

UNIVERSIDADE DE ARARAQUARA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA EM MEDICINA
REGENERATIVA E QUÍMICA MEDICINAL

FABIO TAMANINI

DESENVOLVIMENTO DE FILME ORODISPERSÍVEL CONTENDO MELATONINA
PARA SUPLEMENTAÇÃO HUMANA

Araraquara, SP

2024

FABIO TAMANINI

**DESENVOLVIMENTO DE FILME ORODISPERSÍVEL CONTENDO MELATONINA
PARA SUPLEMENTAÇÃO HUMANA**

Tese de Doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal da Universidade de Araraquara – UNIARA – como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia, Área de Concentração: Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Eliane Trovatti

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Creusa Sayuri Tahara Amaral

Araraquara, SP

2024

FICHA CATALOGRÁFICA

T155d Tamanini, Fábio.

Desenvolvimento de filme orodispersível contendo melatonina para suplementação humana/Fábio Tamanini. – Araraquara: Universidade de Araraquara, 2024.

37f.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química medicinal – UNIARA

Orientadora – Profa. Dra. Eliane Trovatti

Co -Orientadora: Profa. Dra. Creusa Tayuri Tahara Amaral

1. Forma farmacêutica. 2. Filme orodispersível. 3. Incorporação de Fármaco. 4. Melatonina. I. Título.

CDU 577.1

FABIO TAMANINI

Tese apresentada a Universidade de Araraquara - UNIARA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal.

Araraquara, 25 de outubro de 2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dr^a ELIANE TROVATTI (Orientadora)
Universidade de Araraquara – UNIARA

Documento assinado digitalmente
 ELIANE TROVATTI
Data: 01/11/2024 11:28:07-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. MAURICIO CAVICCHIOLI
Universidade de Araraquara – UNIARA

Documento assinado digitalmente
 MAURICIO CAVICCHIOLI
Data: 31/10/2024 16:44:34-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr^a REGIANE DE FÁTIMA TRAVENSOLO
Agência de Inovação da Universidade Federal de São Carlos - UFSCar

Documento assinado digitalmente
 REGIANE DE FÁTIMA TRAVENSOLO
Data: 29/10/2024 14:34:50-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a Dr^a JULIANA CRISTINA BASSAN
Faculdade de Tecnologia de Barretos - FATEC

Documento assinado digitalmente
 JULIANA CRISTINA BASSAN
Data: 30/10/2024 17:08:31-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a Dr^a ALESSANDRA LUZIA DA RÓZ
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo - IFSP

Documento assinado digitalmente
 ALESSANDRA LUZIA DA RÓZ
Data: 31/10/2024 10:18:36-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu pai, João Batista Tamanini, cuja crença nos meus sonhos ilumina meu caminho, e à minha mãe, Maria de Fátima Tamanini, que, mesmo não estando mais conosco, continua a me proteger com seu amor imortal.

AGRADECIMENTOS

A conclusão deste trabalho só foi possível graças ao apoio e às oportunidades proporcionadas pela Universidade de Araraquara. Agradeço de coração a todos os professores e funcionários que, de alguma forma, contribuíram para o meu crescimento acadêmico e pessoal.

Gostaria de expressar minha profunda gratidão à professora Dra. Eliane Trovatti, por sua sábia orientação, paciência infinita e por lutar pela minha causa. Sua dedicação me ajudou a amadurecer como profissional e como pessoa.

Ao professor Dr. André Capaldo Amaral, agradeço imensamente pela confiança depositada em meus projetos e, especialmente, por ter me apresentado à pessoa que hoje me inspira e transformou minha percepção sobre a minha vida e minha carreira.

Minha sincera gratidão à professora Dra. Creusa Sayuri Tahara Amaral, por suas valiosas contribuições e por me ajudar a desenvolver uma visão crítica e aprimorar minhas habilidades empresariais.

Agradeço às pessoas mais especiais do laboratório, Sandra e Rosana por dedicarem seu tempo e carinho para nos ajudar a realizar cada etapa do nosso sonho, além de nos ensinar o caminho da disciplina e comprometimento.

Agradeço à minha família pelo amor incondicional e por compreenderem minha ausência durante este período de intenso trabalho e dedicação. Aos meus pais e irmãos, que sempre estiveram por perto, oferecendo conforto e apoio nos momentos mais desafiadores.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste projeto, meu mais sincero agradecimento. Esta conquista é fruto do esforço conjunto e da confiança de todos que acreditaram em mim.

EPÍGRAFE

“Faça as coisas o mais simples que puder,
porém, não as mais simples.”

(Albert Einstein)

RESUMO

O mercado de suplementos nutricionais tem experimentado um crescimento significativo nos últimos anos, com uma demanda cada vez maior por produtos que promovam a saúde e o bem-estar. Além disso, o avanço da ciência e da pesquisa na área da biotecnologia tem levado ao desenvolvimento de suplementos inovadores, formulados com ingredientes de alta qualidade e baseados em evidências científicas, o que tem atraído a atenção dos consumidores preocupados com a saúde. Para este trabalho, o filme orodispersível produzido com uma matriz de amido plastificado, foi escolhido como forma farmacêutica para desenvolvimento de um suplemento que forneça a suplementação de melatonina. O filme orodispersível é uma forma de farmacêutica com a peculiar característica de dissolução na mucosa oral sem a necessidade de água. A suplementação de melatonina é utilizada para tratar distúrbios do sono, regular os ritmos circadianos em indivíduos com horários irregulares de trabalho ou *jet lag*, distúrbio temporário do sono que ocorre quando o relógio biológico do corpo está fora de sincronia com os sinais de um novo fuso horário, melhorar a recuperação em miopatias que causam dificuldades de locomoção e fraqueza muscular. O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma formulação para filmes orodispersíveis utilizando-se a melatonina como fármaco incorporado, glicerol como plastificante e amido de milho como polímero para estudo da conformação do filme orodispersível. Os testes realizados foram satisfatórios, visto que no ensaio de morfologia macrométrica tanto o filme orodispersível controle (FOC) e filme orodispersível melatonina (FOM) apresentaram-se translúcidos, ambas amostras são flexíveis, e puderam ser manuseadas sem danificar sua estrutura. Já no ensaio de determinação de umidade o FOM apresentou um menor teor de água no final do experimento. As curvas de tensão-deformação do ensaio de propriedades mecânicas mostraram que ambos os filmes apresentaram comportamento típico de tensão-deformação de amido plastificado, mostrando conformidade na resistência da manipulação. A imagem de microscopia revelou que a estrutura e textura FOC controle são semelhantes às do FOM. Ambos apresentavam um aspecto uniforme, sem partículas e trincas. No ensaio de absorção de água tanto FOC como FOM se apresentaram de maneira semelhante, com as etapas de intumescimento seguido da estabilização do ganho de massa do filme, sendo os passos que levam à sua desintegração, característica essencial dos filmes orodispersíveis à base de amido para administração de fármacos. No ensaio de desintegração em saliva artificial, tanto FOC como FOM, apresentaram resultados que sugerem a viabilidade na utilização do filme orodispersível como forma farmacêutica. A análise dos resultados do ensaio de liberação, levou à conclusão de que a liberação total da melatonina acompanha a degradação da matriz do filme orodispersível.

Palavras-chave: forma farmacêutica, filme orodispersível, incorporação de fármaco, melatonina.

ABSTRACT

The nutritional supplement market has experienced significant growth in recent years, with an increasing demand for products that promote health and well-being. In addition, advances in science and research in the area of biotechnology have led to the development of innovative supplements, formulated with high-quality ingredients and based on scientific evidence, which has attracted the attention of health-conscious consumers. For this work, the orodispersible film produced with a plasticized starch matrix was chosen as the pharmaceutical form for the development of a supplement that provides melatonin supplementation. The orodispersible film is a pharmaceutical form with the peculiar characteristic of dissolving in the oral mucosa without the need for water. Melatonin supplementation is used to treat sleep disorders, regulate circadian rhythms in individuals with irregular work schedules or jet lag, a temporary sleep disorder that occurs when the body's biological clock is out of sync with the signals of a new time zone, and improve recovery in myopathies that cause locomotion difficulties and muscle weakness. The objective of this study was to develop a formulation for orodispersible films using melatonin as the incorporated drug, glycerol as a plasticizer and cornstarch as a polymer to study the conformation of the orodispersible film. The tests performed were satisfactory, since in the macrometric morphology test both the control orodispersible film (FOC) and the melatonin orodispersible film (FOM) were translucent, both samples were flexible and could be handled without damaging their structure. In the moisture determination test, the FOM presented a lower water content at the end of the experiment. The stress-strain curves of the mechanical properties test showed that both films presented typical stress-strain behavior of plasticized starch, showing compliance in the handling resistance. The microscopy image revealed that the structure and texture of the control FOC are similar to those of the FOM. Both presented a uniform appearance, without particles and cracks. In the water absorption test, both FOC and FOM presented similar results, with the swelling stages followed by the stabilization of the film's mass gain, which are the steps that lead to its disintegration, an essential characteristic of starch-based orodispersible films for drug delivery. In the disintegration test in artificial saliva, both FOC and FOM presented results that suggest the viability of using the orodispersible film as a pharmaceutical form. Analysis of the results of the release test led to the conclusion that the total release of melatonin accompanies the degradation of the orodispersible film matrix.

Keywords: pharmaceutical form, orodispersible film, drug incorporation, melatonin.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	4
2. OBJETIVOS	8
3. MATERIAIS	9
4. METODOLOGIA	9
4.1. Preparação do filme orodispersível	9
4.2. Determinação de umidade	11
4.3. Propriedades mecânicas	12
4.4. Microscopia óptica	13
4.5. Ensaio de absorção de água	13
4.6. Ensaio de desintegração do filme orodispersível em saliva artificial.....	14
4.7. Ensaio de liberação	15
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
5.1. Morfologia macrométrica.....	17
5.2. Determinação de umidade	18
5.3. Propriedades mecânicas	20
5.4. Microscopia óptica	24
5.5. Ensaio de absorção de água	26
5.6. Ensaio de desintegração do filme orodispersível em saliva artificial.....	27
5.7. Ensaio de liberação	28
6. CONCLUSÃO	30
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

1. INTRODUÇÃO

A crescente demanda por formas farmacêuticas inovadoras e de fácil administração tem impulsionado a pesquisa e o desenvolvimento de novos métodos para a entrega eficiente de substâncias bioativas. Nesse contexto, os filmes orodispersíveis têm se destacado como uma alternativa promissora por oferecerem vantagens significativas, como a rápida dissolução na cavidade oral e a consequente absorção direta pela mucosa bucal (Hoffmann *et al.*, 2021).

O filme orodispersível é uma forma farmacêutica com a peculiar característica de dissolução na mucosa oral sem a necessidade de água. Frequentemente, é usado para incorporar fármacos que precisam ser administrados a pacientes com dificuldade em deglutir comprimidos ou cápsulas. Os filmes orodispersíveis geralmente são compostos por polímeros e plastificantes e também podem ser aromatizados para melhorar a experiência do paciente (Morath *et al.*, 2022; Ferlak *et al.*, 2023; Van Nguyen *et al.*, 2023).

