

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Desenvolvimento de sistemas precursores de fase cristalina para
administração intrabolsa periodontal**

Kariane Mendes Nunes

Ribeirão Preto

2012

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Desenvolvimento de sistemas precursores de fase cristalina para
administração intrabolsa periodontal**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Medicamentos e Cosméticos

Orientado(a): Kariane Mendes Nunes.

Orientador(a): Prof. Dr. Osvaldo de Freitas.

***Versão corrigida da Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas no dia 21/12/2012. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP*.**

Ribeirão Preto

2012

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Nunes, Kariane Mendes.

Desenvolvimento de sistemas precursores de fase cristalina para administração intrabolsa periodontal. Ribeirão Preto, 2012.

128 p. : il. ; 30 cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Orientador: Freitas, Osvaldo de.

1. Sistema de liberação intrabolsa periodontal
2. Cristais líquidos.
3. Pseudoplasticidade
4. Viscoelasticidade.
5. Mucoadesão
6. Seringabilidade.

Foto da capa: autoria de Vanessa Brito.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Kariane Mendes Nunes.

Desenvolvimento de sistemas precursores de fase cristalina para administração intrabolsa periodontal.

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Orientador (a): Prof. Dr. Osvaldo de Freitas

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

RESUMO

NUNES, K. M. **Desenvolvimento de sistemas precursores de fase cristalina para administração intrabolsa periodontal**. 2012. p.128. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

A doença periodontal é uma infecção crônica que afeta as estruturas de suporte dos dentes com formação da bolsa periodontal, e caso não tratada, em estágios mais avançados o periodonto é destruído, ocasionando perda do dente. O tratamento concerne em duas etapas, à remoção mecânica do biofilme e cálculo dentário por raspagem e alisamento radicular e utilização de antimicrobianos. Ainda é comum a utilização de antimicrobiano de ação sistêmica, embora, tenha eficácia reduzida e frequentes efeitos adversos. Em face disto, justifica-se o desenvolvimento de sistemas de liberação sustentada de fármaco intrabolsa periodontal a fim de sanar os inconvenientes da terapia sistêmica. Contudo, aspectos como espaço anatomofisiológico e fluxo gengival crevicular intrínsecos à bolsa, são limitações pertinentes durante o desenvolvimento. Portanto, este trabalho teve como objetivo desenvolver sistemas e formulações precursoras de fase líquido cristalina baseados em monolinoleato de glicerila com gelificação *in situ* em fase líquido cristalina. Por meio de planejamento fatorial 3^2 foram obtidos 9 sistemas sem adição de fármaco e 9 formulações contendo metronidazol com diferentes razões de MLG/CREM e % H₂O. Quando caracterizados por microscopia de luz polarizada e espalhamento de raio-X a baixo ângulo, os sistemas e formulações com menor razão MLG/CREM com diferentes conteúdos de água apresentaram organização micelar isotrópica, quando com média e alta razão MLG/CREM coexistência de fases em transição líquido cristalina. Os sistemas e formulações com menor razão MLG/CREM erodiram rapidamente no ensaio de captação de água, inviabilizando sua transição para mesofase. Tanto os sistemas quanto as formulações com média e alta razão MLG/CREM apresentaram rápida captação de água com transição para fase cúbica. Contudo, com exceção do sistema e formulação com alta razão MGL/CREM e 15% de água, os demais sistemas e formulações, apresentaram propriedades de fluxo ideais para fácil aplicação por seringa acoplada a agulha, e comportamento viscoelástico adequado para promover espalhabilidade e retenção no interior da bolsa. Os sistemas e formulações com média e alta razão de MLG/CREM apresentaram melhor mucoadesão. Dentre as formulações, apenas a com média razão de GML/CREM e 5% de água, apresentou perfil bi-modal de liberação mantendo concentrações de metronidazol acima do MIC por 5 dias, característica desejável para sistemas de liberação intrabolsa periodontal. Portanto, todos os resultados advogam a favor desta formulação como potencial candidata ao emprego clínico como sistema de liberação de fármaco intrabolsa periodontal.

Palavras-chave: Sistemas de liberação intrabolsa periodontal, Cristais líquidos, Pseudoplasticidade, Viscoelasticidade, Mucoadesão, Seringabilidade,

1 INTRODUÇÃO

A tecnologia de sistema de liberação modificada de fármaco (SLMF) é relativamente recente, os primeiros protótipos surgiram em meados do século passado. Desde então, inúmeros sistemas de liberação modificada foram delineado. Os SLMF podem ser classificados em duas categorias; a) os de liberação imediata, geralmente de administração via sub-lingual, utilizados em quadros clínicos que necessitam de intervenção imediata tais como nos casos de crise de angina, de hipertensão, infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral e, b) os de liberação lenta, nos quais é desejável que inicialmente seja liberado fármaco em quantidade suficiente para atingir a dose terapêutica e em seguida seja liberadas doses de manutenção em função dos eventos farmacocinéticos. Quando este objetivo é alcançado, modular a velocidade e extensão de liberação de acordo com a necessidade clínica, considerando os eventos farmacocinéticos é esperados que os níveis plasmático do fármaco se mantenha estável, e com isto, redução de efeitos colaterais/adversos, da dose ou frequência de administração. Este conjunto contribui com a maior aderência ao tratamento e consequentemente maior eficácia da farmacoterapia (ROBINSON; LEE, 1987) (KUMAR et al., 2010; CHIEN, 1992).

Os sistemas de liberação lenta podem ser administrados por várias vias e veicular, tanto fármacos destinados à ação sistêmica, quanto aqueles de ação tópicos local. Dentre estes terá destaque os de administração via bucal, e mais especificamente intrabolsa periodontal (SLIBP).

1.1 Doença periodontal

Doença periodontal é causada pelo acúmulo de biofilme no periodonto (Jones et al 1996, Monbelli, 2003), sendo o estágio inicial conhecido como gengivite. O biofilme acumulado induz resposta inflamatória tornando a gengiva avermelhada, edemaciada e pode sangrar quando levemente tocada (Medlicott et al , 1994), A gengivite é bastante comum e facilmente tratada, porém se não tratada, evolui para periodontite (Listgarten, 1986). Neste caso, a inflamação atinge outros tecidos de sustentação, como o ligamento periodontal, o cemento e o osso alveolar. O epitélio juncional da gengiva se desprende do cemento e migra pela superfície do dente, resultado na formação da bolsa periodontal, cujo avanço provoca a

exposição da raiz, aumento da mobilidade do dente e perda, se não tratada (SOSKOLON; FRIEDAN, 1996; CARRANZA, 2004; Pihlstrom et al., 2005).

Em regiões saudáveis, o espaço entre a gengiva e o dente é muito estreito, sendo denominado sulco gengival, cuja profundidade é de até 3 mm, Figura 1, á esquerda. Na doença periodontal, com a migração do epitélio juncional em direção à raiz, essa profundidade pode variar de 4 a 12mm, (MEDLICOTT et al., 1994), Figura 1, á direita. Tanto o sulco gengival quanto a bolsa periodontal são constantemente lavados pelo fluido gengival crevicular, que flui do tecido gengival, passa pelo sulco, ou pela bolsa, e cai na cavidade oral. Sua composição é semelhante à do plasma, mas seus constituintes estão em menor concentração. O volume de fluido crevicular no sulco gengival é 0,04uL e seu fluxo é de 0,03uL/min. Na bolsa periodontal, o volume e o fluxo aumentam para 0,5uL e 0,5 uL/min respectivamente (HATTING, HO, 1980), podendo chegar a 150uL/h (STEINBERG, FRIEDMAN, 1988).

