

EFEITOS DE POLÍMEROS CELULÓSICOS E PLASTIFICANTES HIDROFÍLICOS NA PERMEÇÃO IN VITRO DE ANESTÉSICOS LOCAIS A PARTIR DE FILMES MUCOADESIVOS

Marcus Vinícius Pomini¹, Renê Oliveira do Couto¹

1. Universidade Federal de São João del-Rei – Campus Centro Oeste Dona Lindu

Resumo

A anestesia injetável é uma etapa imprescindível na odontologia, mas a temida agulha afugenta os pacientes dos consultórios, comprometendo sua saúde bucal e qualidade de vida. Assim, o desenvolvimento de novos produtos que mitiguem o desconforto dos pacientes seria um grande avanço nesta seara.

Nesta busca, produzimos seis filmes trilaminados contendo polímeros (HPMC K100 LV e E15 LV) e plastificantes (glicerol ou manitol) hidrofílicos, além dos cloridratos de prilocaína e lidocaína (1:1) como fármacos visando anestesia bucal indolor. Estratégias de *Quality by Design* para foram usadas para determinar o efeito do tipo de HPMC (3% m/m) e do tipo e quantidade (0, 0,12 e 0,24% m/m) de plastificante na permeação in vitro dos anestésicos.

O polímero e o plastificante mais hidrofílicos favoreceram a permeação dos fármacos e sua retenção no epitélio, o que, de acordo com correlações in vitro/in vivo anteriores, pode diminuir o tempo de início e prolongar a duração do efeito anestésico.

Palavras-chave: Anestesia Dentária, Combinação Lidocaína e Prilocaína, Sistemas de Liberação de Fármacos

Apoio financeiro: CNPq (Processos: 472817/2012-4; 480962/2013-8; 429465/2016-5; bolsa de iniciação científica - Processo: 19520), FAPESP(Processos: 2012/06167-1; 2012/05644-0; 2013/12174-3; 2012/07251-6; 2014/22451-7).

Trabalho selecionado para a JNIC: UFSJ

Introdução

A anestesia local da cavidade bucal é uma etapa fundamental para o controle da dor na maioria dos procedimentos odontológicos. Tipicamente, a administração de anestésicos é feita de forma invasiva, por meio de injeções que muitas vezes amedrontam e afugentam o paciente dos consultórios[1]. Por sua vez, a administração não-invasiva de anestésicos na cavidade bucal visando à substituição às dolorosas injeções pode trazer diversas vantagens no âmbito da odontologia, possibilitando o aprimoramento de procedimentos rotineiros e cirúrgicos devido à provável redução de custos, submissão do paciente, facilidade de aplicação e menores riscos de contaminação e toxicidade[2,3].

Nos últimos anos, nossa equipe científica vem avançando sobremaneira no desenvolvimento de estratégias inovadoras para administração não invasiva de fármacos anestésicos na cavidade bucal visando à substituição das temidas agulhas em procedimentos de rotina na clínica odontológica [4–7]. Evidenciamos a eficácia clínica de filmes contendo os cloridratos de prilocaína (PCL) e lidocaína (LCL) combinados na mesma proporção (1:1, 11 mg) em adultos submetidos a punção simulada de agulhas. Estes foram produzidos a base de hidroxipropilmetilcelulose (HPMC)[9], polímero semissintético hidrofílico, biocompatível, biodegradável, de baixo custo e que tem sido amplamente utilizado em sistemas biomucoadesivos de liberação de fármacos.[8]. Neste caso, o efeito anestésico iniciou em 5 min, atingindo seu pico entre 15 e 25 min, perdurando até 50 min. Outrossim, patches trilaminados contendo 30 mg destes fármacos (1:1) reduziram em 90% a necessidades da dolorosa anestesia infiltrativa em procedimentos cirúrgicos de média complexidade[9]. Com base nas tendências observadas nos estudos de liberação in vitro destes anestésicos, nos ensaios in vitro de permeação passiva através de mucosa esofágica suína e nos estudos in vivo em voluntários, nesta proposta de continuidade testamos a hipótese de que ao tornar os filmes mais hidrofílico em função do tipo de HPMC e do tipo e quantidade de plastificante utilizados, poderemos aumentar a velocidade de disponibilização dos fármacos e sua retenção no epitélio bucal. Para tanto, utilizamos um planejamento fatorial fracionário e metodologia de superfície de resposta com ferramentas de Quality by Design (QbD).