A composição química de um filme orodispersível varia dependendo do medicamento que está sendo administrado, visto que pode ocorrer interações entre os componentes, mas geralmente incluem um polímero de base, um fármaco e um plastificante. O polímero de base é responsável por manter a forma física do filme orodispersível, e como exemplo, temos o amido de milho. O plastificante é adicionado para melhorar a flexibilidade do filme orodispersível e garantir que ele não se torne quebradiço ou rachado durante o processo de fabricação e manuseio. O fármaco propriamente dito é quem dará a funcionalidade medicinal procurada na utilização do filme orodispersível em questão (Thongwong *et al.*, 2023; Zaki *et al.*, 2023; Zhao *et al.*, 2023).

O amido é um carboidrato complexo encontrado em muitos alimentos de origem vegetal, como batatas, milho, arroz, trigo e mandioca. É composto por duas moléculas principais, a amilose e a amilopectina, formadas por cadeias de glicose unidas por ligações químicas chamadas ligações glicosídicas. A amilose é uma molécula linear, enquanto a amilopectina é uma molécula ramificada. O amido é uma importante fonte de energia para os seres humanos e é usado na fabricação de vários produtos alimentícios, como pães, massas, cereais e doces. Além disso, o amido também é usado em uma variedade de indústrias, como na fabricação de papel, tecidos e adesivos (Silva *et al.*, 2022; Malik *et al.*, 2023; Matheus *et al.*, 2023).

Frequentemente, o glicerol, também conhecido como glicerina é utilizado como plastificante nos filmes orodispersíveis, também é conhecido como glicerina, ele é um líquido incolor, inodoro e viscoso. Ele é um álcool com três grupos hidroxila (-OH), que são responsáveis por sua capacidade de interagir com as cadeias de polímero e reduzir a rigidez do material. Quando adicionado a um polímero a base de amido, o glicerol pode ajudar a melhorar a flexibilidade, a resistência ao impacto e a durabilidade do material (Alves *et al.*, 2019; Bilbao-Sans *et al.*, 2007; Carvalho; Trovatti, 2016; Carvalho *et al.*, 2003; Carvalho, 2008; Corradini, 2007; Da Roz *et al.*, 2006; Dyrek *et al.*, 2007; Fan *et al.*, 2012; Fan *et al.*, 2013; Fan *et al.*, 2016; Fasis *et al.*, 2003; Park *et al.* 2019; Rees *et al.*, 2001; Teixeira *et al.*, 2007). Além disso, o glicerol também é um umectante, o que significa que ele é capaz de atrair e reter a umidade, ajudando a manter a flexibilidade do polímero. A composição química do glicerol é $C_3H_8O_3$, o que significa que ele é composto por três átomos de carbono, oito átomos de hidrogênio e três átomos de oxigênio (Callam *et al.*, 2001).

O fármaco escolhido para o desenvolvimento do presente trabalho foi a melatonina, uma molécula de ocorrência natural no corpo humano, produzida pela glândula pineal no cérebro. Bioquimicamente, a melatonina é derivada do aminoácido triptofano e é sintetizada a partir do neurotransmissor serotonina. A produção de melatonina é regulada pelo ritmo circadiano, que é o relógio interno do corpo que regula os ciclos de sono e vigília. Durante a noite, os níveis de melatonina aumentam, promovendo a sonolência, e durante o dia, os níveis de melatonina diminuem, permitindo que o corpo fique alerta e desperto. A melatonina é responsável por regular não apenas os ciclos de sono, mas também o sistema imunológico, a função cardiovascular e a reprodução, além de ser um antioxidante poderoso, protegendo as células do corpo dos danos causados pelos radicais livres (De Paula Santos *et al.*, 2023; Reiter *et al.*, 2023; Yoo; Joo, 2023).

A biossíntese da melatonina ocorre em duas etapas principais: a primeira etapa ocorre nas mitocôndrias, onde o triptofano é convertido em 5-hidroxitriptofano (5-HTP) pela ação da enzima triptofano hidroxilase. Na segunda etapa, o 5-HTP é convertido em serotonina pela enzima descarboxilase de aminoácidos aromáticos. A serotonina é, então, transportada dos neurônios serotoninérgicos para os pinealócitos da glândula pineal, onde é convertida em melatonina pela ação das enzimas N-acetiltransferase e hidroxindol-O-metiltransferase. A síntese de melatonina é regulada por um ciclo circadiano, com níveis mais elevados à noite e níveis mais baixos durante

o dia. A melatonina é secretada na corrente sanguínea, onde pode viajar para várias partes do corpo, incluindo o cérebro, para regular os ritmos circadianos, o sono, a regulação do humor, a função imunológica e outros processos biológicos. A influência da luz na biossíntese da melatonina é essencial, principalmente devido ao seu efeito na atividade das enzimas envolvidas nas etapas finais dessa via metabólica. A luz, especialmente a luz azul, inibe a atividade da enzima N-acetiltransferase (NAT), uma das principais enzimas responsáveis pela conversão da serotonina em melatonina nos pinealócitos. (Reiter *et al.*, 2022; Feng *et al.*, 2022; Mohammed & Karatepe, 2022; Ahmad *et al.*, 2023).

A suplementação de melatonina é utilizada para tratar distúrbios do sono, regular os ritmos circadianos em indivíduos com horários irregulares de trabalho ou *jet lag*, distúrbio temporário do sono que ocorre quando o relógio biológico do corpo está fora de sincronia com os sinais de um novo fuso horário (Sack, 2009), melhorar a recuperação em miopatias que causam dificuldades de locomoção e fraqueza muscular, além de ter efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e imunomoduladores que podem ser benéficos em várias condições, incluindo transtornos neurodegenerativos, doenças cardiovasculares e diabetes (Chivchibashi-Pavlova *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2023; Thomas *et al.*, 2023).

A melatonina está disponível como suplemento com uma dosagem de 210 mcg, esse suplemento oferece uma quantidade de melatonina próxima à produzida naturalmente pelo corpo, proporcionando um leve suporte para induzir o sono de forma controlada. Recomenda-se tomar o suplemento de 30 a 60 minutos antes de dormir, para imitar a liberação de melatonina da glândula pineal (ANVISA, 2021).

A mucosa oral é uma alternativa para a administração da melatonina. A absorção da melatonina pela mucosa oral ocorre por meio de um processo de difusão passiva através da membrana mucosa. A absorção é influenciada por vários fatores, incluindo a concentração da melatonina e pH do produto, otimizando a biodisponibilidade da melatonina em comparação com a administração oral convencional. Além disso, a administração sublingual da melatonina resultou em uma rápida absorção, com níveis plasmáticos máximos sendo alcançados após 30 minutos (Waldhauser *et al.*, 1990; Zisapel, 2018; Iwamoto *et al.*, 2022; Lamolha *et al.*, 2023)

Desenvolveu-se, com este trabalho, uma metodologia inovadora para a produção de suplemento à base de melatonina para absorção na mucosa oral, a fim

de contemplar a população com dificuldades de deglutição, através de um filme orodispersível.

2. OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho foi desenvolver uma um filme orodispersível composto por melatonina para uso em suplementação humana.

Os objetivos específicos foram testar essa matriz composta por um polímero, um plastificante e o fármaco (a melatonina), nos métodos de morfologia macrométrica, determinação de umidade, propriedades mecânicas, microscopia óptica, ensaios de absorção de água, desintegração em saliva artificial e liberação.

3. MATERIAIS

Os materiais utilizados no preparo do filme foram a melatonina (Sigma Aldrich®), glicerol (Synth®), amido de milho (Maizena®), solução tampão fosfato salina (PBS - Phosphate-buffered saline – pH 7,2), saliva artificial composta de cloreto de potássio (0,12%), cloreto de sódio (0,010%), citrato de cálcio (0,015%), cloreto de magnésio (0,005%), sorbitol (3% corrigido), gel de natrosol (15%), nipagin (0,1%) e água destilada qsp com a incorporação de amilase (200 mg) manipulados pela Farmácia e Drograria Rosário, equipamento de espectrofotometria capaz de medir e comparar a quantidade de luz absorvida, transmitida ou refletida por uma determinada amostra, seja ela solução, sólido transparente ou sólido opaco (BePhotronics®, modelo V-M5 VIS Spectrophotometer®), um forno de micro-ondas (Consul® - Facilite midi, modelo CMS30ABHHNA 127 v / 60 Hz e corrente 20 A), dispositivo Instron 5969® Universal Material Testing Machine para avaliar propriedades mecânicas, bandejas de porcelana, tubos de ensaio e suportes, placas de Petri, balões volumétricos, vidros de relógio, béqueres, bastões, micropipetas, um computador com acesso à internet, celular Apple® modelo Iphone® 11 Pro Max® para registro das imagens, pinça, malhas plásticas, tesoura e canetas para demarcação de vidrarias.

4. METODOLOGIA

4.1. Preparação do filme orodispersível

O desenvolvimento do filme orodispersível foi realizado utilizando amido de milho e glicerol como componentes principais, incorporando melatonina como fármaco. Inicialmente, misturou-se o amido (5 g) com água destilada (80 g) à temperatura controlada de 37 °C. Essa mistura foi então aquecida em forno de micro-ondas com potência de 700 W por 50 segundos para geleificação do amido. Após o aquecimento, adicionou-se o glicerol (2 g) à mistura de amido gelatinizado.

A homogeneização manual foi realizada por 30 segundos em um béquer, utilizando uma vareta de vidro para misturar os componentes e garantir uma distribuição uniforme do glicerol, que atuou como plastificante, aumentando a flexibilidade e a maleabilidade do filme final. Em seguida, verteu-se a massa homogeneizada em uma placa de Petri e deixou-se secar à temperatura constante de 37 °C por 48 horas com circulação de ar, resultando no filme orodispersível controle (FOC).

Para a preparação do filme orodispersível com melatonina (FOM), a substância foi inicialmente dissolvida em glicerol, utilizando 0,06 g de melatonina e 2 g de glicerol, correspondente a 20% da massa total. Esse passo foi crucial para garantir a distribuição uniforme da melatonina no glicerol antes de integrá-la à mistura de amido gelatinizado. O processo de homogeneização e secagem seguiu procedimentos estabelecidos anteriormente, assegurando a consistência entre as amostras.

Com a melatonina incorporada, a solução foi depositada sobre uma placa de Pétri até que toda a água fosse evaporada, resultando em um filme sólido. Após esse processo, o filme mantinha a espessura de 100 micrômetros e foi dimensionado para os testes, para que cada amostra contenha 210 microgramas (mcg) de melatonina, a medida do filme é de 25 por 25 mm, respeitando a dose terapêutica (ANVISA, 2020). Esse método garante que cada filme orodispersível respeite a dosagem correta, promovendo uma administração segura e eficaz da melatonina. A escolha dos componentes baseou-se em suas propriedades específicas. O amido de milho tem suas excelentes propriedades de formação de gel e sua capacidade de criar uma matriz estável para a incorporação do fármaco. O glicerol por sua eficácia como plastificante, atua reduzindo a rigidez do filme e melhorando sua flexibilidade

As características visuais foram capturadas com uma câmera Apple® iPhone 11 ProMAX®, enquanto as dimensões dos filmes foram medidas em triplicata com o uso de um micrômetro e um paquímetro Mitutoyo, garantindo a precisão nas medidas.