Aproximadamente 40% da população mundial é portadora de doença periodontal, cuja prevalência é maior que a do câncer doenças cardiovasculares e artrite, reumatoide, (Júnior et al., 2007; Saba-Chujfi et al., 2007;; Sallum et al., 2007; Araújo; Sukekava, 2007). Além disso, tem sido associada a incidência de parto prematuro (JAIN et al., 2008). A incidência é de duas a três vezes maiores, em portadores de diabetes tipo I (Salvi et al., 1998; Stein et al., 1997). A periodontite severa (bolsa periodontal) é responsável por 5 a 15% da perda de dente na população mundial (WHO, 2003; Petersen, 2003).

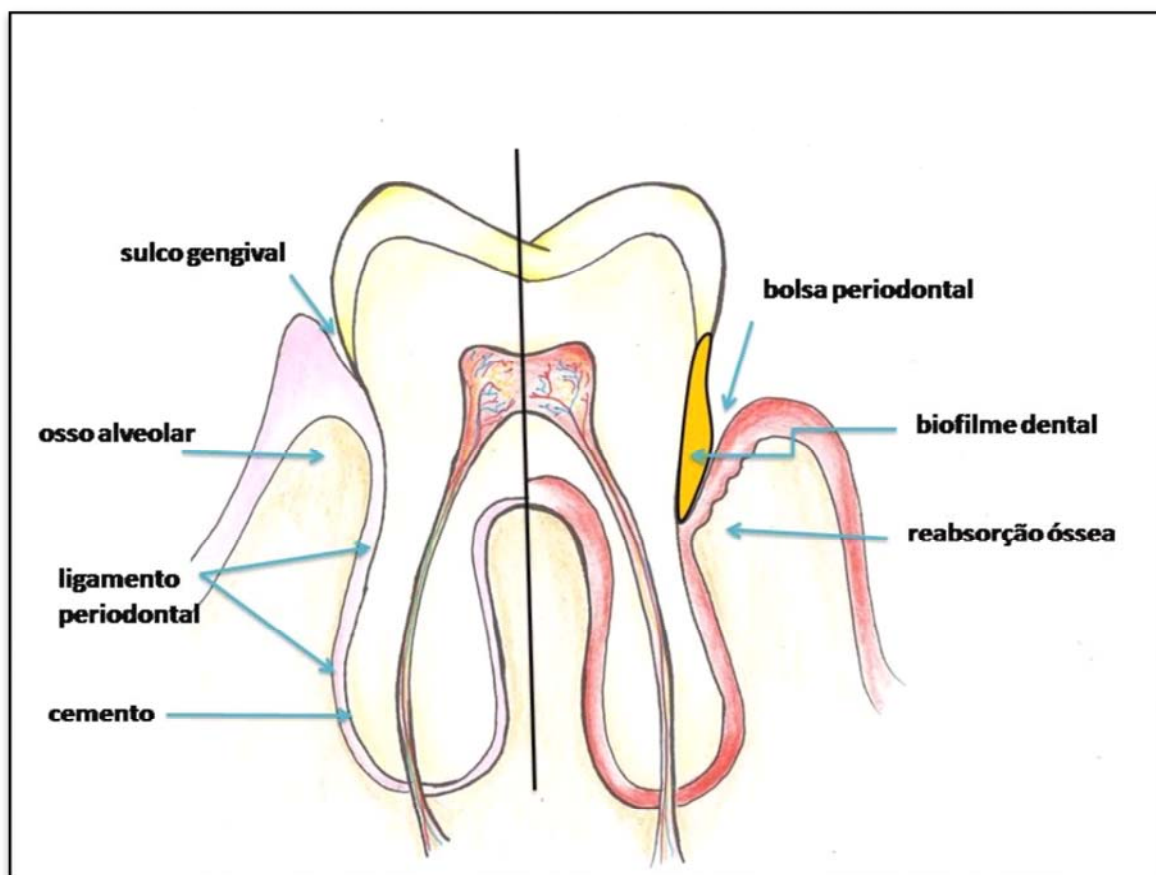


Figura 1. Representação do periodonto sadio (lado esquerdo) e com periodontite (lado direito).

O tratamento tem como finalidade a cura do tecido inflamado, redução do número de bactérias patogênicas (biofilme) e eliminação da bolsa (Steingerb e Freidman, 1988). Tradicionalmente, consiste na remoção mecânica do biofilme e cálculo supra gengival por meio de procedimentos de raspagem e alisamento radicular associado ou não ao controle da microbiota por meio de terapias adjuvantes como higiene bucal e uso de agentes antimicrobianos de ação sistêmica ou local (BRUSCHI et al., 2006; FRIEDMAN, 1988; MEDLICOTT et al., 1994; STEINBERG; VYAS; SIHORKAR; MISHRA, 2000). Porém, antibioticoterapia sistêmica tem demonstrado eficácia reduzida, frequentes efeitos adverso, além de ocorrência de resistência bacteriana. A somatória desses eventos tende a reduzir a adesão do paciente ao tratamento, representando fator limitante (HERRERA, et al., 2012)

1.2 Sistemas de liberação intrabolsa periodontal

O interesse na pesquisa e desenvolvimento de sistemas/dispositivos de liberação tópico/local de antimicrobianos intrabolsa periodontal ocorreu em meados dos anos 1970,

motivado pelos inconvenientes da terapia sistêmica. Estes sistemas/dispositivos devem ter como características básicas controlar ou manter a concentração do fármaco, em quantidade igual ou superior ao CIM, no interior da bolsa durante período de tempo relativamente longo, considerando as restrições anatomofisiológica do local de administração (BRUSCHI et al., 2006; STEINBERG; FRIEDMAN, 2000).

A bolsa periodontal é um local definido circundado por tecidos mole e duro formando um reservatório natural que permite a inserção de um dispositivo de liberação. A presença de um fluxo crevicular gengival (FCG) proporciona contínua lavagem do dispositivo, contribuindo para disponibilização ou liberação do fármaco. Portanto, a localização, anatomia e fisiologia da bolsa periodontal são requisitos que a tornam local apropriado para o emprego de SLIBP com potenciais vantagens.

Os primeiros sistemas/dispositivos foram desenvolvidos a partir de polímeros não biodegradáveis, cujo racional era proporcionar liberação prolongada do fármaco (ADDY et al., 1982). Porém, com o inconveniente, entre outros, de dificultar a regeneração e adesão do tecido, requerer a retirada do dispositivo após o término do tratamento, reduzindo a adesão do paciente ao tratamento. Em seguida, uma nova geração de dispositivos intrabolsa periodontal começou a ser delineado e desenvolvido a partir de polímeros biodegradáveis (SOSKOLONE; FREIDMAN, 1996 STEINBERG; FRIEDMAN, 2000). Estes trouxeram uma série de vantagens em relação aos não biodegradáveis.