Metodologia

Os patches anestésicos bucais foram projetados de modo similar a sistemas terapêuticos transdérmicos do tipo monolítico[10]. Assim, foram produzidas e montadas três camadas distintas, i.e., liberação, mucoadesão e oclusiva. Em todos os casos, os filmes foram obtidos por evaporação de solvente. Quanto a camada de liberação, seis diferentes composições foram obtidas usando como ferramenta de QbD um delineamento experimental fracionário do tipo 2^{3-1} com duas replicatas no ponto central [11]. O objetivo foi investigar e compreender os efeitos do tipo de polímero celulósico formador de matriz filmógena (Pol_T), tipo ($Plas_T$) e quantidade de plastificante hidrofílico ($Plas_A$) nos parâmetros cinéticos de permeação dos anestésicos a partir

dos patches. Os fatores estudados e seus níveis são apresentados na Tab. 1, que representa a matriz do planejamento fatorial.

Tabela 1: Matriz do planejamento fatorial fracionário (2^{3-1})

Patches	X_1 . Pol _T (-)	X_2 . Plas _T (-)	X_3 . Plas _A (% , m.m ⁻¹)
P1	(1) HPMC K100LV	(-1) glicerol	(0) 4
P2	(-1) HPMC E15LV	(1) manitol	(0) 4
P3	(-1) HPMC E15LV	(-1) glicerol	(1) 8
P4	(1) HPMC K100LV	(1) manitol	(1) 8
P5	(-1) HPMC E15LV	(-1) glicerol	(-1) 0
P6	(1) HPMC K100LV	(1) manitol	(-1) 0

X_n , fatores estudados no delineamento experimental; -1, 0, +1: níveis codificados dos fatores estudados no delineamento experimental; HPMC, hidroxipropil metilcelulose; Pol_T, tipo de polímero celulósico formador de matriz filmógena; Plas_T, tipo de plastificante hidrofílico; Plas_A, quantidade de plastificante hidrofílico em função da massa de polímero formador de matriz.

A camada mucoadesiva teve como base HPMC E15LV (2% m/m) e manitol (0,06%). Já a camada isolante foi composta por Eudragit® S100 (6,5% m.m-1) e trietilcitrate (6% p.v-1). Assim, a camada de liberação foi montada sob uma camada mucoadesiva e, sobre as duas, adicionada a camada isolante. Detalhes técnicos da produção dos patches são descritos em trabalhos do grupo[9,12].

A avaliação *in vitro* da permeação dos anestésicos foi realizada usando como modelo de membrana epitélio esofageal suíno inserida em células de permeação vertical tipo Franz e saliva artificial como meio receptor [4,5]. Amostras do meio receptor foram coletadas em tempos pré-determinados (10, 20, 30, 40, 50 e 60 min) os fármacos foram quantificados simultaneamente por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) acoplada a detector de arranjo de diodos (DAD) usando método desenvolvido e validado por nossa equipe [4]. O mesmo método foi usado para a quantificação dos anestésicos retidos no epitélio (Qepit). Os perfis de permeação foram analisados por meio da correlação entre a quantidade cumulativa de fármaco permeada em função do tempo. Por meio de modelo cinético de ordem zero e método dos mínimos quadrados foram determinados o fluxo médio de permeação através do epitélio (Jss), o tempo de latência (Lt) e os coeficientes de permeabilidade (Kp).

As análises estatísticas dos dados experimentais foram realizadas por ANOVA e regressão linear usando a Metodologia de Superfície de Resposta (MSR), empregando o módulo Industrial Statistics & Six Sigma / Experimental Design (DOE) do software Statistica 7 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, EUA). Quando aplicável, as médias de duas populações foram comparadas por Teste-t de Student, utilizando o software GraphPad® InStat 5.0 (GraphPad Software Inc., CA, EUA). Em todas as análises, foram considerados significativos valores de p inferiores a 5% ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

Os resultados dos teores de PCI e LCI nos patches e dos parâmetros cinéticos de permeação são apresentados nas Tabelas 2 e 3, respectivamente. As médias dos teores dos anestésicos variaram de 85% a 115%, portanto, dentro da especificação proposta pela literatura[13]. Não houve diferenças estatisticamente significativas nos teores dos fármacos ($p > 0,05$).