Controlou-se cuidadosamente a temperatura de 37 °C durante a mistura inicial e o processo de secagem para simular as condições fisiológicas e garantir que as propriedades do filme fossem otimizadas para a liberação na cavidade oral. Na fase de homogeneização, cronometrou-se cuidadosamente a adição do glicerol ao amido gelatinizado por 30 segundos, garantindo uma mistura uniforme. A secagem ocorreu em placas de Petri, previamente revestidas com uma fina camada de glicerol aplicada uniformemente para facilitar a remoção do filme orodispersível. O processo durou 48 horas a 37 °C, permitindo a evaporação controlada da água e resultando em um filme consistente e uniforme.

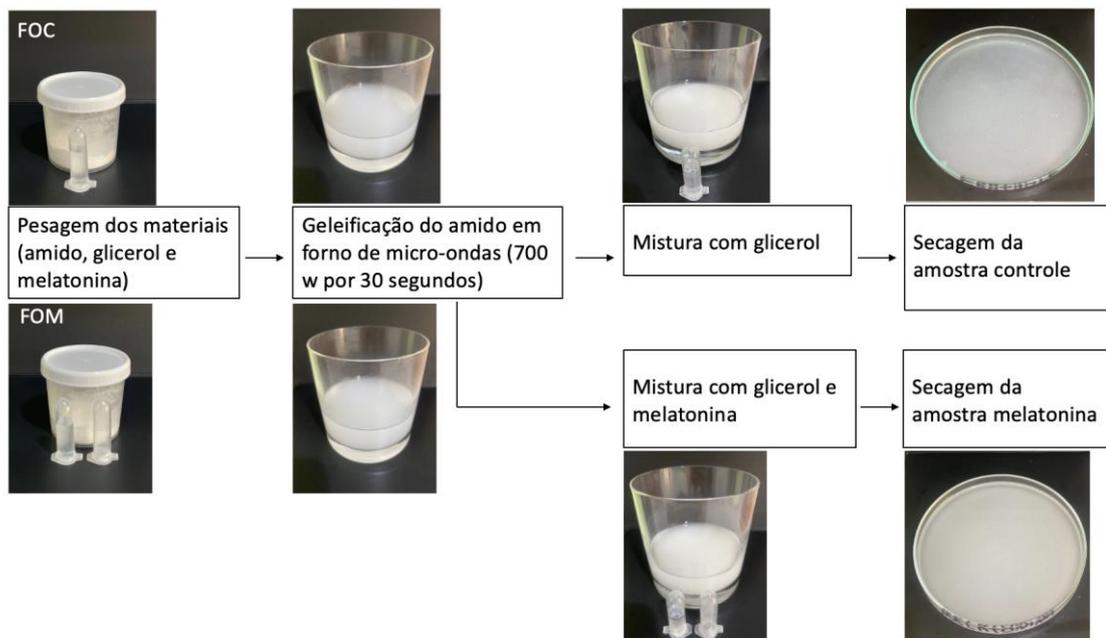


Figura 1 – Preparação do filme orodispersível controle (FOC) e melatonina (FOM)

4.2. Determinação de umidade

Os filmes, com dimensões de 25 × 25 × 0,1 mm, foram submetidos a um processo rigoroso de manutenção em condições controladas por um período de 48 horas, com uma temperatura constante de 37 °C e 50% de umidade relativa, dentro de uma sala climatizada. Após este período de estabilização, pesou-se os filmes para registrar a massa inicial. Em seguida, transferiu-se as amostras para um forno aquecido a 100 °C, onde permaneceram até que uma massa constante fosse alcançada. Monitorou-se o processo de secagem com pesagens realizadas em intervalos específicos para garantir a precisão dos dados.

Repetiu-se as pesagens em intervalos de tempo definidos de 0, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos. Esta abordagem permitiu um acompanhamento detalhado da perda de umidade ao longo do tempo de secagem.

O teor de umidade das amostras foi calculado utilizando a fórmula:

$$\text{Teor de umidade} = [(W_0 - W_t) / W_0] * 100$$

Onde, W_0 é a massa inicial do corpo de prova e W_t é a massa após o tempo.

A temperatura, a umidade e a balança foram calibradas com precisão, garantindo condições ideais e medições exatas. Cada amostra foi tratada separadamente para

evitar qualquer tipo de contaminação ou alteração significativa de massa durante o processo de pesagem. O ambiente climatizado e a estufa de secagem foram frequentemente recalibrados para assegurar a consistência das condições experimentais. Esse rigoroso nível de controle evitou que flutuações ambientais afetassem os resultados, proporcionando uma estimativa confiável do teor de umidade dos filmes (AOAC, 1997; Gaisford *et al.*, 2009; Gorle; Gattini, 2010; Hoffmann; Breitenbach; Breitreutz, 2011; Liew; Tan; Peh, 2012; Mashru *et al.*, 2005; Scarpa *et al.*, 2107).

4.3. Propriedades mecânicas

Realizaram-se os ensaios mecânicos a uma temperatura de 25 °C e 50% de umidade relativa (UR), utilizando uma Máquina Universal de Ensaio Instron 5969 equipada com uma célula de carga de 5 kN. A taxa de deformação foi estabelecida em 100 mm/s. Dimensionou-se cada amostra testada a 10 x 60 mm e uma espessura aproximada de 0,1 mm. Para garantir a confiabilidade dos resultados, seis réplicas de cada amostra filme (FOC e FOM) foram submetidas aos ensaios. Preparou-se cada amostra posicionada na máquina de ensaios para garantir a precisão das medições. O módulo de Young, que indica a rigidez do material, foi determinado pela inclinação da curva tensão-deformação na região de baixa deformação, esse parâmetro é fundamental para entender o comportamento elástico inicial dos filmes. A resistência à tração, que representa a tensão máxima que o material pode suportar antes de romper, foi calculada utilizando o software Bluehill 3®. O alongamento na ruptura, que mede a capacidade do material de estender-se antes de romper, também foi determinado com o auxílio do mesmo software. Esses parâmetros são essenciais para avaliar a capacidade dos filmes de suportar forças e deformações, sendo indicadores importantes de sua performance mecânica (Arora; Chakraborty, 2017; Ali; Vijendar, 2016; Bauer; Westfall; Dias, 2012; Bhyan *et al.*, 2011; Concil Of Europe, 2012; Hoffmann; Breitenbach; Breitreutz, 2011; Jamróz *et al.*, 2017; Karki *et al.*, 2016; Khurama; Ahuja; Khar, 2000; Landová; Vetchy, 2014; Londhe Umalkar, 2012; Mukherjeeand; Bharath, 2013; Naik; Khsle; Kanekar, 2014; Orlu *et al.*, 2017; Patel; Prajapati; Patel, 2007; Pawar; Butle, 2018; Phasate *et al.*, 2015; Preis *et al.*, 2013;

Preis; Knop; Breitzkreutz, 2014; Scarpa *et al.*, 2017; United States Pharmacopeia, 2006; Wasilewska; Winnicka, 2019).

4.4. Microscopia óptica

Utilizou-se o método de microscopia óptica (Jacob *et al.*, 2023; Asatiani *et al.*, 2023; Gupta *et al.*, 2023), para avaliar amostras de FOC e FOM, com intuito de caracterizar a uniformidade do filme, a presença de defeitos, como bolhas ou rachaduras, a uniformidade da espessura do filme, a presença de camadas distintas, e a existência de partículas. Também foi investigada a possibilidade de o filme orodispersível conter componentes específicos, como polímeros ou ativos farmacêuticos que não foram inteiramente incorporados.

A uniformidade da espessura do filme foi medida em vários pontos ao longo de cada amostra. Essa medição é essencial para garantir que o filme tenha uma espessura consistente, o que influencia diretamente a dose do fármaco liberado e a sua eficácia terapêutica. Variações na espessura podem resultar em dosagens inconsistentes e reduzir a confiabilidade do produto. Além disso, investigou-se a presença de camadas distintas dentro do filme. A formação de camadas pode ocorrer devido a problemas na mistura dos componentes ou na fase de secagem. Identificar essas camadas é importante para assegurar que o filme tenha uma estrutura uniforme e que todos os componentes estejam bem incorporados.

4.5. Ensaio de absorção de água

Para determinar a absorção de água dos filmes (25 × 25 × 0,1 mm), foi utilizando um método de imersão em solução salina tamponada com fosfato (pH 7,0) a 37 °C (Boateng; Matthews; Auffret, 2009; Boateng; Auffret; Matthews, 2010; Ding; Nagarsenker, 2008; Garsuch; Breitzkreutz, 2010).

As amostras foram periodicamente removidas da solução e as superfícies úmidas foram secas antes de serem pesadas e reimersas na solução. Esse processo foi repetido nos tempos de 0, 2, 5, 10, 20, 30, 45 e 60 minutos.

$$\text{Absorção de água} = [(W_t - W_0) / W_0] * 100$$

Onde, W_0 é a massa inicial do material analisado e W_t é a massa após a imersão em cada tempo.

O ensaio de absorção de água permite avaliar a capacidade de absorção de água dos filmes durante o tempo do experimento, respondendo com dados importantes a respeito das condições que simulam o ambiente fisiológico. Cada amostra foi tratada com precisão das medições, assegurando que as superfícies fossem adequadamente enxugadas para remover o excesso de água sem causar danos ao filme.

A precisão do processo de pesagem foi garantida utilizando balança de precisão BEL Engineering® M214Ai®, que permitiram registrar pequenas variações de massa com exatidão. A temperatura da solução salina foi mantida constante a 37 °C no dispositivo Kasvi® (sem agitação), simulando a temperatura do corpo humano, e o pH 7,0 da solução tamponada foi escolhido para replicar as condições fisiológicas, assegurando que os dados obtidos fossem representativos do comportamento dos filmes em uso real

4.6. Ensaio de desintegração do filme orodispersível em saliva artificial

Os filmes (25 × 25 × 0,1 mm) foram imersos em 30 mL de saliva artificial composta de cloreto de potássio (0,12%), cloreto de sódio (0,010%), citrato de cálcio (0,015%), cloreto de magnésio (0,005%), sorbitol (3% corrigido), gel de natrosol (15%), nipagin (0,1%) e água destilada qsp com a incorporação de amilase (200 mg). A imersão foi realizada a 37 °C, e as amostras foram pesadas nos tempos de 0, 5, 15, 30, 60, 120 e 240 minutos, sem agitação, foi feita a secagem dos filmes após retirar de cada tempo da imersão (WASILEWSKA; WINNICKA, 2019).