Dentre as vantagens, destaca-se a promoção da adesão do paciente ao tratamento, uma vez que, não há necessidade de retorno para retirada do dispositivo intrabolsa periodontal. Devido sua biodegradabilidade, não afetam a regeneração do tecido periodontal, permitindo a redução da profundidade da bolsa. Reduz e/ou elimina o risco de rejeição acompanhada de inflamação local, devido à resposta do sistema imune quando há o reconhecimento do próprio dispositivo como um corpo estranho. Além disso, a completa degradação da matriz do sistema de liberação garante a liberação integral do conteúdo de fármaco adicionado (BRUSCHI et al., 2006; MEDLICOTT et al., 1994; PRAGATI; ASHOK; KULDEEP, 2009; SOSKOLONE; FREIDMAN, 1996).

Dentro do grupo das categorias de dispositivos não biodegradáveis e biodegradáveis, inúmeros modelos de dispositivo têm sido pesquisados e desenvolvidos. Dentre os quais se destacam as fibras, filmes, e sistemas seringáveis. Na Tabela 1 são listados alguns desses dispositivos de liberação intrabolsa periodontal disponibilizados comercialmente. Suas

aplicações na bolsa periodontal podem ser visualizadas no esquema representativo da Figura 2. Maiores detalhes sobre os modelos de dispositivos supracitados serão detalhados a seguir.

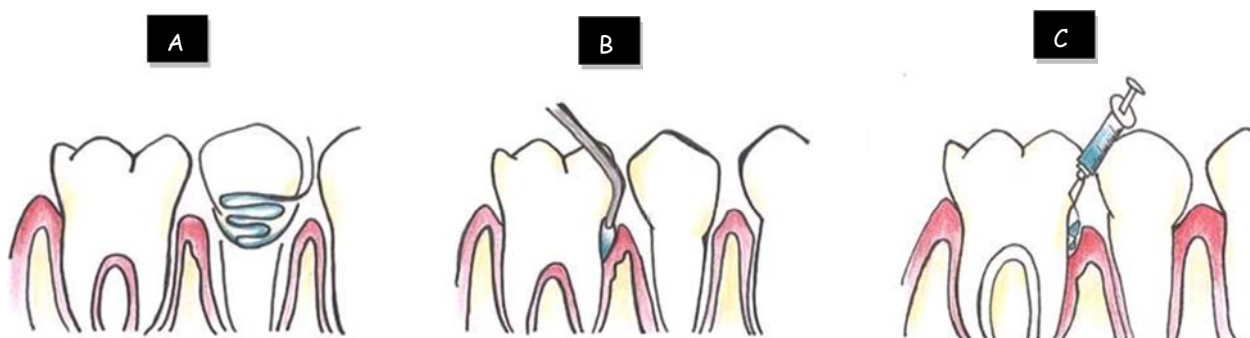


Figura 2. Modelos de dispositivos intrabolsa periodontal. (A) fibras, (B) filmes e (C) sistemas injetáveis.

Tabela 1. Lista de sistemas de liberação de fármaco intrabolsa periodontal.

| Nome Comercial | Forma Farmacêutica | Composição | Fármaco | Perfil de Biodegradabilidade / Período de liberação |
|---|--------------------|--|--------------------------|---|
| Actisite [®] (Alza Corp. USA). | Fibras monolíticas | Copolímero etileno vinil acetato | Tetraciclina | Não-biodegradável, 9 dias |
| PerioChip [®] (Perio Products, Jerusalem, Israel) | Filme | Gelatina Hidrolisada / glicerina | Gluconato de clorexidina | Biodegradável, 6-9 dias |
| Atrigel [®] (Atrix Lab.USA) | Gel | HEC/ copolímero de aminoalquil metacrilato | Minociclina | Biodegradável 2 dias |
| Dentomycin [®] (Lederle Lab.USA) | Gel | PLA + NMP | Doxiciclina | Biodegradável 7 dias |
| Elyzol [®] (Dumex-Alpha Lab. USA) | Gel | Monoleína + óleo de sésamo | Benzoato de Metronidazol | Biodegradável 3 dias |

1.2.1 Fibras

O primeiro sistema de liberação de fármaco intrabolsa peirodental foi desenvolvido por Goodson et al. (1979) a partir de tubos de diálise de acetato de celulose (diâmetro = 250 μ m) preenchidos com tetraciclina, cuja liberação do fármaco (95%) ocorreu em duas horas. Apesar de não proporcionar liberação lenta, este foi utilizado protótipo para o desenvolvimento de outros sistemas de liberação (ADDY et al., 1982; GOLOMB; FRIEDMAN, 1980; GOODSON et al., 1983). Posteriormente, Goodson avaliou a liberação de tetraciclina incorporada em fibras compostas por diferentes polímeros: polietileno, polipropileno, policaprolactona, poliuretano, acetato-propionato de celulose e etileno vinil acetato (GOODSON et al., 1983). Fibras de etileno vinil acetato mantiveram níveis de tetraciclina acima de 600 μ g/mL no fluido crevicular gengival por 10 dias, seguindo cinética de liberação de zero ordem (GOODSON et al., 1983; TONETTI; CUGINI; GOODSON, 1990). Em face disto, esse dispositivo teve sua comercialização pela Alza Corporation, Palo Alto, Califórnia, com o nome de Actisite®.

As principais desvantagens foram: o tempo relativamente longo (7-10 min) para a inserção da fibra; não biodegradabilidade das fibras e a necessidade de fechar a abertura da bolsa com cola (cianoacrilato) para manter a fibra na cavidade; retirada do dispositivo. Em tempo pré-determinado, reduzindo a adesão do paciente ao tratamento (GOODSON, 1994; SOSKOLONE; FREIDMAN, 1996).

1.2.2 Filmes

São sistemas de liberação em que o fármaco está distribuído por toda matriz do polímero, e a liberação do fármaco ocorre por difusão e/ou a dissolução ou erosão pela matriz (PRAGATI; ASHOK; KULDEEP, 2009; VYAS; SIHORKAR; MISHRA, 2000). Os filmes apresentam propriedades físicas que facilitam sua aplicabilidade. As dimensões e forma dos filmes podem ser facilmente manipuladas de acordo com as dimensões da bolsa a ser tratada. Sua inserção é simples e rápida, com mínimo desconforto para o paciente. Dependendo da espessura (< 400 μ m) e propriedades adesivas do filme, sua retenção não será prejudicada pelos hábitos de higiene e/ou funções mastigatórias da cavidade bucal (SOSKOLONE, FREIDMAN, 1996).

Os filmes podem ser obtidos a partir de polímeros degradáveis ou não. Estudos realizados por Addy et al. (1982) demonstraram que filmes obtidos a partir de

metilmetacrilato (não biodegradáveis) contendo diferentes concentrações de tetraciclina, metronidazol ou clorexidina, apresentaram níveis terapêuticos dos três fármacos que se estenderam por até 14 dias. Contudo, os perfis de liberação foram dependentes da solubilidade e concentração do fármaco.

Filmes etilcelulose contendo clorhexidina, metronidazol, tetraciclina e minociclina, proporcionaram liberação sustentada dos fármacos que variaram entre 10 a 200 dias, em função do solvente utilizado, plastificantes e concentração do fármaco (JAIN et al., 2008; SOSKOLNE et al., 1983).

Entretanto, por se tratar de filmes não biodegradáveis apresentam limitação comum às fibras, que é a necessidade de remoção e substituição, em consultório, durante o tratamento. Além disso, estudos clínicos sugerem a associação da presença do dispositivo não biodegradável com redução da evolução dos parâmetros clínicos relacionados à bolsa periodontal (VYAS et al., 2000).

