e controle dessas condições inflamatórias na cavidade oral.

A ação anti-inflamatória dos curcuminóides decorre da inibição de enzimas envolvidas no processo inflamatório, enquanto seu efeito antimicrobiano está associado à geração de produtos antioxidantes que inibem a formação de biofilmes²⁻⁴. Estudos demonstraram que a THC apresenta desempenho superior ao da curcumina, tanto na inibição da peroxidação lipídica⁷ quanto na resposta à inflamação aguda⁸, o que reforça sua relevância terapêutica e seu potencial ainda pouco explorado na literatura científica.

A THC é um composto de natureza lipofílica⁹, o que compromete a sua solubilidade e estabilidade em meio aquoso, bem como a liberação, permeação, e a biodisponibilidade desse ativo em formulações farmacêuticas. Abordagens tecnológicas têm sido estudadas para melhorar a eficácia da entrega dessas substâncias. Dentre elas, destacam-se as emulsões¹⁰, que facilitam a solubilização de substâncias lipofílicas, e os filmes liofilizados do tipo wafers, formas farmacêuticas mucoadesivas que promovem maior tempo de contato dos complexos com a mucosa, boa resistência mecânica, dose precisa e unitária, liberação local sustentada do ativo, não são desestabilizados pela saliva, e são seguros, práticos e confortáveis para os pacientes, aumentando a adesão ao tratamento¹¹⁻¹⁷.

Neste projeto, o objetivo foi desenvolver e caracterizar físico-quimicamente wafers bucais mucoadesivos contendo THC, obtidos a partir da liofilização de géis poliméricos compostos por quitosana de baixo peso molecular e um derivado de celulose, o hidroxipropilmetilcelulose, ambos polímeros considerados biodegradáveis e seguros. A THC foi previamente incorporada em emulsão e, em seguida, incluída na matriz polimérica. A formulação também contou com uma camada oclusiva (backlayer), que possibilita liberação

unidirecional do ativo apenas na região da mucosa inflamada, aumentando a eficácia terapêutica. Essa estratégia visa o prolongamento da integridade do wafer na cavidade oral, além de reduzir perdas do ativo causadas por deglutição, degradação por substâncias ingeridas e ação mecânica¹⁸.

METODOLOGIA

1. Materiais

Tetrahydrocurcuminoide fornecido pela Sabinsa Brasil. Quitosana (CH) (baixo peso molecular, 50-190 kDa, grau de desacetilação >75%, Sigma Aldrich); hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) de baixo peso molecular (400 kDa); fornecido pela Ashland. Éter monoetílico de dietilenoglicol, monocaprilato de propilenoglicol NF, polissorbato 80 e óleo de rícino ultra purificado oferecidos pela Gattefosse e Croda. Glicerina; etilcelulose; ácido acético glacial, etanol e todos os outros reagentes analíticos da Sigma-Aldrich.

2. Formulação dos géis, emulsão e wafer

A CH 2% m/m foi solubilizada em ácido acético 0,8% v/v (350 rpm/18h), e o polímero de celulose 2% m/m, em água ultrapurificada. Após completa solubilização e descanso overnight, o glicerol 2% m/m foi incorporado em cada gel. Para o preparo de 1 g de emulsão, 12,5 mg de THC foram dissolvidos na fase oleosa: 20% m/m de Transcutol-HP e 10% m/m de Capryol-90. Após completa dissolução, a fase aquosa, composta por 20% m/m de Tween-80 e qsp de água ultrapurificada, foi incorporada à fase oleosa por gotejamento. A emulsão foi adicionada à mescla de géis (CH:HPMC 1:1), representando 4% m/m da formulação pré-liofilizada.