As amostras foram avaliadas em intervalos específicos para observar a perda de massa ao longo do experimento. A pesagem foi realizada com balança analítica de alta precisão que garantiu a exatidão dos dados obtidos. A temperatura durante o teste foi mantida constante em 37°C no dispositivo Kasvi® (sem agitação), o que é semelhante à temperatura corporal. Esta temperatura foi utilizada para garantir que os resultados fossem representativos das condições reais de uso.

A decisão de não agitar durante o processo de imersão teve como objetivo replicar fielmente a natureza estática da cavidade oral. Isto facilita a representação dos dados do comportamento dos filmes em conjunto com a saliva, sem a presença de movimentos adicionais que levariam a uma desintegração mais rápida.

Os resultados desta experiência ajudam a esclarecer a capacidade dos filmes em termos de degradação e perda de massa que apresentam, ambos fatores importantes na avaliação de seu desempenho em aplicações farmacêuticas..

A desintegração dos filmes foi determinada pela perda de massa, conforme a seguinte equação

$$\text{Perda de massa} = (W_t * 100) / W_0$$

onde, W_t é a massa da amostra após o tempo de imersão t , e W_0 é a massa inicial.

4.7. Ensaio de liberação

Realizou-se o ensaio de liberação de melatonina com o objetivo de estudar o comportamento do filme orodispersível (FOM 25 x 25 x 0,1 mm). A amostra foi imersa em 30 mL de saliva artificial, mantida a 37 °C, dentro de um copo Becker fechado. Planejou-se esta configuração para simular as condições reais da mucosa oral e garantir que os resultados fossem representativos do ambiente fisiológico (Giri *et al.*, 2012; Manadas; Pina; Veiga, 2002; Naveed; Qamar, 2014; Trovatti *et al.* 2011; Sultana *et al.*, 2017).

A saliva artificial foi utilizada como linha de base para o experimento e calibragem do ensaio. Logo após a imersão da amostra, 2 mL da solução foram cuidadosamente removidos com uma micropipeta e transferidos para um tubo de ensaio, rotulado como tempo zero. Esta primeira coleta foi essencial para estabelecer a linha de base da liberação de melatonina. Outras alíquotas de 2 mL foram removidas nos tempos de 5, 15, 30, 60 e 120 minutos, permitindo a construção de um perfil de liberação detalhado ao longo do tempo.

Após cada amostragem, o volume removido foi imediatamente substituído por saliva artificial para manter o volume constante. A absorbância das amostras foi medida por espectroscopia ultravioleta-visível, utilizando um espectrofotômetro VIS V-M5 (Novatécnica-BelPhotonics). Este equipamento foi selecionado devido à sua alta especificidade e sensibilidade, necessárias para reconhecer pequenas alterações na concentração de melatonina nas amostras. As medições foram realizadas em um comprimento de onda de 250 nm, com uma cubeta retangular de quartzo com 10 mm de comprimento de caminho óptico.

A determinação do comprimento de onda foi baseada no espectro de absorção típico da melatonina, o que garantiu a especificidade da análise. Para calcular a

liberação de melatonina em cada local de amostragem, foi empregado um gráfico de calibração derivado dos dados medidos de soluções padrão de melatonina. Durante o ensaio, foram mantidas condições experimentais constantes e controladas. A temperatura da saliva artificial foi rigorosamente mantida em 37 °C para replicar a temperatura corporal, garantindo que os dados fossem representativos das condições fisiológicas reais (Manadas *et al.*, 2002; Trovatti *et al.*, 2011; Giri *et al.*, 2012).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Morfologia macrométrica

Como demonstrado na figura 2, tanto FOC como FOM (A) apresentaram elevada translucidez. Ao manipular-se ambas as amostras em diversos ângulos (FOC e FOM - B, C), observa-se que a resistência do material demonstra não ter aparente diferença no quesito maleabilidade, indicando a possibilidade de manuseá-las sem danificar a estrutura. As imagens FOC e FOM (D) demonstram a espessura do material.

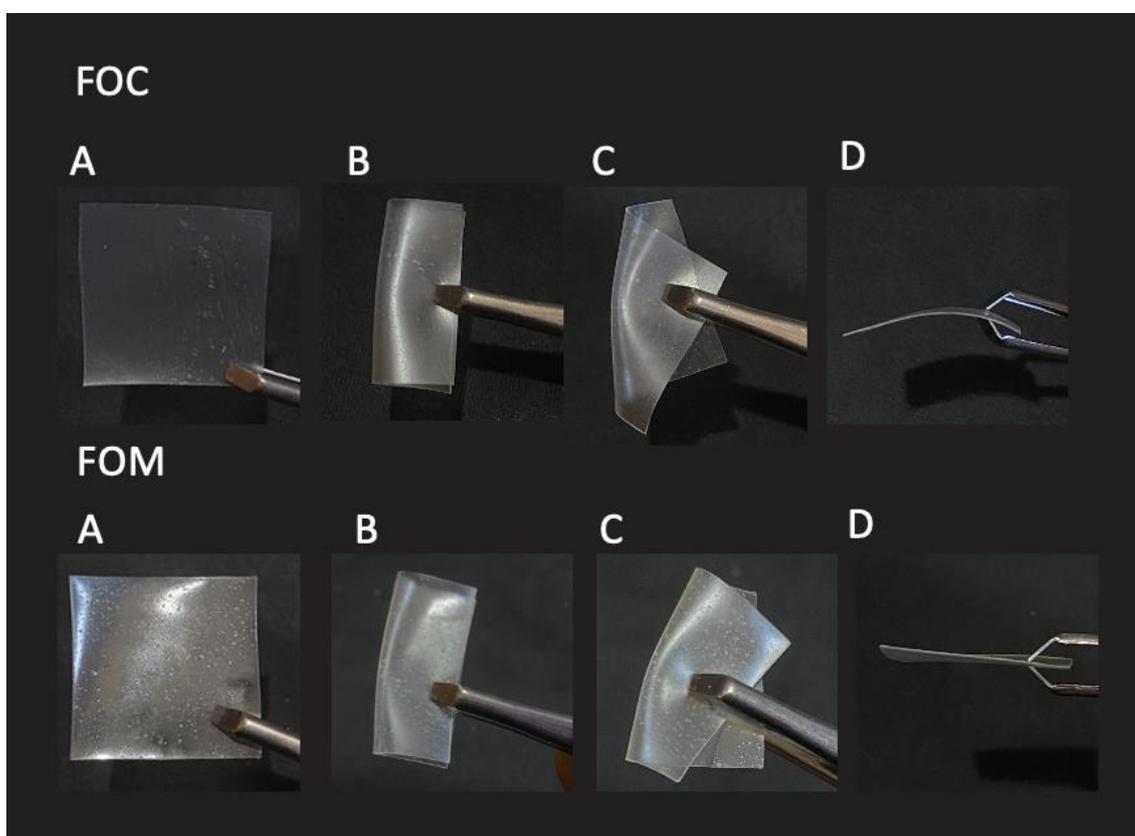


Figura 2 - Imagens macrométricas de FOC e FOM

O uso do micro-ondas a 700 W por 50 segundos foi uma etapa crítica para garantir a gelatinização completa do amido, um processo que transformou a estrutura granular do amido em uma matriz gelatinosa coesa para prosseguir para a etapa de secagem, dimensionamento, registro de imagens e testes.

As imagens FOC e FOM (Figura 2) demonstram a homogeneidade, evidenciando a maleabilidade e uma estrutura que pode ser manipulada sem rachaduras. A transparência e maleabilidade são características importantes, pois permitem que os

filmes orodispersíveis sejam utilizados de maneira eficiente e confortável, garantindo que o medicamento seja administrado corretamente.

O aspecto visual do FOM indica alto grau de homogeneidade, sugerindo que o fármaco está bem disperso na matriz polimérica. Esta uniformidade visual é crucial para assegurar que cada parte do filme contenha a quantidade correta de medicamento, garantindo uma liberação consistente. A ausência de partículas ou impurezas é um sinal de alta qualidade na fabricação, o que é essencial para a eficácia dos filmes orodispersíveis.

As observações visuais e os testes de manuseio confirmam que o FOC e o FOM possuem uma composição eficiente e uma excelente maleabilidade. A alta qualidade com que os filmes foram produzidos é evidenciada pela sua transparência, flexibilidade e homogeneidade. A transparência, flexibilidade e uniformidade dos filmes indicam que foram produzidos com elevados padrões de qualidade. Estas propriedades tornam o filme um sistema eficaz de administração de medicamentos na cavidade oral, garantindo uma forma farmacêutica adequada e confiável. Portanto, o resultado das observações visuais e dos testes de manuseio está em conformidade com a eficácia e a utilidade do FOC e do FOM.

A qualidade elevada com que os filmes foram produzidos é comprovada por sua transparência, flexibilidade e homogeneidade. Esses atributos garantem que os filmes atuem como uma forma farmacêutica confiável, eficaz para a administração de medicamentos através da cavidade oral.

5.2. Determinação de umidade

De acordo com a figura 3, pode ser observado o comportamento do FOC e FOM quando submetidos aos ensaios de conteúdo de umidade. No tempo de 30 minutos tanto FOC como FOM apresentaram perda de massa que pode ser explicada pela desidratação do material. Já nos tempos de 60 e 90 minutos, embora as amostras, continuavam a perder massa, percebe-se um desaceleramento no decréscimo da curva. Nos tempos de 120 a minutos, a amostra FOC demonstrou manutenção na perda com platô até o final do experimento. Já a amostra FOM demonstrou manutenção na perda aos 150 minutos com o platô até o final do experimento. A última coleta de informação aconteceu nos 180 minutos quando as 2 amostras, tanto FOC como FOM apresentaram completa estabilidade no processo de

perda de água. Observou-se perda no final do experimento de 11,96 % ($\pm 0,3121$) de massa no FOC e 16,21 % ($\pm 0,3180$) no FOM.

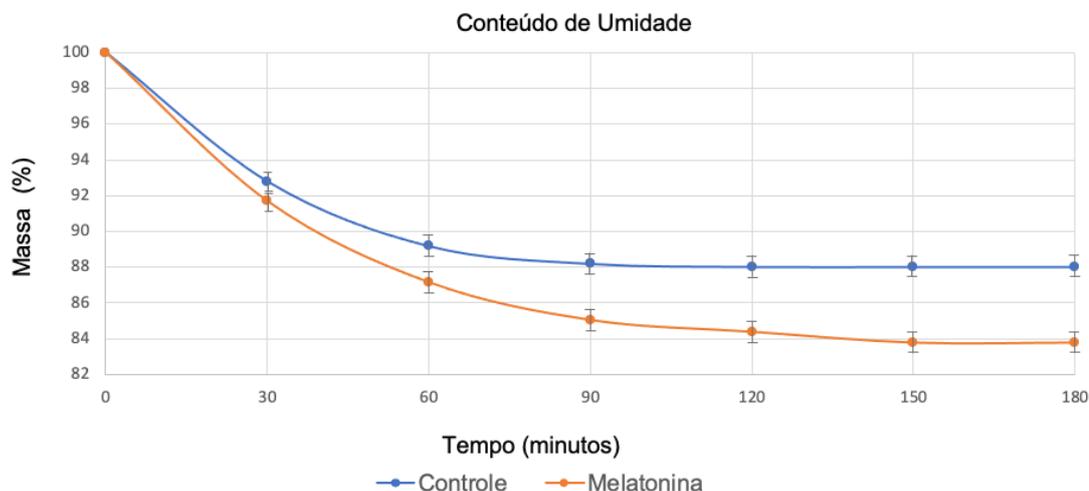


Figura 3 - Comportamento do FOC e FOM no ensaio de determinação de umidade.