Devido às limitações dos filmes obtidos a partir de polímeros não biodegradáveis, maior ênfase tem sido dada aos biodegradáveis. Filmes obtidos a partir de proteína de peixe sustentou a liberação de clorexidina pelo período de 04 a 80h (Seinberg et al. (1990), sendo comercializado como Byco[®].

O Periochip[®], comercializado pela Perio Products Ltd, de Jerusalém, Israel, composto por gelatina hidrolisada e glicerina, demonstrou em ensaios clínicos liberação bimodal do fármaco, com efeito 'burst' (2007mg/mL) no intervalo de duas horas após sua aplicação, em seguida com liberação sustentada de concentrações acima da concentração mínima inibitória de clorexidina (125mg/mL) por 6 a 9 dias (SOSKOLNE et al., 1998.; STANLEY et al., 1989)

1.2.3 Sistemas seringáveis

Sistemas intrabolsa periodontal seringáveis são potencialmente promissores quando comparado aos demais tipos de dispositivos. Devido à facilidade e rapidez da aplicação, no interior da bolsa, utilizando seringa, sem causar desconforto ou dor ao paciente. Requisitos fundamentais para a aplicabilidade clínica e sucesso de um dispositivo intrabolsa periodontal (BRUSCHI et al., 2006; JONES et al., 1997; SOSKOLONE; FREIDMAN, 1996). Estas características contribuem com a aceitação e possivelmente com a redução dos custos do tratamento (ABDELLAOUIA; CASTIONIB; GURNY, 2000; PRAGATI; ASHOK; KULDEEP, 2009).

Estas formulações devem propriedades de fluxo que possibilite o mínimo de esforço na aplicação e a distribuição por todo o interior da bolsa. Para sua retenção, a formulação pode possuir boa adesividade ou passar por mudança de fase após aplicação. A somatória desses eventos evita que a formulação seja lavada pelo fluido crevicular gengival (BRUSCHI et al., 2006; JONES et al., 1997; JONES et al., 2009; MALMSTEM, 2006; NEEDLEMAN; SMALES, 1995; VYAS; SIHORKAR; MISHRA, 2000).

O conhecimento do comportamento reológico destes sistemas é importante, visando prever seu comportamento em situações que ocorrem *in vivo*, como lavagem a resistência ao fluxo líquido crevicular, ao cisalhamento oscilatório (stress) durante a mastigação (Gavin et al., 2006). Assim candidatos promissores devem apresentar comportamento de fluxo do tipo pseudoplástico com moderada tixotropia e cisalhamento oscilatório em torno de 5 Hz (JONES et al., 1997; BRUSCHI et al., 2006; ANDREWS et al., 2006) . Essas características são necessárias para fácil extrusão, em seringa acoplada com agulha, rápida reestruturação após aplicação, a fim de reter a formulação dentro da bolsa (BRUSCHI; FREITAS, 2005). Propriedades viscoelásticas irão possibilita o espalhamento e retenção dos sistemas no local de aplicação. Além disso, essas propriedades tem forte influencia no perfil de liberação do fármaco (JONES et al., 1997) e mucoadesão (ANDREWS; JONES, 2009; JONES et al., 2000; WONG et al., 1999; NEEDLEMAN; SMALES, 1995) de sistemas semi-sólidos..

1.2.4 Sistemas líquido cristalinos

Fases líquido cristalinas podem ser empregadas como sistemas de liberação intrabolsa periodontal, pois, são capazes de incorporar grandes quantidades de fármacos de diferentes propriedades fisico-químicas, além disso pode ser modulados quanto suas propriedades de fluxo e viscoelásticas (PATEL; PATEL, 2010; GUO et al., 2010). Contudo, a alta viscosidade de mesofases pode dificultar o manuseio e administração desses sistemas, neste contexto, é que surge o interesse em se obter primeiramente precursores de fase cristalina com baixa viscosidade, de fácil preparo e administração, e quando *in situ* transitam para mesofases com alta viscosidade. Existem inúmeros fatores os quais podem ser usados para desencadear tais transições *in situ*, como temperatura, captação de água, força iônica, pH, e concentrações de íons cálcio e outros específicos solutos e metabólitos (Malmsten, M., 2006).

Cristais líquidos são estados intermediários ou mesofases que combinam propriedades de líquido e sólido. O estado líquido está associado com a capacidade de fluxo, ao passo que o estado sólido é caracterizado por uma estrutura ordenada cristalina . (LARSSOM, 1989).

Materiais que formam cristais líquidos por meio da adição de solventes são classificados como cristais líquidos liotrópicos, enquanto cristais líquidos termotrópicos têm sua estabilidade dependente da temperatura (HYDE, 2001).

Sistemas formados a partir de lipídeos anfifílicos, como o monolinoleato de glicerila (Figura 3), associados ou não a tensoativos quando em presença de água podem exibir uma grande variedade de fases liotrópicas ou mesofases, além de sistemas micelares. Dentre as mesofases mais importante e comumente observadas são lamelar, hexagonal e cúbica (Figura 3). É crescente o interesse no comportamento e propriedades das mesofases formadas a partir de lipídeos e água, devido sua ampla aplicação em alimentos, cosmético, produtos farmacêuticos e sistemas de encapsulação,, devido sua biocompatibilidade.

O emprego de fases líquido cristalinas como sistemas de liberação de fármaco, são promissores, devido suas microestrutura e propriedades físico-químicas (CHANG, BODMEIER, 1997). Várias moléculas biotivas como fármacos com diferentes propriedades, físico-químicas peptídeos e proteínas podem ser solubilizados em larga quantidade na fase oleosa ou aquosa desses sistemas (GUO et al., 2010). Em geral, devido sua alta viscosidade, sistemas líquidos cristalinos são também utilizados quando o fármaco deve se localizar em específicos sítios como em cavidades do corpo, na pele, subcutâneo ou intramuscular e em diferentes superfícies de mucosa (CHANG;BODMEIER, 2005).

O emprego da fase cubica como sistema de liberação sustentado de fármacos, é cada vez mais amplo. Este interesse se deve a propriedades como alta viscosidade, complexa estrutura, equilíbrio em excesso de água, estabilidade físico-química de fármacos, além de propriedades bio/mucoadesivas. O único fator limitante para seu emprego é sua alta viscosidade que impossibilita seu uso por seringa, porém, esse inconveniente pode ser sanado com o desenvolvimento de sistemas ou fases menos viscosas e com gelificação in situ para fase cubica.

A elucidação da estrutura interna de um sistema líquido cristalino pode ser realizada por inúmeras técnicas, dentre elas, o espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS). Um cristal líquido é um arranjo periódico de idênticos elementos espalhados que diferem somente em sua posição no interior do cristal. O SAXS é realizado submetendo a amostra, que tem dimensões de milímetros ou menos, a um feixe de raio-X. A intensidade de espalhamento $I(q)$ é mensurada em função do ângulo do feixe de incidência. A intensidade de espalhamento depende da orientação estrutural do cristal líquido em relação à direção do feixe de raio-X

incidente. Por meio da rotação do cristal, medidas dos ângulos e intensidades da radiação espalhada, é obtido um padrão de difração (TINOCO et al, 2002) .

A microscopia de luz polarizada é técnica simples e bastante aplicada para identificar as mesofases. Sob um plano de luz polarizada, a amostra pode apresentar anisotropia se for capaz de desviar o plano de luz incidente, como é o caso dos arranjos hexagonal e lamelar, se não desviar a luz considera como isotrópica, a exemplo do arranjo cúbico, que só pode ser confirmado com associação a outras técnicas, como o SAXS.