As Figuras 1a e 1b apresentam os perfis de permeação de PCI e LCI, respectivamente, a partir dos patches mucoadesivos, que se enquadraram no modelo cinético e ordem zero ($R^2 > 0,97$). Este perfil de permeação indica que, assim como ocorre nos sistemas terapêuticos transdérmicos, a matriz fármaco-polímero arquitetada na camada de liberação dos patches assegura fluxo de permeação constante e independente da concentração inicial. O modelo cinético de ordem zero também foi utilizado para descrever a permeação dos anestésicos através do epitélio esofageal suíno a partir de soluções[4], géis[5], filmes poliméricos[6] e comprimidos mucoadesivos[7].

Em média, os resultados obtidos para os parâmetros cinéticos de permeação Jss, Kp, e Qepit foram maiores nos patches obtidos usando HPMC K100 LV como polímero hidrofílico na camada de liberação (P1, P4 e P6). Nestes casos, os Jss e Kp dos anestésicos foram até 2,3 vezes e 5,8 vezes maiores, respectivamente, do que os obtidos para filmes contendo 22 mg dos anestésicos combinados na mesma proporção [6]. Ainda, os resultados de Jss, Kp e Qepit obtidos para o patch P4 foram comparáveis aos de comprimidos mucodesivos orodispersíveis contendo 30 mg de PCI e LCI (1:1)[10]. Aqui, os Lt de PCL foram significativamente menores ($p < 0,05$) do que os encontrados para os filmes e comprimidos supracitados. Porém, os resultados de Jss, Kp e Qepit obtidos para o patch P4 foram até 9x maiores do que as obtidas para patches contendo 0,9% (m/m) de PEG400 como plastificante[9], e que apresentaram eficácia clínica na substituição da anestesia em procedimentos odontológicos de média complexidade[12].

Tabela 2: Resultados dos teores e parâmetros cinéticos da permeação do cloridrato de prilocaína a partir dos patches mucoadesivos

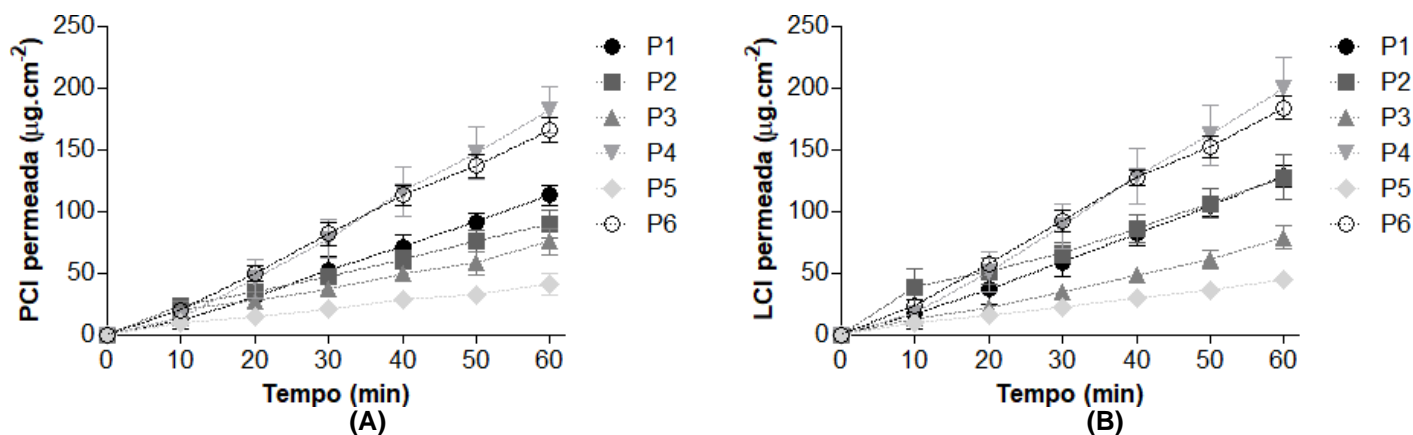
	P1	P2	P3	P4	P5	P6
T (mg.g ⁻¹)	391,3 ± 57,3 ^a	352,1 ± 20,2 ^a	320,5 ± 26,7 ^a	346,0 ± 7,0 ^a	364,2 ± 12,3 ^a	348,8 ± 37,5 ^a
Jss (µg.cm ⁻² .min ⁻¹)	2,03 ± 0,10	1,34 ± 0,21	1,09 ± 0,22	3,38 ± 0,28	0,63 ± 0,13	2,91 ± 0,15
Kp x 10 ⁻⁴ (cm.min ⁻¹)	3,59 ± 0,46	0,29 ± 0,04	0,58 ± 0,04	7,12 ± 0,46	0,09 ± 0,01	5,90 ± 0,75
Lt (min)	5,40 ± 0,91	7,59 ± 1,62	8,90 ± 6,79	4,28 ± 1,08	4,52 ± 3,22	3,91 ± 1,63
Qepit (µg.cm ⁻²)	1543,57 ± 188,03	305,59 ± 12,77	189,13 ± 27,22	1352,96 ± 68,39	153,87 ± 29,02	1753,60 ± 251,70
R ²	0,996 ± 0,005 ^a	0,997 ± 0,002 ^a	0,976 ± 0,020 ^a	0,997 ± 0,001 ^a	0,985 ± 0,011 ^a	0,997 ± 0,002 ^a