O menor teor de água observado no FOM (Figura 3) ao término do experimento foi associado à natureza anfífila da melatonina. A presença de componentes hidrofóbicos na estrutura da melatonina reduz a capacidade da matriz do filme de reter água, embora os componentes hidrofílicos permitam alguma interação residual. Como resultado, a formulação apresenta um teor de água consideravelmente inferior em relação a outras, destacando o impacto da melatonina na retenção de umidade na matriz.

Um baixo teor de água é crucial para melhorar a preservação da amostra, pois a presença de água pode acelerar a degradação de componentes ativos e promover o crescimento microbiano. Portanto, a diminuição do teor de água no FOM é uma característica positiva, garantindo uma maior estabilidade e durabilidade do filme ao longo do tempo. Esses resultados foram semelhantes aos relatados para um filme de diclofenaco orodispersível preparado com hidroxipropilmetilcelulose (Khadra et al., 2019), que também apresentava um teor de água abaixo de 20%. A comparação com o estudo de Khadra et al. (2019) é relevante, pois ambos os estudos mostram que a redução do teor de água é uma estratégia eficaz para aumentar a estabilidade dos filmes orodispersíveis.

Um teor de água abaixo de 20% é um critério importante para minimizar a quantidade de água disponível, impedindo o suporte ao crescimento microbiano e preservando a integridade do fármaco.

A semelhança dos resultados indica que a adição de compostos hidrofóbicos, como a melatonina, pode ser uma estratégia eficaz para aumentar a estabilidade dos filmes. A avaliação do menor teor de água no FOM, no final do experimento enfatiza a importância da hidrofobicidade da melatonina na conservação da amostra. A diminuição do teor de água é vantajosa, pois não apenas aprimora a estabilidade do filme, mas também reduz o risco de crescimento microbiano. Além disso, a característica anfifílica da melatonina possibilita interações mais eficazes com a matriz do filme, contribuindo para essas propriedades desejáveis. Os achados são consistentes com pesquisas anteriores, como a de Khadra et al. (2019), que evidenciaram a eficácia da redução do teor de água na preservação da integridade dos filmes orodispersíveis.

A comparação com outros estudos reforça a validade dos achados e destaca a importância de controlar o teor de água na formulação de filmes orodispersíveis. Portanto, a hidrofobicidade da melatonina e a consequente redução do teor de água no FOM são características vantajosas que melhoram a preservação e a estabilidade do filme. Essas descobertas são consistentes com a literatura existente e ressaltam a importância de controlar o teor de água para garantir a eficácia e a durabilidade dos filmes orodispersíveis (Gaisford *et al.*, 2009; Gorle; Gattini, 2010; Hoffmann; Breitenbach; Breitreutz, 2011; Liew; Tan; Peh, 2012; Mashru *et al.*, 2005; Scarpa *et al.*, 2107).

5.3. Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes foram medidas por meio de ensaios de tração. As curvas tensão-deformação de tração são apresentadas na Figura 4. Os dados de módulo de Young, limite de resistência à tração e tensão-deformação são apresentados na Tabela 1. As curvas de tensão-deformação mostraram que ambos os filmes apresentaram comportamento típico de tensão-deformação de amido plastificado, apresentando baixa deformação (em torno de 1%). as curvas apresentaram comportamento elástico linear, sendo a região elástica seguida por uma mudança gradual para um perfil plástico, típico de materiais plastificados à base de amido (Arora; Chakraborty, 2017; Ali; Vijendar, 2016; Bauer; Westfall; Dias, 2012; Bhyan *et al.*, 2011; Concil Of Europe, 2012; Hoffmann; Breitenbach; Breitreutz, 2011; Jamróz *et al.*, 2017; Karki *et al.*, 2016; Khurama; Ahuja; Khar, 2000; Landová; Vetchy,

2014). O comportamento no módulo de Young foi mais resistente, embora o alongamento à ruptura tenha sido semelhante para ambos. A incorporação das partículas de melatonina na matriz de amido pode levar a uma rigidez maior no material, conseqüentemente fazendo com que FOC tivesse melhores em comparação a FOM nos resultados no módulo de Young. Isso é claramente mostrado pelos dados da Tabela 1, com módulo de Young apresentando resultados divergentes e tensão na ruptura (MPa) e no alongamento (%) semelhantes.

A figura 4 representa a deformação do FOC e FOM em resposta da tensão à qual os materiais foram submetidos.

O resultado do limite de resistência (tensão na ruptura), indica que o material torna-se viável, visto que os valores indicam uma capacidade de deformação sem que o material seja danificado (Arora; Chakraborty, 2017; Ali; Vijendar, 2016; Jamróz *et al.*, 2017; Karki *et al.*, 2016). A média das seis réplicas submetidas ao ensaio de módulo de Young de FOC foi de 33,97 MPa ($\pm 9,17$) enquanto FOM foi de 97,86 MPa ($\pm 16,27$). Já o ensaio de tração do FOC foi de 1,87 MPa ($\pm 0,53$), enquanto para o FOM foi de 1,81 Mpa ($\pm 0,58$).

Quando uma amostra é submetida a um ensaio de tração, ocorre deformação da amostra, resultando em seu alongamento. A medida do alongamento é realizada principalmente para estimar a plasticidade do polímero sem que ele se danifique. A média de deformação das seis réplicas do FOC foi de 17,54 % ($\pm 6,04$), enquanto do FOM foi de 6,38 % ($\pm 4,47$).

Amostra	Módulo de Young (MPa)	Tensão na ruptura (MPa)	Tensão no alongamento (%)
FOC	33,97 ($\pm 9,17$)	1,873 ($\pm 0,53$)	17,54 ($\pm 6,04$)
FOM	97,86 ($\pm 16,27$)	1,81 ($\pm 0,58$)	6,38 ($\pm 4,47$)

Tabela 1 - Propriedades mecânicas de FOC e FOM

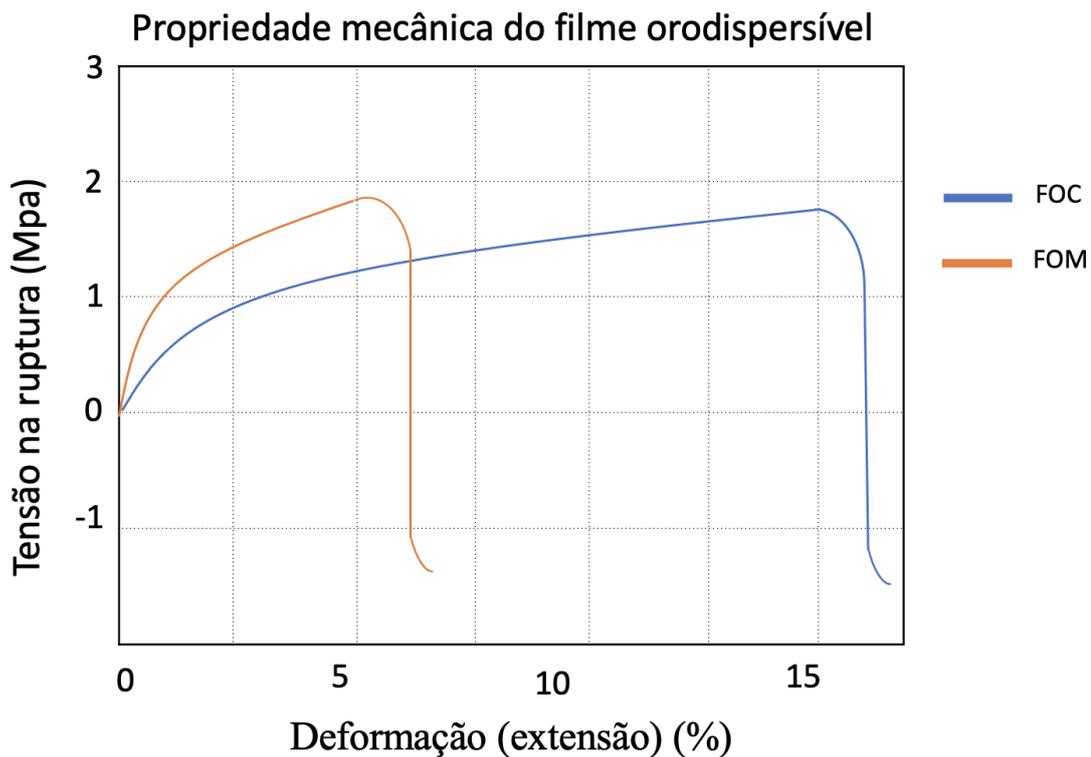


Figura 4 - Curva de tensão e deformação

As propriedades mecânicas dos filmes foram determinadas por meio de ensaios de tração. Os gráficos de tensão de tração estão representados na figura 4. Observou-se que ambos os filmes apresentaram comportamento típico do amido plastificado por glicerol. Em deformações baixas, em torno de 1%, o gráfico apresentou comportamento elástico linear. Após a fase inicial ocorreu uma transição plastificante, esta associada aos materiais plastificados à base de amido.

Tanto o módulo de Young quanto a resistência à tração foram consistentes para os filmes FOC e FOM. No entanto, o aumento do alongamento na ruptura foi maior para o FOC. A presença de partículas de melatonina na matriz FOM pode ter levado a uma diminuição na resistência da própria matriz FOM, o que por sua vez diminuiu o alongamento de ruptura destas amostras. Os filmes devem ser inseridos a boca e posicionados abaixo da língua ou no palato sem causar dor ou desconforto. Além disso, é fundamental que os filmes mantenham a originalidade durante o transporte, evitando que se degradem antes da utilização. Os Testes de tração mostraram que os filmes possuem a elasticidade necessária para serem eficazes nas cavidades orais. A capacidade de manter um primeiro comportamento extensível seguido de uma transição plástica que é crucial para garantir que os filmes possam ser manuseados e

aplicados sem risco de falha. Isso garante que os pacientes poderão utilizar os filmes com confiança, aproveitando a dosagem precisa dos medicamentos.

Além disso, a resistência mecânica dos filmes é suficiente para garantir que eles possam ser manuseados e armazenados sem serem afetados negativamente. A estabilidade dos filmes durante o transporte é crucial para o sucesso da sua comercialização e recepção pelo público. A estabilidade mecânica dos filmes é uma medida da sua qualidade e segurança, garantindo que o medicamento seja administrado de forma eficaz e pretendida.