O estado líquido está associado com a capacidade de fluxo, ao passo que o estado sólido é caracterizado por uma estrutura ordenada cristalina . (LARSSOM, 1989). Materiais que formam cristais líquidos por meio da adição de solventes são classificados como cristais líquidos liotrópicos, enquanto cristais líquidos termotrópicos têm sua estabilidade dependente da temperatura (HYDE, 2001).

Sistemas formados a partir de lipídeos anfifílicos, como o monolinoleato de glicerila (Figura 3), associados ou não a tensoativos quando em presença de água podem exibir uma grande variedade de fases liotrópicas ou mesofases, além de sistemas micelares. Dentre as mesofases mais importante e comumente observadas são lamelar, hexagonal e cúbica (PATEL; PATEL, 2010; SEDDON; Templer). (. É crescente o interesse no comportamento e propriedades das mesofases formadas a partir de lipídeos e água, devido sua ampla aplicação em alimentos, cosmético, produtos farmacêuticos e sistemas de encapsulação,, devido suas excelentes propriedades biocompatíveis biocompatibilidade.

O emprego de fases líquido cristalinas como sistemas de liberação de fármaco, tem demonstrado potenciais resultados, devido suas microestrutura e propriedades físico-químicas (CHANG, BODMEIER, 1997b; PATEL; PATEL, 2010). Várias moléculas biotivas como fármacos com diferentes propriedades, físico-químicas peptídeos e proteínas podem ser solubilizados em larga quantidade na fase oleosa ou aquosa desses sistemas (GUO et al., 2010). Em geral, devido sua alta viscosidade, sistemas líquidos cristalinos são também utilizados quando o fármaco necessita deve se localizar em específicos sítios como em cavidades do corpo, na pele, subcutâneo ou intramuscular e em diferentes superfícies de mucosa (CHANG; BODMEIER, 2005).

O emprego da fase cubica como sistema de liberação sustentado de fármacos, é cada vez mais amplo. Este interesse se deve a propriedades como alta viscosidade, complexa

estrutura, equilíbrio em excesso de água, estabilidade físico-química de fármacos, além de propriedades bio/mucoadesivas. O único fator limitante para seu emprego é sua alta viscosidade que impossibilita seu uso por seringa, quando sua aplicação desejada é bucal, porém, esse inconveniente pode ser sanado com o desenvolvimento de sistemas ou fases menos viscosas e com gelificação *in situ* para fase cúbica.

A elucidação da estrutura interna de um sistema líquido cristalino pode ser realizada por inúmeras técnicas, dentre elas, o espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS). Um cristal líquido é um arranjo periódico de idênticos elementos espalhados que diferem somente em sua posição dentro do cristal. O SAXS é realizado submetendo a amostra, que tem dimensões de milímetros ou menos, a um feixe de raio-X. A intensidade de espalhamento $I(q)$ é mensurada como uma função do ângulo do feixe de incidência. A posição da intensidade de espalhamento depende da orientação estrutural do cristal líquido em relação à direção do feixe de raio-X incidente. Por meio da rotação do cristal, medidas dos ângulos e intensidades da radiação de espalhamento, um padrão de difração é obtido (DONG; BOYD, 2011).

A microscopia de luz polarizada é técnica simples e bastante aplicada para identificar as mesofases. Sob um plano de luz polarizada, a amostra pode apresentar anisotropia se for capaz de desviar o plano de luz incidente, como é o caso dos arranjos hexagonal e lamelar, se não desviar a luz considera como isotrópica, a exemplo do arranjo cúbico, que só pode ser confirmado com associação a outras técnicas, como o SAXS (PATEL;PATEL).

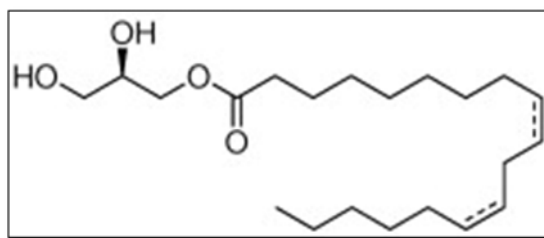


Figura 3. Estrutura química do monolinoleato de glicerila.

Alguns produtos baseados em sistemas cristalinos foram desenvolvidos e comercializados, Elyzol[®] (Dumex-Alpha, Copenhagen, como precursor de fase líquido cristalino, baseado em monooleato de glicerol e óleo de sésamo, contendo 25% de metronidazol (NORLING et al., 1992). Em estudo clínico, foi demonstrado que a eficácia da

raspagem e aplainamento foi similar a esta associada com o Elyzol (Pedrazzoli et al., 1992), sendo atribuído ao tempo de permanência no local entre 24 a 36 horas. (Pedrazzoli et al., 1992).

O uso de formulações ou dispositivos como adjuvante no tratamento da intrabolsa periodontal ainda é controverso, com autores advogando a favor e outros contra.

O tratamento adjuvante com o Perioclina[®] (Sunstar Co. Ltd., Osaka, Japan), gel composto de hidroxietilcelulose, copolímero aminoalquilmetacrilato, triacetina, cloreto de magnésio e glicerina, contendo 2% minociclina, demonstrou resultados clínicos significativamente melhores quando comparados ao grupo controle, somente o tratamento convencional (NAKAGAWA et al., 1991). Gel similar comercializado com o nome de Dentomycin[®] (Lederle Laboratories, UK) apresentou vantagens como adjuvante do tratamento não-cirúrgico em termos de melhora no nível de inserção gengival e sangramento à sondagem, quando comparado ao Perioclina[®] (GRAÇA et al., 1997).

Kinane e Radvar (1999) avaliaram a eficácia de três sistemas de liberação de antimicrobianos disponíveis para o tratamento da periodontite. Foram selecionados 79 pacientes, divididos em quatro grupos: raspagem e alisamento radicular apenas (20 pacientes); associados à aplicação de fibras de tetraciclina a 25% (19 pacientes); a um gel de minociclina a 2% (21 pacientes) ou a um gel de metronidazol a 25% (19 pacientes). Medidas clínicas foram realizadas no início do trabalho e após 6 semanas, 3 e 6 meses da aplicação dos sistemas. Apesar dos três sistemas terem demonstrado algum benefício sobre a raspagem e alisamento radicular isoladamente, a colocação de fibras de tetraciclina simultaneamente ao tratamento mecânico mostrou a maior redução na profundidade de sondagem, após 6 meses de tratamento.

Griffiths et al. (2000) relataram os resultados de estudo realizado em dois centros onde foram comparados os efeitos clínicos da raspagem subgengival e esta associada à aplicação do gel de metronidazol a 25% Elyzol[®]. Foram selecionados 88 pacientes no total (43 de um centro e 45 do outro), nos quais todos os quadrantes receberam raspagem subgengival e alisamento radicular, sendo em cada paciente dois quadrantes selecionados aleatoriamente para receber a aplicação do gel. Os parâmetros clínicos avaliados foram a profundidade e sangramento à sondagem e o nível de inserção gengival, registrados ao início do tratamento e após 1, 3, 6 e 9 meses da terapia. Concluíram que a associação da raspagem subgengival ao

gel de metronidazol foi superior ao tratamento convencional isolado, sendo essa superioridade mantida por 9 meses.