Resultados expressos como média ± desvio padrão, DP (n ≥ 3). T, teor de fármaco; Jss, fluxo de permeação; Kp, coeficiente de permeabilidade; Lt, tempo de latência; Qepit, quantidade de fármaco retido epitélio; R²: Coeficiente de determinação; Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatisticamente significativa (p < 0,05; ANOVA, Tukey's post hoc test)

Tabela 3: Resultados dos teores e parâmetros cinéticos da permeação do cloridrato de lidocaína a partir dos patches mucoadesivos

	P1	P2	P3	P4	P5	P6
T (mg.g ⁻¹)	349,1 ± 41,8 ^a	349,2 ± 23,0 ^a	336,1 ± 32,4 ^a	359,0 ± 6,1 ^a	391,5 ± 42,5 ^a	403,7 ± 57,9 ^a
Jss (µg.cm ⁻² .min ⁻¹)	2,24 ± 0,20	1,79 ± 0,11	1,32 ± 0,18	4,35 ± 0,70	0,70 ± 0,10	3,19 ± 0,18
Kp x 10 ⁻⁴ (cm.min ⁻¹)	4,36 ± 0,61	0,31 ± 0,05	0,67 ± 0,05	8,66 ± 0,72	0,10 ± 0,01	6,05 ± 0,79
Lt (min)	5,70 ± 1,00	7,30 ± 2,47	2,39 ± 1,40	5,70 ± 2,20	2,81 ± 2,12	1,92 ± 1,66
Qepit (µg.cm ⁻²)	1278,53 ± 65,00	347,97 ± 28,99	209,25 ± 32,88	1278,90 ± 69,80	184,11 ± 35,90	1778,10 ± 195,80
R ²	0,996 ± 0,004 ^a	0,985 ± 0,021 ^a	0,990 ± 0,006 ^a	0,998 ± 0,002 ^a	0,995 ± 0,004 ^a	0,995 ± 0,003 ^a

Resultados expressos como média ± desvio padrão, DP (n ≥ 3). T, teor de fármaco; Jss, fluxo de permeação; Kp, coeficiente de permeabilidade; Lt, tempo de latência; Qepit, quantidade de fármaco retido epitélio; R²: Coeficiente de determinação; Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatisticamente significativa (p < 0,05; ANOVA, Tukey's post hoc test)

**Figura 1:** Perfis de permeação dos cloridratos de prilocaína (A) e lidocaína (B) a partir de patches mucoadesivos

Com base em correlações *in vitro/in vivo* propostas por nossa equipe científica[6], é possível prever que os níveis de Jss, Kp e Qepit obtidos são suficientes para a indução do plano anestésico em pacientes e, portanto, que os patches (sobremaneira P4, P6 e P1) podem trazer ganhos significativos em eficácia, segurança e comodidade para pacientes e dentistas durante procedimentos odontológicos de baixa e média complexidades.

Verifica-se que os maiores valores preditos de Jss e Kp de PCI e LCI podem ser obtidos usando os maiores níveis de Pol_r, Pl_{asT} e Pl_{asA} (i.e., HPMC K100 LV e manitol a 0,24% m/m – P4).

Conclusões

- Aumento da hidrofiliicidade do polímero e do plastificante favorece a permeação dos fármacos e sua retenção no epitélio.
- A arquitetura dos patches assegura fluxo constante de permeação compatível com cinética de ordem zero.
- Nenhuma das variáveis analisadas afetou o tempo de latência dos anestésicos.
- Os patches P4 e P6 composto por HPMC K100 e manitol são os mais promissores para a continuidade dos trabalhos.
- Com base em correlações *in vitro/in vivo* anteriores, o patch P4 deve induzir de forma segura e indolor do plano anestésico em humanos.
- Trazemos avanços científicos relevantes e perspectivas positivas para o manejo da dor em tratamentos dentários.