A camada oclusiva (backlayer), por sua vez, foi composta por etilcelulose 3% m/v e óleo de rícino 1,5% v/v em álcool etílico puro. Foram acrescentados 509 uL dessa solução em cada cavidade da forma de silicone, para que a solução secasse em estufa (40°C/1h). Sobre ela, foram adicionados 2,8 g da formulação previamente preparada. O processo de secagem foi realizado no liofilizador Lyostar 3 (SP scientific), que contém prateleiras com controle computacional de pressão, rampas de temperatura e fechamento automático de frascos. As etapas foram: congelamento (-30°C/14h), secagem primária (-30°C/16h) e secagem secundária (0°C/22 h), seguida de (10°C/8 h), sob vácuo de 100 mTorr e rampas de temperatura (1°C/min).

3. Caracterização físico-química das formulações

Emulsão: O tamanho médio das partículas das amostras foi analisado por rastreamento de nanopartículas, NTA (Nanosight, Malvern Instruments Ltd), a 25 °C. A emulsão contendo THC foi diluída em água ultrapura até atingir 20-100 partículas por quadro e 10⁷-10⁹ partículas por mL (fator de diluição: 15000x). O estudo de capacidade de incorporação do ativo foi realizado com o objetivo de avaliar o limite de carregamento de THC na matriz do wafer. Diferentes concentrações da emulsão contendo THC foram adicionadas à formulação, mantendo-se constantes os demais componentes. Após 24 horas, as amostras foram avaliadas visualmente quanto à presença de precipitação do ativo, sendo considerada a estabilidade física da dispersão como critério para determinação da capacidade máxima de incorporação.

Géis: as amostras foram avaliadas em função do pH, aspecto visual (ausência de precipitação ou alteração de cor) e potencial zeta (carga superficial).

Wafers: as amostras foram visualmente avaliadas quanto a sua estrutura, facilidade de se retirar do molde e integridade da backlayer. Mediu-se as dimensões dos wafers com paquímetro (altura das bordas e centro). A umidade residual foi medida por perda de água por secagem em estufa (40°C) até a estabilização do peso. A resistência mecânica e elasticidade do wafer foram avaliadas pelo analisador de textura (TAXT plus - Stable Micro Systems, UK), equipado com uma célula de carga de 2 kg no modo de tensão. O perfil de desintegração e liberação dos wafers foi feito em béqueres de 50 mL, contendo 5 mL de saliva artificial (pH 6,8), em orbital shaker (60 rpm/37°C). Aliquotas de 500 uL foram retiradas após intervalos de 1h, 2h, 4h, 8h, 24h e 48h. A desintegração total foi observada visualmente. A cada coleta, 500 uL de saliva artificial foram repostos. A quantificação de ativo liberado foi feita por leitura em espectrofotômetro UV a 280 nm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os wafers formulados apresentaram bordas com altura de 6,44 mm e centro de 1,78 mm, em média, além de umidade residual de 3,31%. Em relação aos aspectos visuais (Figura 1), foi observada coloração predominantemente branca, com a presença de algumas manchas amareladas. Essa característica pode estar relacionada à incorporação da emulsão, sugerindo que sua distribuição na matriz não foi completamente uniforme. Não foram observadas bolhas, mas houve um leve encolhimento das bordas. A backlayer permaneceu íntegra e aderida ao wafer. A quantificação da THC foi feita por espectrofotometria UV/visível (280nm). Avaliou-se a linearidade, seletividade, limite de detecção e limite de quantificação do método de acordo com as recomendações da RDC N° 166/2017 da ANVISA (BRASIL, 2017). O método foi linear no intervalo especificado (6 - 60 µg/mL) e seletivo frente à formulação pré-lioofilizada sem fármaco.



Figura 1: Aspectos visuais do wafer de CH:HPMC com emulsão de THC.