Estes dados contrastam com os de outros autores, Needleman (1992) utilizou um gel de metronidazol a 1% em áreas de furca, classe II e III. Após a terapia periodontal de manutenção a um grupo foi aplicado gel contendo metronidazol (grupo experimental) ou um gel placebo (grupo controle). Após 1 e 3 meses, os sítios foram reexaminados, concluindo-se que o grupo experimental não diferiu de maneira significativa do controle, em um nível de significância de 5%.

Awartani e Zulqarnain (1998) compararam os efeitos da aplicação do 25%, Elyzol[®], gel de metronidazol a 25%, com a raspagem subgingival. Foram selecionados 13 pacientes, sendo que cada um recebeu simultaneamente, em quadrantes selecionados aleatoriamente, todos os tipos de tratamento: 1) aplicação do gel de metronidazol somente, 2) raspagem subgingival, 3) uma combinação do tratamento mecânico com o gel e, 4) sem tratamento (controle). Os resultados obtidos demonstraram que, para o tratamento da periodontite de moderada a severa, a raspagem subgingival isolada foi tão eficiente quanto a combinação da raspagem com a terapia antibiótica. Este resultado pode ser devido à absorção e ação sistêmica do fármaco

Jansson et al. (2004) reportaram um estudo onde 20 pacientes receberam dois tipos de tratamento, ao mesmo tempo: enquanto uma bolsa periodontal recebia um gel de metronidazol a 25%, outro sítio selecionado aleatoriamente recebia um gel placebo. Os resultados demonstraram que o gel contendo metronidazol não foi capaz de reduzir a ocorrência dos microrganismos *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella nigrescens* e *Actinomyces actinomycetemcomitans*, quando avaliados pela reação em cadeia da polimerase (PCR).

A alta prevalência da periodontite associada às dificuldades relacionadas ao tratamento local e eficaz dessa doença justificam a pesquisa e desenvolvimento de sistemas de liberação sustentado de fármacos, que atendam às necessidades, considerando as restrições anatomofisiológicas do local de aplicação. Portanto, este estudo teve como propósito desenvolver sistemas precursores de fase cristalina fluídos com gelificação *in situ* em mesofase apropriados para promover liberação sustentada de fármacos intrabolsa periodontal.

5 CONCLUSÕES

1. A razão MLG/CREM e conteúdo de água proporcionaram sistemas com diferente características físico-químicas.

2. Os sistemas (S1-S3) com menor razão MLG/CREM (0.25) apresentaram-se como fluidos isotrópicos, típico de fase micelar, com comportamento de fluxo tipo pseudoplástico sem tixotropia e rápida erosão, em presença de água.

3. Com o aumento da razão MLG/CREM para 2,1, sistemas S4-S6 e 4,0 sistemas S7-S9, apresentaram anisotropia caracterizada por maior organização estrutural, confirmado por SAXS, estruturas em transição para fase líquido cristalina. Com rápida captação de água, e transição para fase cúbica cristalina *in situ*. Os sistemas S4 a S8 apresentaram comportamento do tipo pseudoplástico com moderada tixotropia a 25°C, com valores de trabalho de seringabilidade desejáveis para fácil aplicação com seringa acoplada a agulha. Propriedades viscoelásticas adequadas e melhor biomucoadesão, poderão promover boa espalhabilidade e retenção no interior da bolsa da periodontal. Portanto, com propriedades físicas e estruturais desejáveis para de sistemas de liberação administrado por seringa. Apenas o sistema S9 apresentou comportamento plástico caracterizado por alto valor de ponto de escoamento, inviabilizando sua aplicação por seringa.

4. Com a adição do metronidazol, as formulações (F1-F3) apresentaram propriedades similares aos sistemas.

5. As formulações F4-F8, também apresentaram alta velocidade de captação de água, porém sem erosão, e com transição para fase cubica após captação de água. O comportamento de fluxo foi similar aos sistemas, contudo, houve um pequeno aumento da viscosidade aparente com adição do fármaco, porém não afetou a fácil extrusão das formulações F4-F8 via seringa. Por fim, no ensaio de liberação *in vitro* do metronidazol a somente a formulação F7 apresentou perfil de liberação bi-modal do fármaco, caracterizada por 'burst' seguido de liberação lenta que se estenderam por 144 horas (5 dias), em concentrações acima do CIM específico. Por isso, somado a suas propriedades físicas e estruturais requeridas para esse tipo de sistema, a formulações F7 foi eleita como candidata ao emprego clínico como sistema de liberação de antimicrobianos intrabolsa periodontal.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELLAOUIA, K. S.; CASTIONIB, N.V.; GURNY, R. Local delivery of antimicrobial agents for the treatment of periodontal diseases. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v. 50 , p. 83 – 99, 2000.

ADDY, M. et al. The development and in vitro evaluation of acrylic resin strips and dialysis tubing for local drug delivery. **J. Periodont**. v. 53, p. 693-699, 1982.

AHMED, A.R.; DASHEVSKY, A.; BODMEIER, R. Drug release from and sterilization of *in situ* cubic phase forming monoglyceride drug delivery systems. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. n. 75, v. 375-380, 2010.

ALAM, M.M. ARAMAKI, K. Glycerol effects on the formation and rheology of hexagonal phase and related gel emulsion. **J. Colloid Interface Sci**. v. 336, p. 820–826, 2009.

ANDREWS, G. P. et al. Characterization of the Rheological, Mucoadhesive, and Drug Release Properties of Highly Structured Gel Platforms for Intravaginal Drug Delivery **Biomacromolecules**. v. 10, p. 2427–2435 2009.

ANDREWS, G.P; JONES, D.S. Rheological Characterization of Bioadhesive Binary Polymeric Systems Designed as Platforms for Drug Delivery Implants. **Biomacromolecules**. v. 7, n. 3, p. 899-906, 2006.

ANGELOV, A. et al. Small-Angle X-ray Scattering Investigations of Biomolecular Confinement, Loading, and Release from Liquid-Crystalline Nanochannel Assemblies. **J. Phys. Chem. Lett**. v. 3, p. 445 – 457, 2012.

ANGELOV, B. et al. Long-Living Intermediates during a Lamellar to a Diamond-Cubic Lipid Phase Transition: A Small-Angle X-Ray Scattering Investigation, **Langmuir**. v.

ANVISA. **Guia para Validação de Métodos Analíticos**. Resolução – RE nº 899, de 29 de maio de 2003.

ARAÚJO, M.G; SUKEKAVA, F. Epidemiologia da doença periodontal na América Latina. **Revista Periodontia**, v. 17, p. 07-13, 2007.

AWARTANI, F.A.; ZULQARNAIN, B.J. Comparison of the clinical effects of subgingival application of metronidazol 25% gel and scaling in the treatment of adult periodontitis. **Quint. Int**. 29:41-48, 1998.

BANSAL, K. et al. Development of Satranidazole Mucoadhesive Gel for the Treatment of Periodontitis. **AAPS PharmSciTech**, v. 10, p. 716-723, 2009.

BARNES, H. A. The yield stress — a review. **J. Non-Newtonian Fluid Mech**, v. 81, p. 133 – 178, 1999.

BARNES, H. A. A Reviews of the rheology of filled viscoelastic systems. **The British Society of Rheology**, p. 1-36, 2003.

BARNES, H. A. Thixotropy: a review. **J. Non-Newtonian Fluid Mech.** v. 70, p. 1-33, 1997.

BARNES, H.A et al. **An Introduction to Rheology.** 3 ed. Amsterdam: Elsevier, 1993, 185 p.