Referências bibliográficas

- [1] Ali F, Bai P, Dungrani H, Raju M, Ustad F, Hassan I. Nature and prevalence of needle phobia among dental college patients. *J Dent Res Rev* 2015;2:130–3. <https://doi.org/10.4103/2348-2915.169826>.
- [2] Muniz BV, Baratelli D, Di Carla S, Serpe L, da Silva CB, Guilherme VA, et al. Hybrid Hydrogel Composed of Polymeric Nanocapsules Co-Loading Lidocaine and Prilocaine for Topical Intraoral Anesthesia. *Sci Rep* 2018;8. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36382-4>.
- [3] Ribeiro LNM, Franz-Montan M, Alcântara ACS, Breikreitz MC, Castro SR, Guilherme VA, et al. Hybrid nanofilms as topical anesthetics for pain-free procedures in dentistry. *Sci Rep* 2020;10:11341. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68247-0>.
- [4] Couto RO, Cubayachi C, Lopez RFV, de Gaitani CM, Pedrazzi V, de Freitas O. A simple and high-resolution HPLC-PDA method for simultaneous quantification of local anesthetics in *in vitro* buccal permeation enhancement studies. *Biomed Chromatogr* 2016;30:857–66. <https://doi.org/10.1002/bmc.3619>.
- [5] Cubayachi C, Couto RO do, de Gaitani CM, Pedrazzi V, Freitas O de, Lopez RFV. Needle-free buccal anesthesia using iontophoresis and amino amide salts combined in a mucoadhesive formulation. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 2015;136:1193–201. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.11.005>.
- [6] do Couto RO, Cubayachi C, Calefi PL, Lopez RFV, Pedrazzi V, De Gaitani CM, et al. Combining amino amide salts in mucoadhesive films enhances needle-free buccal anesthesia in adults. *J Control Release* 2017;266:205–15. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.09.039>.
- [7] Silva Favacho HA, Oliveira do Couto R, Ferreira Duarte MP, Garfo Peixoto MP, Vianna Lopez RF, Pedrazzi V, et al. Synergy between surfactants and mucoadhesive polymers enhances the transbuccal permeation of local anesthetics from freeze-dried tablets. *Mater Sci Eng C* 2020;108. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110373>.
- [8] Singh R, Sharma D, Garg R. Review on Mucoadhesive Drug Delivery System with Special Emphasis on Buccal Route: An Important Tool in Designing of Novel Controlled Drug Delivery System for the Effective Delivery of Pharmaceuticals. *J Dev Drugs* 2017;06:1–12. <https://doi.org/10.4172/2329-6631.1000169>.
- [9] Couto RO, Cubayachi C, Ferreira Duarte MP, Vianna Lopez RF, Pedrazzi V, de Gaitani CM, Freitas O de. Towards the advance of a novel iontophoretic patch for needle-free buccal anesthesia. *Materials Science and Engineering: C*. 122. 111778. 10.1016/j.msec.2020.111778. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111778>
- [10] Pastore MN, Kalia YN, Horstmann M, Roberts MS. Transdermal patches: History, development and pharmacology. *Br J Pharmacol* 2015;172:2179–209. <https://doi.org/10.1111/bph.13059>.
- [11] Sadeghi Z, Dinarvand R, Asemi N, Talebpour F. Preparation, characterization and *in vivo* evaluation of novel hyaluronan containing niosomes tailored by Box-Behnken design to co-encapsulate curcumin and quercetin. *Eur J Pharm Sci* 2019;130:234–46. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.01.035>.
- [12] Adami LE, Freitas O de, Couto RO, Ferreira Duarte MP, Pedrazzi V, et al. Needle-free anesthesia: clinical efficacy of a mucoadhesive patch for atraumatic anesthesia in dental procedures. *Brazilian Oral Research*. 35. 10.1590/1807-3107bor-2021.vol35.0131. <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2021.vol35.0131>
- [13] Shabbir M, Ali S, Hamid I, Sharif A, Akhtar MF, Raza M, et al. Influence of different formulation variables on the performance of transdermal drug delivery system containing tizanidine hydrochloride: *In vitro* and *ex vivo* evaluations. *Brazilian J Pharm Sci* 2018;54:130. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902018000400130>.