Em relação ao teste de capacidade de incorporação do ativo, foram testadas formulações contendo 100%, 150% e 200% da concentração de emulsão contendo THC e, em todas elas, não houve precipitação (Figura 2). Esses resultados demonstram que a nanoemulsão possui boa capacidade de incorporação do ativo, suportando elevadas cargas de THC, sem comprometer sua estabilidade físico-química. Dessa forma, para estudos futuros, torna-se viável a reformulação da emulsão com o objetivo de melhorar a distribuição do ativo no wafer. Estratégias como a redução da porcentagem de emulsão e/ou a substituição dos tensoativos empregados poderão contribuir para a homogeneização da aparência e potencialmente favorecer a uniformidade da distribuição do THC na matriz.



Figura 2: Teste de capacidade de incorporação do ativo após 24 horas.

O pH pré liofilização, resistência mecânica, elasticidade e perfil de desintegração das formulações realizadas podem ser observados na tabela 1.

Tabela 1: Resultados obtidos para wafers de CH:HPMC

Wafer de CH:HPMC contendo	pH pré-liofilização	Texturômetro		Perfil de desintegração (horas)
		Resistência à perfuração (MPa)	Alongamento (%)	
THC em pó	4,83	6,1	54,40	>48
Emulsão de THC	4,9	4,98	45,25	>48

Em relação à desintegração, a estrutura dos wafers resistiu durante 48 horas de simulação em ambiente bucal, demonstrando que a matriz é adequada para o uso prolongado na cavidade bucal, como propõe o projeto. Quanto ao NTA, os resultados indicaram que a emulsão apresenta diâmetro médio de partícula de $148,6 \pm 4,3$ nm, com moda de $136,2 \pm 9,9$ nm e desvio padrão de $49,3 \pm 1,9$ nm. Os valores de D10, D50 e D90 foram de $98,0 \pm 3,0$ nm, $144,0 \pm 2,2$ nm e $194,0 \pm 9,0$ nm, respectivamente, evidenciando que 90% das partículas encontram-se abaixo de 200 nm. Esses resultados confirmam que a formulação avaliada se caracteriza como uma nanoemulsão. A concentração de partículas foi de $9,99 \times 10^{12} \pm 2,01 \times 10^{11}$ partículas/mL.

O potencial zeta da formulação pré-liofilizada (CH:HPMC + emulsão sem ativo) foi de $+7,23 \pm 1,51$ mV, indicando uma carga superficial positiva. Esse perfil é desejável em formulações mucoadesivas, uma vez que favorece a interação eletrostática com a mucina, principal componente da saliva, que possui carga negativa. Dessa forma, a carga positiva da formulação contribui para uma melhor adesão à mucosa bucal e, conseqüentemente, para uma liberação mais eficiente do ativo no local de aplicação.

CONCLUSÃO

Dessa forma, os wafers bucais desenvolvidos apresentaram perfil físico-químico adequado para uso prolongado na cavidade oral, com boa resistência mecânica, baixa umidade residual e desintegração superior a 48 h. A emulsão incorporada demonstrou elevada capacidade de carregamento de THC sem comprometer a estabilidade, e os resultados de NTA confirmaram a obtenção de uma nanoemulsão. Além disso, a carga superficial positiva da formulação favorece a adesão mucoadesiva, contribuindo para uma adesão mais eficiente da matriz à mucosa, reforçando o potencial da tecnologia proposta para aplicação terapêutica local em inflamações bucais. Como perspectiva futura, destaca-se a possibilidade de otimizar a homogeneidade da formulação por meio da redução da porcentagem de emulsão ou da modificação dos tensoativos utilizados. Testes de estabilidade do wafer e liberação do ativo estão sendo realizados, e serão apresentados no Congresso.