BONACUCINA, G.; PALMIERI, G.F.; CRAIG, D.Q.M. Rheological and Dielectric Characterization of Monoolein/Water Mesophases in the Presence of a Peptide Drug. **J. Pharm. Sci.** v. 94, p. 2452-2462, 2005.

BOX, G. E. P., HUNTER, W. G., AND HUNTER, J. S. **Statistics for Experimenters: An Introduction to Design, Data Analysis, and Model Building.** Canada: John Wiley and Sons. 1978, 645p.

BOYD, et al. Lyotropic liquid crystalline phases formed from glycerate surfactants as sustained release drug delivery systems. **International Journal of Pharmaceutics.** v. 309, p. 218–226, 2006.

BRETAS, R.; E.S.; D'ÁVILA, M. A. **Reologia de polímeros fundidos.** 2 ed. São Carlos: EdUFSCAR, 2010, 257 p.

BRUSCHI, et al. Semisolid Systems Containing Propolis for the Treatment of Periodontal Disease: In Vitro Release Kinetics, Syringeability, Rheological, Textural, and Mucoadhesive Properties. **J.Pharmaceutical Sciences.** v. 96, p. 2074-2088, 2007.

BRUSCHI, M. L.; FREITAS, O. Oral bioadhesive drug delivery systems. **Drug Development and Industrial Pharmacy.** v. 31, p. 293-310, 2005.

BRUSCHI, M.L. Desenvolvimento e Caracterização de Sistemas de Liberação Intrabolsa Periodontal. 2006. 318 f. **Tese de Doutorado** – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 2006.

BRUSCHI, M.L. et al. Sistemas de Liberação de Fármaco Intrabolsa Periodontal. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 42, 29-47, 2006.

BURCKBUCHLER, V. et al. Rheological and Syringeability Properties of Highly Concentrated Human Polyclonal Immunoglobulin Solutions. **Eur. J. Pharm. Biopharm.** v. 76, p. 351-356, 2010.

BURGESS, D.J. **Injectable Dispersed Systems: Formulation, Processing and Performance**. New York: Taylor & Francis Group. 2005, 688p.

BURROWS, R. et al. The release of drugs from monoglyceride-water liquid crystalline phases. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 111, p. 283-293, 1994.

CAMPOS, L. et al. Reversible Phase Transitions in Emulsified Nanostructured Lipid Systems. **Langmuir**. v. 20, p. 5254-5261, 2004.

CÁRCAMO, E. C. **Cinética de disolución de medicamentos**. Washington: Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos, 1981. 103p.

CARVALHO, F.C. et al. Mucoadhesive drug delivery systems. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 46, p. 1-17, 2010.

CHANG, C., BODMEIER, R. Application of Monoglyceride-Based Liquid Crystals as Extended-Release Drug Delivery Systems. **Taylor & Francis Group**, p. 321-351, 2005.

CHANG, C., BODMEIER, R. Effect of dissolution media and additives on the drug release from cubic phase delivery systems. **J. Control. Rel.** 46, 215-222, 1997b.

CHANG, C., BODMEIER, R. Low viscosity monoglyceride-based drug delivery systems transforming into a highly viscous cubic phase. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 173, p. 51 - 60, 1998.

CHANG, C., BODMEIER, R. Swelling of and drug release from monoglyceride-based drug delivery systems. **J. Pham. Sci.** v. 86, n.6, p.747-752, 1997a.

CHIEN, Y.W. Novel Drug Delivery Systems In: Chien, Y.W. (Ed.), Marcel Dekker, New York, 1992, p.797.

CIANCIO, S.G. Medication as risk factors for periodontal disease. **J. Periodontol.** v. 67, p. 1055-1059, 1996.

CLOGSTON, J. et al. Controlling release from the lipidic cubic phase by selective alkylation. **Journal of Controlled Release**. v. 102, p. 441 – 461, 2005.

CORDOBÉS, F.; FRANCO, J.M.; GALLEGOS, C. Rheology of the lamellar liquid-crystalline phase in polyethoxylated alcohol/water/heptane systems, **Grasas y Aceites**. v. 56, p. 96 -105, 2005.

COSTA-BALOGH, F. O. et al. Drug release from lipid liquid crystalline phases: relation with phase behavior. **Drug Development and Industrial Pharmacy**. v. 36 (4), p. 470–481, 2010.

DARVEAU, R.P. Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. **Nature**. v. 8, p. 481-490, 2010.

DONG, Y-D.; BOYD, B.J. Application of X-ray scattering in pharmaceutical science. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 417, p. 101-111, 2011.

DUYNHOVEN, J. P. M. V. et al. Microstructural Investigation of Monoglyceride–Water Coagel Systems by NMR and CryoSEM. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 285, p. 703–710, 2005.

EICK S, SELTMANN T, PFISTER W. Efficacy of Antibiotics to Strains of Periodontopathogenic Bacteria within a Single Species Biofilm an *In Vitro* Study. **J Clin Periodontol**, v. 31, n. 5, p. 376-83, 2004.

ESPOSITO E. et al. Comparative analysis of tetracycline-containing dental gels: poloxamer and monoglyceride-based formulations. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 142, p. 9 -23, 1996.

FEHÉR, A. et al. Lyotropic liquid crystal preconcentrates for the treatment of periodontal disease. **I.J. Pharmaceutics**. v. 358, p. 23-26, 2008.

FORMARIZ, T.P. et al. Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 41, p. 301-313, 2005.

FRANCO, J.M. et al. Transient and Steady Flow of a Lamellar Liquid Crystalline Surfactant /Water System. **Langmuir**, v. 11, p. 669-673, 1995.

FREDENBERG, S. et al. The mechanisms of drug release in poly(lactic-co-glycolic acid)-based drug delivery systems. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 415, p. 34-52, 2011.

GANEM-QUINTANAR, A.; QUINTANAR-GUERRERO, D.; BURI, P. Monolein: A review of the pharmaceutical applications. **Drug Dev. Ind. Pharm.** v. 26, p. 809-820, 2000.

GAURAV, T.; RUCHI, T.; AWANI, R. Studies on development of controlled delivery of combination drug(s) to periodontal pocket. **Indian Journal of Dental Research.** v. 21, p.72-83, 2010.

GERAGHTY, P.B., et al. An investigation of the parameters influencing the bioadhesive properties of Myverol 18-99/water gels. **Biomaterials.** v. 16, n. 1, p. 63-67, 1997.

GOODSON, J.M et al. Monolithic tetracycline-containing fibers for controlled delivery to periodontal pocket. **Journal of Periodontology,** v. 54, p. 575-579, 1983.

GOODSON, J.M.; HAFFAJEE, A.; SOCRANSKY, S.S. Periodontal therapy by local delivery of tetracycline. **J. Clin. Periodontol.** v. 6, p. 83-92, 1979.

GRAÇA, M.A. et al, A randomized controlled trial of a 2% minocycline gel as an adjunct to non-surgical periodontal treatment, using a design with multiple matching criteria, **J. Clin. Periodontol.** v. 24, p. 249 – 253, 1997.

GUO, C. et al. Lyotropic liquid crystal systems in drug delivery. **Drug Discovery Today.** v. 15, p. 1032-1040, 2010.

HATTING, J.; HO, E. The concentration of proteins in human gingival crevicular fluid. **J. Periodont. Res.** 15: 90-95, 1980.