Porém, observa-se o maior alongamento na ruptura no FOC, o que sugere que o tipo de filme pode ter maior capacidade de suportar elasticidade extrema, enquanto o FOM, que contém melatonina, apresenta uma ligeira diminuição nesta propriedade. Em última análise, os resultados dos testes de tração oferecem uma avaliação abrangente das capacidades dos filmes FOC e FOM. A combinação de elasticidade e plasticidade, juntamente com resistência e flexibilidade suficientes, tornam esses filmes candidatos ideais para aplicações farmacêuticas orodispersíveis. Microscopia óptica

A imagem de microscopia (figura 5, 6, 7 e 8) revelou que a estrutura e textura FOC controle são semelhantes às do FOM. Ambos apresentavam um aspecto uniforme, sem partículas e trincas. Esses resultados são extremamente relevantes para o desenvolvimento do método proposto, pois demonstram que é possível utilizar o filme orodispersível como forma farmacêutica fisicamente estável e comercialmente viável. Destaca-se que ao descobrir que a imagem de microscopia do FOC apresentou as mesmas características do FOM, sendo uma contribuição significativa para a indústria farmacêutica. Esse resultado pode ajudar a otimizar o processo de desenvolvimento de medicamentos e melhorar a qualidade dos produtos farmacêuticos, beneficiando os indivíduos que não conseguiam gerenciar o uso de formas farmacêuticas tradicionais.

A análise da existência de partículas ou grânulos dentro do filme foi realizada para identificar possíveis contaminações ou falhas no processo de mistura. Partículas não desejadas podem afetar a qualidade do filme e comprometer sua eficácia. Detectar essas partículas permite ações corretivas para melhorar o processo de produção. Também foi investigada a possibilidade de o filme orodispersível conter componentes específicos, como polímeros ou ativos farmacêuticos, para assegurar

que todos os ingredientes estivessem corretamente incorporados e distribuídos no filme.

A presença uniforme desses componentes é fundamental para garantir a eficácia do filme como sistema de liberação de fármacos. A microscopia óptica foi escolhida como a técnica principal de análise devido à sua capacidade de fornecer imagens detalhadas e de alta resolução das amostras. Essa técnica permitiu a observação direta de características superficiais e estruturais dos filmes, fornecendo informações valiosas para a caracterização e melhoria do processo de produção.

5.4. Microscopia óptica

Como pode ser observado nas figuras 5, 6, 7 e 8, FOC e FOM apresentaram uniformidade na aparência geral. Nas figuras 5 e 7, observa-se FOC com superfície mais lisa em comparação com 6 e 8 (FOM), no entanto todas as amostras se apresentam sem rachaduras ou fissuras. As imagens não demonstram transparência em FOC e FOM, com isso é possível afirmar a ausência de partículas estranhas ou grânulos visíveis. Tanto FOC como FOM apresentaram estruturas homogêneas, sem camadas distintas ou áreas de densidade diferente.

A uniformidade do filme foi um dos principais aspectos avaliados durante os ensaios. Verificou-se que o filme apresentava uma distribuição homogênea de material ao longo de toda a sua superfície. Essa característica é crucial para garantir a consistência do desempenho do filme, especialmente em aplicações farmacêuticas. Investigou-se a presença de defeitos, como bolhas e rachaduras. Já que as bolhas podem indicar problemas no processo de fabricação ou na secagem do filme, enquanto rachaduras podem comprometer a integridade mecânica do filme. Detectar esses defeitos precocemente permite ajustar o processo de produção para melhorar a qualidade final do produto.

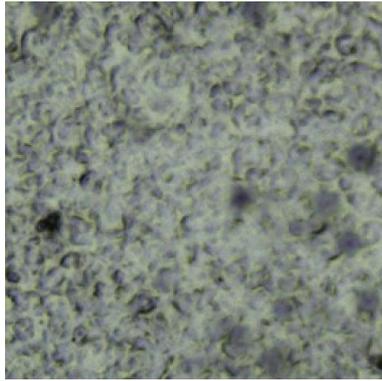


Figura 5 - FOC 5 x

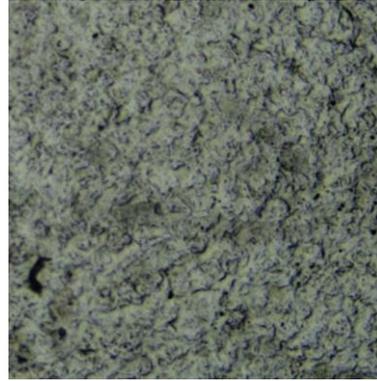


Figura 6 - FOM 5 x

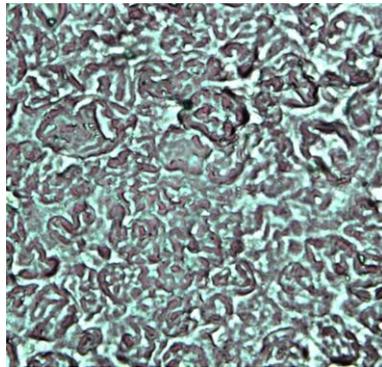


Figura 7 - FOC 20 x

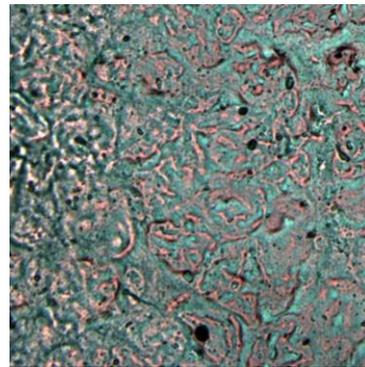


Figura 8 - FOM 20 x

A imagem de microscopia (figura 5, 6, 7 e 8) revelou que a estrutura e textura FOC controle são semelhantes às do FOM. Ambos apresentavam um aspecto uniforme. Esses resultados são extremamente relevantes para o desenvolvimento do método proposto, pois demonstram que é possível utilizar o filme orodispersível como forma farmacêutica fisicamente estável e comercialmente viável. Destaca-se que ao descobrir que a imagem de microscopia do FOC apresentou as mesmas características do FOM, sendo uma contribuição significativa para a indústria farmacêutica. Esse resultado pode ajudar a otimizar o processo de desenvolvimento de medicamentos e melhorar a qualidade dos produtos farmacêuticos, beneficiando os indivíduos que não conseguiam gerenciar o uso de formas farmacêuticas tradicionais.

5.5. Ensaio de absorção de água

De acordo com a figura 9, pode ser observado o comportamento do FOC e FOM quando submetidos aos ensaios de absorção de água. No tempo de 2 minutos, tanto FOC como FOM apresentaram um súbito aumento de massa que pode ser explicado pela hidrofiliicidade do amido. Já nos tempos de 5 e 10 minutos, embora as amostras continuaram a ganhar massa, percebe-se um desaceleramento no crescimento da curva. Nos tempos de 20 a 30 minutos, as amostras, FOC e FOM, demonstravam manutenção no intumescimento com o platô alcançado nos 45 minutos de experimento. A última coleta de informação aconteceu nos 60 minutos quando as 2 amostras, tanto controle como melatonina, apresentaram completa estabilidade no processo de intumescimento. Observou-se no final do experimento ganho de 60,41 % ($\pm 0,5064$) de massa no FOC e 64,5 % ($\pm 0,7029$) no FOM.

O intumescimento do amido ocorre quando os grânulos de amido absorvem água e, com o aumento da temperatura a água penetra nas áreas cristalinas dos grânulos, quebrando as ligações de hidrogênio, permitindo a entrada de mais moléculas de água. Isso causa o aumento de volume dos grânulos e a perda da sua estrutura cristalina, um processo conhecido como gelatinização, conseqüentemente, aumentam a solubilidade dos grânulos e a desintegração, fase esperada como resultante do sistema de liberação do filme orodispersível.

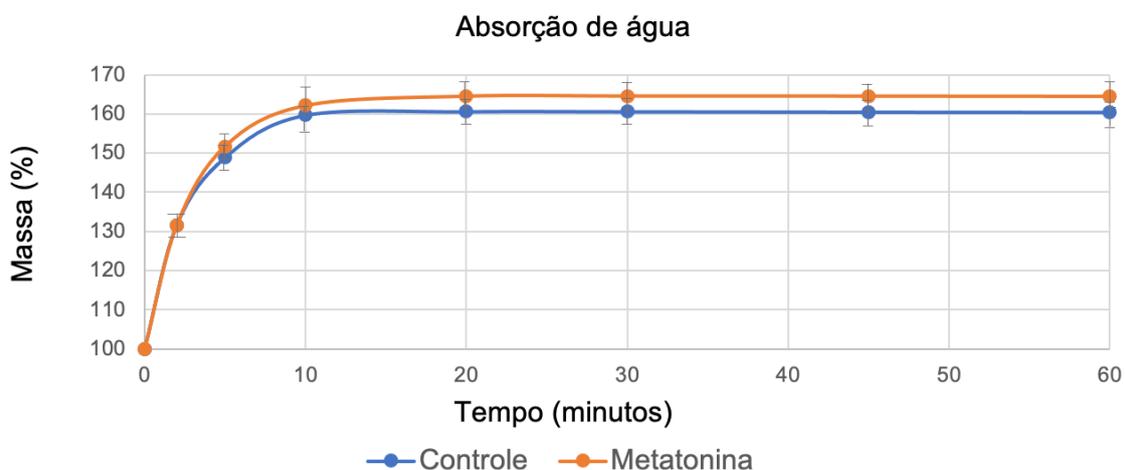


Figura 9 - Comportamento do FOC e FOM no ensaio de absorção

5.6. Ensaio de desintegração do filme orodispersível em saliva artificial

A figura 10 apresenta a FOC e FOM (A) que foram submetidas ao ensaio de desintegração em saliva artificial, já na FOC e FOM (B), observa-se a representação da forma física da amostra após os 24 h do ensaio com perda de volume e maleabilidade. As massas foram pesadas antes do experimento e após secagem completa, observou-se perda de 92,8 % (massa inicial= 0,3001 g e final= 0,0216 g) (\pm 0,0419) de massa no FOC e 82,3 % (massa inicial= 0,4207 g e final= 0,0756 g) (\pm 0,0623) no FOM.

Ambas as amostras, ao entrar em contato com a saliva artificial iniciou o processo de intumescimento e expansão, tornando-os mais flexíveis e frágeis. Como continuidade do processo, a saliva dissolve os polímeros presentes na matriz do filme, e isso promove a desintegração do filme em pequenos pedaços. Conforme o processo de dissolução e desintegração progride, o fármaco incorporado no filme é liberado e se mistura com a saliva, facilitando a absorção e ação do medicamento pelo organismo. A velocidade de dissolução do filme é determinada pela natureza dos polímeros presentes na matriz, sua concentração e propriedades físicas. É importante ressaltar que o uso de saliva artificial em testes de desintegração de filmes orodispersíveis é comum em laboratórios de controle de qualidade, pois ela é composta por uma solução que imita as características físicas e químicas da saliva humana. Dessa forma, os resultados obtidos nesses testes são considerados uma boa aproximação do que ocorre na boca do paciente durante a administração do medicamento. Pode ser observado que os resíduos do experimento foram colocados em processo de secagem em temperatura ambiente por 24 horas, e FOC apresentou partículas menores enquanto FOM apresentou partículas maiores, demonstrando que a melatonina tornou o material mais resistente a ensaio de desintegração.