BIBLIOGRAFIA

1. AGGARWAL, B.; DEB, L.; PRASAD, S. Curcumin differs from tetrahydrocurcumin for molecular targets, signaling pathways and cellular responses. *Molecules* (Basel, Switzerland), v. 20, n. 1, p. 185–205, 2014.
2. Banik, U.; Parasuraman, S.; Adhikary, A.K.; Othman, N.H. Curcumin: The spicy modulator of breast carcinogenesis. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* v. 36, 98, 2017.
3. Tyagi, P.; Singh, M.; Kumari, H.; Kumari, A.; Mukhopadhyay, K. Bactericidal Activity of Curcumin Is Associated with Damaging of Bacterial Membrane. *PLoS ONE* v. 10, e0121313, 2015.
4. Arshad, L.; Haque, M.A.; Abbas Bukhari, S.N.; Jantan, I. An overview of structure–activity relationship studies of curcumin analogs as antioxidant and anti-inflammatory agents. *Future Med. Chem.* v. 9, 605–626, 2017.
5. WHO launches Global Oral Health Status Report. FDI World Dental Federation, 18 de novembro de 2022. Disponível em: <https://www.fdiworlddental.org/who-launches-global-oral-health-status-report>. Acesso em: 07 de maio de 2024.
6. Dia Mundial do Coração: cerca de 45% das doenças cardíacas podem ter origem dental. Conselho Federal de Odontologia, 29 de setembro de 2022. Disponível em: <https://website.cfo.org.br/dia-mundial-do-coracao-cerca-de-45-das-doencas-cardiacas-podem-ter-origem-dental/>. Acesso em: 07 de maio de 2024.
7. Sugiyama et al. (1996) *Biochem. Pharmacol.*, 52(4), 519-525.
8. MAJEED, M.; PRAKASH, L. Bioactive Antioxidant Compounds From Curcuminoids. Disponível em: <https://sabinsa.com/newsroom/articles/2008TetrahydrocurcuminoidsCG.pdf>. Acesso em: 8 maio. 2024.
9. Prasad, S.; Tyagi, A.K.; Aggarwal, B.B. Recent Developments in Delivery, Bioavailability, Absorption and Metabolism of Curcumin: The Golden Pigment from Golden Spice. *Cancer Res. Treat.* v. 46, 2–18, 2014
10. MOMOH, Mumuni A. et al. Microemulsion-based approach for oral delivery of insulin: formulation design and characterization. *Heliyon*, v. 6, n. 3, 2020.
11. COUTO, Renê Oliveira do. Desenvolvimento de filmes mucoadesivos para liberação de fármacos anestésicos na cavidade bucal. 2015. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
12. RATHBONE, Michael John; PATHER, Indiran; ŞENEL, Sevda. Overview of oral mucosal delivery. *Oral mucosal drug delivery and therapy*, p. 17-29, 2015.
13. CAMARGO, LUCAS GARCIA. Desenvolvimento de membranas mucoadesivas compostas por diferentes proporções de quitosana e alginato para a liberação controlada do fármaco antineoplásico imiquimode.
14. Ayensu, I.; Mitchell, J. C.; Boateng, J. S. Development and physico-mechanical characterisation of lyophilised chitosan wafers as potential protein drug delivery systems via the buccal mucosa. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 91, 258–265, 2012.
15. COSTA, J. S. R.; DE OLIVEIRA CRUVINEL, K.; OLIVEIRA-NASCIMENTO, L. A mini-review on drug delivery through wafer technology: Formulation and manufacturing of buccal and oral lyophilizates. *Journal of advanced research*, v. 20, p. 33–41, 2019
16. Radha, M.B.; Murthy, V.S.N.; Rani, P.; Gattu. D.K. Buccal Film Drug Delivery System: An Innovative and Emerging Technology. *Molecular Pharmaceutics & Organic Process Research*, v. 1, 1-6, 2013
17. PRADO, B. D.; COSTA, J. S. R.; DE OLIVEIRA NASCIMENTO, L. Solubilização de curcumina com ciclodextrina para incorporação em wafers bucais de liberação controlada. Disponível em: <https://www.prp.unicamp.br/inscricao-congresso/resumos/2020P17554A33999O2195.pdf>. Acesso em: 8 maio. 2024
18. POMBAL, Rute; BARATA, Pedro; OLIVEIRA, Rita. Estabilidade dos medicamentos manipulados. 2010.