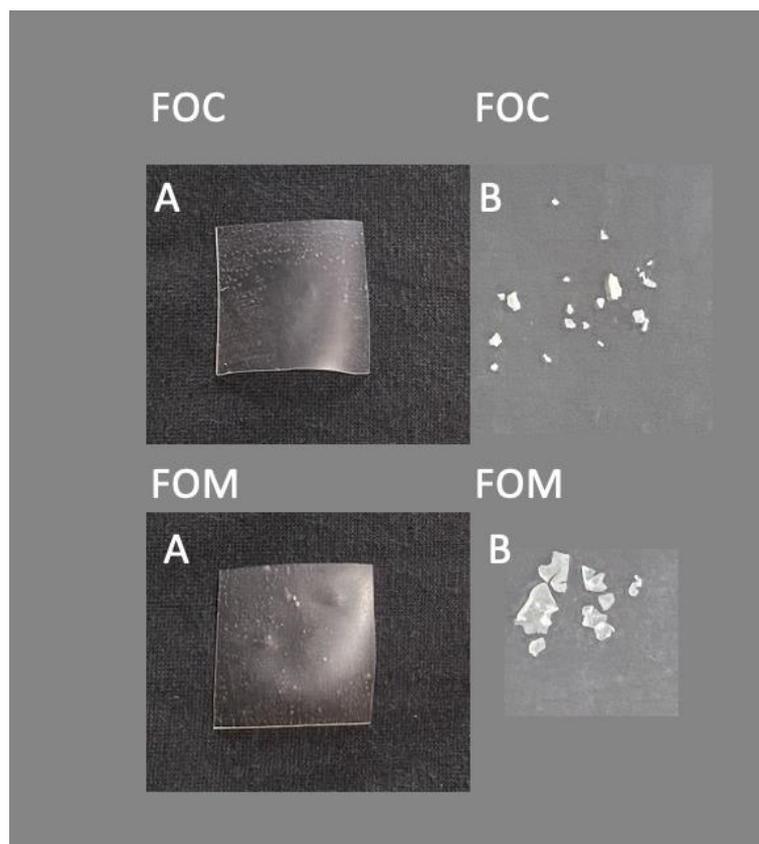


Figura 10 - FOC e FOM desintegrados por saliva artificial

5.7. Ensaio de liberação

A Fig. 11 demonstra as concentrações de melatonina medidas em 0, 5, 15, 30, 60 e 120 no teste de liberação. A liberação do fármaco iniciou-se logo no primeiro contato com a solução, atingindo cerca de 59% do fármaco no tempo de 5 min. A liberação máxima foi de cerca de 95% do fármaco, atingida no tempo de 60 min. Após 120 min, o filme começou a desintegrar-se e a liberar partículas no meio, o que aumentou abruptamente os valores de absorvância e não permitiu as medições após esse tempo devido à alta absorvância do sistema resultante das partículas em suspensão.

A análise dos resultados do teste de liberação de melatonina do filme orodispersível forneceu evidências importantes sobre como a melatonina é liberada do filme orodispersível. Verificou-se que a liberação total de melatonina está relacionada com a degradação da matriz do filme, o que por sua vez é muito importante para garantir a eficácia terapêutica na suplementação. Os resultados obtidos foram satisfatórios e indicam que a matriz do filme orodispersível é capaz de se degradar de forma controlada, garantindo assim liberação constante de melatonina.

Deve-se ter em mente também que o teste foi realizado em condições *in vitro* com enzimas encontradas na saliva. Se tivesse sido um teste *in vivo*, ou seja, em humanos, a mecânica da estrutura oral teria desintegrado o material ainda mais rapidamente. A mastigação juntamente com o movimento da língua e os elevados níveis de salivação na cavidade oral humana provocariam uma desintegração mais rápida e eficiente da película orodispersível para uma libertação imediata de melatonina. Esses fatores confirmam a eficácia do filme orodispersível desenvolvido, mostrando que mesmo sob condições controladas de laboratório, o produto apresentou desempenho satisfatório. Na verdade, fora de uma configuração de laboratório, o filme orodispersível teria um desempenho ainda mais eficaz, oferecendo aos usuários uma suplementação de melatonina rápida e eficiente.

A capacidade do filme orodispersível de liberar melatonina de maneira assintótica ao longo de sua desintegração na matriz destaca a adequação deste método de distribuição. Não só garante um fornecimento suficiente do medicamento, mas também ajuda a melhorar a adesão ao tratamento entre os pacientes, nomeadamente aqueles que são desafiados com as formas tradicionais de produtos farmacêuticos. Os resultados dos testes de libertação obtidos confirmam que o filme orodispersível desenvolvido é uma forma farmacêutica promissora para administração de melatonina. A degradação sincronizada da matriz do filme com a libertação do ingrediente ativo garante que o usuário administrado receberá a dose necessária de forma eficaz e rápida, maximizando assim os benefícios terapêuticos da melatonina.

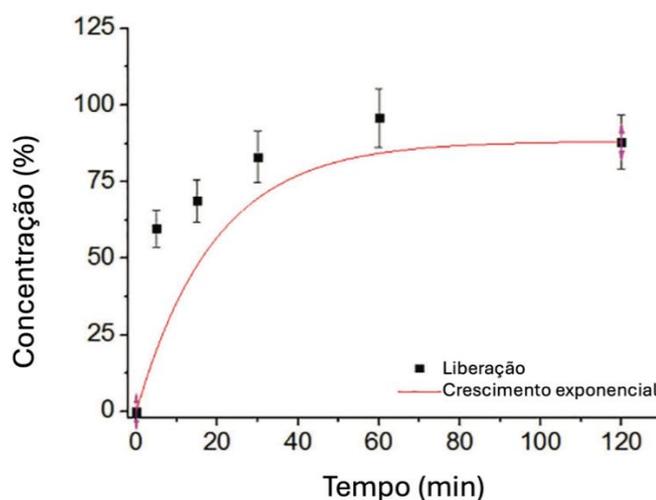


Figura 11 - Concentração de melatonina (%) liberada durante o experimento

6. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi desenvolvido com sucesso um filme orodispersível contendo melatonina para suplementação humana. A formulação do produto foi planejada e executada com a devida rigor, obedecendo criteriosamente todos os padrões de qualidade obrigatórios para que o suplemento atue de forma eficaz e segura. Os filmes orodispersíveis produzidos apresentaram muito boa uniformidade estrutural, sem partículas ou trincas evidenciadas pelas análises microscópicas.

A incorporação da melatonina no filme foi feita de forma eficaz proporcionando uma dosagem uniforme e precisa em cada unidade, o que é muito importante para proporcionar um efeito terapêutico consistente. O filme orodispersível mostrou-se de estabilidade física e forma farmacêutica comercialmente viável no que diz respeito a aspectos de qualidade e funcionalização. O uso do filme orodispersível, oferece uma excelente opção para suplementação de melatonina. Esta inovação pode tornar a adesão ao tratamento muito melhor, simplificando a administração e melhorando a conveniência do utilizador. A formulação deste filme de melatonina orodispersível pode ser um grande avanço na área de suplementação nutricional e farmacêutica. O sucesso deste trabalho resulta na facilidade com que outros suplementos e medicamentos poderão ser pesquisados e desenvolvidos utilizando a mesma tecnologia, aumentando assim o nível geral dos serviços de saúde e a qualidade de vida dos pacientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, S. B. et al. Melatonin and health: insights of melatonin action, biological functions, and associated disorders. **Cellular and Molecular Neurobiology**, p. 1-22, 2023.
- ALI, M. S.; VIJENDAR, C. D. Formulation and evaluation of fast dissolving oral films of diazepam. **Journal of Pharmacovigilance**, v. 4, n. 3, 2016.
- ALVES, A. C. L.; GRANDE, R.; CARVALHO, A. J. F. Thermal and mechanical properties of thermoplastic starch and poly (vinyl alcohol-co-ethylene) blends. **Journal of Renewable Materials**, v. 7, n. 3, p. 245-252, 2019.
- ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Análise de informações sobre segurança e eficácia da melatonina**. Brasília, junho de 2020.
- AOAC. **Official methods of analysis**. 16. ed. Arlington, 1997.
- ARORA, L.; CHAKRABORTY, T. A review on new generation orodispersible films and its novel approaches. **IAJPA**, v. 7, n. 1, p. 7451-70, 2017.
- ASATIANI, N.; FILIPOVÁ, B.; PECHOČIAKOVÁ, M. et al. Electrospun HPMC/PEO-blend orodispersible films: how slight batch differences affect the crucial mechanical properties. **Cellulose**, v. 30, p. 4527-4541, 2023.
- BAUER, W.; WESTFALL, G. D.; DIAS, H. **Física para universitários: mecânica**. AMGH Editora, 2012.
- BHYAN, B. et al. Orally fast dissolving films: innovations in formulation and technology. **Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.**, v. 9, n. 2, p. 9-15, 2011.
- BILBAO-SANS, C. et al. Wheat starch gelatinization under microwave irradiation and conduction heating. **Carbohydrate Polymers**, v. 69, n. 2, p. 224-232, 2007.
- BOATENG, J. S. et al. In vitro drug release studies of polymeric freeze-dried wafers and solvent-cast films using paracetamol as a model soluble drug. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 378, n. 1-2, p. 66-72, 2009.
- BOATENG, J. S. et al. Characterisation of freeze-dried wafers and solvent evaporated films as potential drug delivery systems to mucosal surfaces. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 389, n. 1-2, p. 24-31, 2010.
- CALLAM, C. S. et al. Computational analysis of the potential energy surfaces of glycerol in the gas and aqueous phases: effects of level of theory, basis set, and solvation on strongly intramolecularly hydrogen-bonded systems. **Journal of the American Chemical Society**, v. 123, n. 47, p. 11743-11754, 2001.

CARVALHO, A. J. F. et al. Thermoplastic starch/natural rubber blends. **Carbohydrate Polymers**, v. 53, n. 1, p. 95-99, 2003.

CARVALHO, A. J. F. Starch: major sources, properties and applications as thermoplastic materials. In: **Monomers, polymers and composites from renewable resources**. Elsevier, chapter 15, p. 321-342, 2008.

CARVALHO, A. J. F.; TROVATTI, E. Biomedical applications for thermoplastic starch. **Biodegradable and Biobased Polymers for Environmental and Biomedical Applications**, p. 1-24, 2016.

CHIVCHIBASHI-PAVLOVA, D. et al. Effects of melatonin supplementation on the aortic wall in a diet-induced obesity rat model. **Cureus**, v. 15, n. 1, 2023.

CORRADINI, E. et al. Preparation and characterization of thermoplastic starch/zein blends. **Materials Research**, v. 10, n. 3, p. 227-231, 2007.

COUNCIL OF EUROPE. **European pharmacopoeia 7.4**. Strasbourg, 2012.

DA ROZ, A. L. et al. The effect of plasticizers on thermoplastic starch compositions obtained by melt processing. **Carbohydrate Polymers**, v. 63, n. 3, p. 417-424, 2006.

DE PAULA SANTOS, I. M. et al. Insônia: uso da melatonina exógena e suas implicações. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 3, 2023.

DINGE, A.; NAGARSENKER, M. Formulation and evaluation of fast dissolving films for delivery of triclosan to the oral cavity. **Aaps Pharmscitech**, v. 9, n. 2, p. 349-356, 2008.

DYREK, K. et al. EPR study of radicals generated in starch by microwaves or by conventional heating. **Starch-Stärke**, v. 59, n. 7, p. 318-325, 2007.

FAN, D. et al. Determination of structural changes in microwaved rice starch using Fourier transform infrared and Raman spectroscopy. **Starch-Stärke**, v. 64, n. 8, p. 598-606, 2012.

FAN, D. et al. ¹H NMR studies of starch–water interactions during microwave heating. **Carbohydrate Polymers**, v. 97, n. 2, p. 406-412, 2013.

FAN, D. et al. Influence of microwave parameters and water activity on radical generation in rice starch. **Food Chemistry**, v. 196, p. 34-41, 2016.

FASIS, B. D. et al. **Polymer compositions containing thermoplastic starch**. Depositante: Polyvalor Société en Commandite. US 6,605,657B1. Depósito da patente: 27 dez. 1999. Concessão: 12 ago. 2003.

FENG, L. et al. Characterization of bioactive films loaded with melatonin and regulation of postharvest ROS scavenging and ascorbate-glutathione cycle in *Agaricus bisporus*. **Postharvest Biology and Technology**, v. 194, p. 112107, 2022.

FERLAK, J. et al. Orodispersible films—current state of the art, limitations, advances and future perspectives. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 2, p. 361, 2023.

GAISFORD, S. et al. Monitoring crystallisation of drugs from fast-dissolving oral films with isothermal calorimetry. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 380, n. 1-2, p. 105-111, 2009.

GARSUCH, V. et al. Comparative investigations on different polymers for the preparation of fast-dissolving oral films. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 62, n. 4, p. 539-545, 2010.

GIRI, T. K. et al. In vitro evaluation of commercially available enteric coated tablet containing diclofenac sodium. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v. 3, n. 2, p. 875-881, 2012.

GORLE, A. P.; GATTANI, S. G. Development and evaluation of ocular drug delivery system. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 15, n. 1, p. 46-52, 2010.

GUPTA, M. S. et al. Development and characterization of pullulan-based orodispersible films of iron. **Pharmaceutics**, v. 15, p. 1027, 2023.

HOFFMANN, E. M. et al. Advances in orodispersible films for drug delivery. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 8, n. 3, p. 299-316, 2011.

HOFFMANN, E. M. et al. Advances in orodispersible films for drug delivery. **Expert Opin Drug Deliv.**, v. 18, n. 9, p. 937-954, 2021.

IWAMOTO, B. K. et al. Impact of exogenous melatonin on sleep and daytime functioning in healthy, typically developing adolescents. **Current Sleep Medicine Reports**, p. 1-12, 2022.

JACOB, S. et al. Orodispersible films: current innovations and emerging trends. **Pharmaceutics**, v. 15, p. 2753, 2023.

JAMRÓZ, W. et al. 3D printed orodispersible films with aripiprazole. **International Journal of Pharmaceutics***, v. 533, n. 2, p. 413-420, 2017.

KARKI, S. et al. Thin films as an emerging platform for drug delivery. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 11, n. 5, p. 559-574, 2016.

KHADRA, I. et al. Characterisation and optimisation of diclofenac sodium orodispersible thin film formulation. **Int. J. Pharm.**, v. 561, p. 43-46, 2019.

KHURANA, R. et al. Development and evaluation of mucoadhesive films of miconazole nitrate. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 60, n. 6, p. 449-453, 2000.

LAMOLHA, M. A. et al. Desenvolvimento e avaliação de filmes orodispersíveis de melatonina obtidos através da prática magistral. **Brazilian Journal of Development**, v. 9, n. 2, p. 8696-8711, 2023.

LANDOVÁ, H.; VETCHÝ, D. Evaluation of the influence of formulation and process variables on mechanical properties of oral mucoadhesive films using multivariate data analysis. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

LI, J. et al. Trends in use of melatonin supplements among US adults, 1999-2018. **JAMA**, v. 327, n. 5, p. 483-485, 2022.

LIU, Y. et al. Melatonin: A potential adjuvant therapy for septic myopathy. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 158, p. 114209, 2023.

LIEW, K. B. et al. Characterization of oral disintegrating film containing donepezil for Alzheimer disease. **Aaps Pharmscitech**, v. 13, n. 1, p. 134-142, 2012.

LONDHE, V. Y. et al. Formulation development and evaluation of fast dissolving film of telmisartan. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 74, n. 2, p. 122-126, 2012.

MALIK, M. K. et al. Significance of chemically derivatized starch as drug carrier in developing novel drug delivery devices. **The Natural Products Journal**, v. 13, n. 6, p. 40-53, 2023.

MANADAS, R. et al. A dissolução in vitro na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 4, p. 375-399, 2002.

MASHRU, R. C. et al. Development and evaluation of fast-dissolving film of salbutamol sulphate. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 31, n. 1, p. 25-34, 2005.

MATHEUS, J. R. V. et al. Biopolymers as green-based food packaging materials: a focus on modified and unmodified starch-based films. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 2023.

MOHAMMED, S. H.; KARATEPE, M. The new melatonin derivative: synthesis, characterization, biological properties, and serum determination by HPLC–UV. **Applied Nanoscience**, p. 1-13, 2022.

MORATH, B. et al. Orodispersible films—recent developments and new applications in drug delivery and therapy. **Biochemical Pharmacology** p. 115036, 2022.

MUKHERJEEAND, D.; BHARATH, S. Design and characterization of double layered mucoadhesive system containing bisphosphonate derivative. **International Scholarly Research Notices**, v. 19, p. 604-690, 2013.

NAIK, T. S. et al. Evaluation of mouth dissolving films: physical and chemical method. **Int. J. Pharm. Phytopharmacol. Res.**, v. 4, p. 62-65, 2014.

NAVEED, S. et al. UV spectrophotometric assay of diclofenac sodium available brands. **Journal of Innovation in Pharmaceuticals and Biological Science**, v. 1, n. 3, p. 92-96, 2014.

ORLU, M. et al. Acceptability of orodispersible films for delivery of medicines to infants and preschool children. **Drug Delivery**, v. 24, n. 1, p. 1243-1248, 2017.

PARK, C. et al. Property comparison of thermoplastic starch reinforced by cellulose nanofibrils with different chemical compositions. **BioResources**, v. 14, n. 1, p. 1564-1578, 2019.

PATEL, V. M. et al. Design and characterization of chitosan-containing mucoadhesive buccal patches of propranolol hydrochloride. **Acta Pharmaceutica**, v. 57, n. 1, p. 61-72, 2007.

PAWAR, D.; BUTLE, S. Development of formulation and evaluation of garlic orodispersible films. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 9, n. 11, p. 145-155, 2018.

PHASATE, P. et al. Mouth dissolving film: a novel approach to delivery of lisinopril. **International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR)**, v. 6, n. 2, p. 398-405, 2015.

PREIS, M. et al. Oromucosal film preparations: classification and characterization methods. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 10, n. 9, p. 1303-1317, 2013.

REES, J. L. et al. **Compositions and methods for manufacturing thermoplastic starch blends**. Depositante: Biotec Biologische & Naturverpackungen GmbH. US 6,235,816B1. Depósito da patente: 27 out. 1999. Concessão: 22 maio 2001.

REITER, R. J. et al. Melatonin: a mitochondrial resident with a diverse skill set. **Life Sciences**, p. 120612, 2022.

SACK, R. L. The pathophysiology of jet lag. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 7, n. 2, p. 102-110, 2009.

REITER, R. J. et al. Brain washing and neural health: role of age, sleep, and the cerebrospinal fluid melatonin rhythm. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 80, n. 4, p. 88, 2023.

SILVA, M. J. B. et al. Amido—uma revisão sobre os produtos biopoliméricos e suas derivações. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 12, 2022.

SCARPA, M. et al. Orodispersible films: towards drug delivery in special populations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 523, n. 1, p. 327-335, 2017.

SULTANA, T. et al. In vitro dissolution study and assay of diclofenac sodium from marketed solid dosage form in Bangladesh. **J Bioanal Biomed**, v. 9, p. 118-122, 2017.

TEIXEIRA, E. M. et al. The effect of glycerol/sugar/water and sugar/water mixtures on the plasticization of thermoplastic cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 69, n. 4, p. 619-624, 2007.

THOMAS, M. et al. Efficacy of melatonin supplementation as an adjunct to periodontal therapy. **International Journal of Drug Research and Dental Science**, v. 5, n. 1, p. 1-7, 2023.

THONGWONG, P. et al. The potential role of the novel orodispersible film from rice polymer loaded with silkworm pupae hydrolysate and the combined extract of holy basil and ginger for the management of stroke with stress. **Biomaterials**, p. 122175, 2023.

TROVATTI, E. et al. Biocellulose membranes as supports for dermal release of lidocaine. **Biomacromolecules**, v. 12, n. 11, p. 4162-4168, 2011.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. **29, National Formulary 24**. US Pharmacopeial Convention, Rockville, 2006.

VAN NGUYEN, K. et al. Orodispersible film incorporating nanoparticulate loratadine for an enhanced oral bioavailability. **Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 53, n. 3, p. 417-426, 2023.

WALDHAUSER, et al. Sleep laboratory investigations on hypnotic properties of melatonin. **Psychopharmacology**, v. 100, n. 2, p. 222-226, 1990.

WASILEWSKA, K.; WINNICKA, K. How to assess orodispersible film quality? A review of applied methods and their modifications. **Acta Pharmaceutica**, v. 69, n. 2, p. 155-176, 2019.

YOO, Y.; JOO, S. S. Melatonin can modulate neurodegenerative diseases by regulating endoplasmic reticulum stress. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 3, p. 2381, 2023.

ZAKI, R. M. et al. Fabrication and characterization of orodispersible films loaded with solid dispersion to enhance rosuvastatin calcium bioavailability. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 31, n. 1, p. 135-146, 2023.

ZHAO, Zong-Liang et al. Formulation and characterization of tadalafil-loaded orodispersible films with enhanced dissolution rate and membrane permeability. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, p. 104535, 2023.