HERRERA, D. et al. Local and systemic antimicrobial therapy in periodontics. **Jornal of Evidence-Based Dental Practice.** v. 2, p. 50-60, 2012.

HIGUCHI, T. Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. **J. Pharm. Sci.,** New York, v. 52, p. 1145-1149, 1963.

HYDE, S.T. Identification of lyotropic liquid crystalline mesophases. in: K. Holmberg (Ed.), Handbook of applied surface and colloid chemistry, John Wiley & Sons, New York, 2001, pp. 299 - 332.

JAIN, N.L. et al. Recent approaches for the treatment of periodontitis. **Drug Discovery Today,** v. 13, n. 21/22, p. 932-943, 2008.

JONES, D. S. et al Rheological, mechanical and mucoadhesive properties of thermoresponsive, bioadhesive binary mixtures composed of poloxamer 407 and carbopol 974P designed as platforms for implantable drug delivery systems for use in the oral cavity. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 372, p. 49-58, 2009.

JONES, D. S. et al. Design, characterisation and preliminary clinical evaluation of a novel mucoadhesive topical formulation containing tetracycline for the treatment of periodontal disease. **J. Control. Rel.** v. 67, p. 357-368, 2000.

JONES, D. S. et al. Development and mechanical characterization of bioadhesive semi-solid, polymeric systems containing tetracycline for the treatment of periodontal diseases. **Pharmaceutical Research**. v. 13, p. 1734-1738, 1996.

JONES, D. S. et al. Physicochemical Characterization and Preliminary in Vivo Efficacy of Bioadhesive, Semisolid Formulations Containing Flurbiprofen for the Treatment of Gingivitis. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v, 88, p. 592-598, n. 6, 1999.

JONES, D. S.; WOOLFSON, A. D.; BROWN, A. F. Textural Analysis and Flow Rheometry of Novel, Bioadhesive Antimicrobial Oral Gels. **Pharmaceutical Research**, v. 14, n. 4, p. 450-457, 1997.

JONES, D.S.; BROWN, A.F.; WOOLFSON, A.D. Rheological Characterization of Bioadhesive, Antimicrobial, Semisolids Designed for the treatment of Periodontal Diseases: Transient and Dynamic Viscoelastic and Continuous Shear Analysis. **J. Pharm. Sci.** v.. 90, p. 1978-1990, 2001.

JOUSIMIES-SOMER, H, et al. Activity of metronidazole and its hydroxyl metabolite against clinical isolates of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. **Oral Microbiol. Immunol.** v. 3, p. 32-34, 1988.

JUNIOR, A.B.N.; MACEDO, G.O.; ANDRADE, P.F. Inter-relação doença periodontal e diabetes *mellitus*. **Revista Periodontia**. v. 17, p. 39-44, 2007.

KELLAWAY, I.W.; WARREN, S.J, **Mucoadhesive hydrogels for buccal delivery**, in: Oral Mucosal Drug Delivery, RATHBONE, M. J (Ed.), Marcel Dekker, New York, 1996, p. 221–239.

KELLY, H.M. et al. Formulation and preliminary in vivo dog studies of a novel drug delivery system for the treatment of periodontitis. **Int. J. Pharm.** v. 274, p.167–183, 2004.

KHARENKO, E.A.; LARIONOVA, N. I.; DEMINA, N.B. Mucoadhesive Drug Delivery Systems. **Pharmaceutical Chemistry Journal**. v. 43, p. 200-208, 2009.

KHUTORYANSKAYA, O.V. et al. Multilayered hydrogel coatings covalently-linked to glass surfaces showing a potencial to mimic mucosal tissues. **Soft Matter**. v. 6, p. 551-557, 2009.

KHUTORYANSKI, V.V. Advances in Mucoadhesion and Mucoadhesive Polymers. **Macromol. Biosci**. v. 11, p.748-76, 2011.

KINANE, D.F.; RADVAR, M.A. A six-month comparison of three periodontal local antimicrobial therapies in persistent periodontal pochet, **J. Periodontol**. 70: 1-7, 1999.

KINLOCH, A.J. The science of adhesion: I. Surface and interfacial aspects. **J. Mater. Sci**. v. 15, p. 2141, 1980.

KO Ojijo, N. et al. Effects of monoglyceride content, cooling rate and shear on the rheological properties of olive oil/monoglyceride gel networks. **J. Sci. Food. Agric**. v.84, p. 1585 – 1593, 2004.

KULKARNI, C. V, et al. Monoolein: a magic lipid?. **Phys. Chem. Chem. Phys**. v. 13, p. 3004-3021, 2011.

KUMAR, K. M. et al. Effect of Drug Solubility and Different Excipients on Floating Behaviour and Release from Glyceryl Monooleate Matrices. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 272, p. 151-160, 2004.

KUMAR, K.P.S, et al. Innovations in Sustained Release Drug Delivery System and Its Market Opportunities. **J. Chem. Pharm. Res**. v. 2, p. 349-360, 2010.

LARA, M. G. Sistemas Líquido-Cristalinos Monolinoleato /Água para Liberação de Fármaco : Cinética de Liberação e Permeação Cutânea '*in vitro*'. 2001. 144 f. **Tese de Doutorado** – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 2001

LARA, M.G. et al. In vitro drug release mechanism and drug loading studies of cubic phase gels. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 293, p. 241-250, 2005.

LARSSON, K. Cubic Llipid-Water Phases: Structures and Biomembrane Aspects. *The Journal of Physical Chemistry*, v. 93, p. 7304-7314, 1989.

LEE, C.H.; MOTURI, V.; LEE, Y. Thixotropic property in pharmaceutical formulations. **Journal of Control. Release**. v. 136, p. 88 – 98, 2009.

LEE, J. et al. Kinetic characterization of swelling of liquid crystalline phases of glyceryl monooleate. **Arch. Pharm. Res**. v. 26, p. 880-885, 2003

LEE, J.; YOUNG, S. A.; KELLAWAY, I. W. Water quantitatively induces the mucoadhesion of liquid crystalline phases of glyceryl monooleate. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v. 53, p. 629–636, 2001.

LIBSTER, D. et al. An H_{II} liquid crystal-based delivery system for cyclosporin A: Physical characterization. **J. Colloid Interface Sci.** v. 308, p. 514–524, 2007.

LOPES, C.M. et al. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. vol. 41, n. 2, 2005.

LUTTON, E.S. Phase Behavior of Aqueous Systems of Monoglycerides. **The Journal of the American Oil Chemists Society**. v. 42, p. 1068-1070, 1965.

MALMSTEN, M. Soft delivery systems. **Soft Matter**. v. 2, p. 760-769, 2006.

MATHIOWITZ, E.; CHICKERING, D.E. **Definitions, mechanisms and theories of bioadhesion**, in: E. MATHIOWITZ, D.E. CHICKERING, C.-M. LEHR (Eds.). *Bioadhesive Drug Delivery Systems: Fundamentals, Novel Approaches and Development*, Marcel Decker, New York, 1999, pp. 1 – 10.

MEDLICOTT, N.J. et al. Delivery systems for the administration of drugs to the periodontal pocket, **Adv. Drug Deliv. Rev.** v. 13, p. 181–203, 1994.

MEZZENGA, R. et al. Polysaccharide-Induced Order-to-Order Transitions in Lyotropic Liquid Crystals. **Langmuir**. v. 21, p. 6165-6169, 2005.

MIYAZAKI, S. et al. In-situ gelling formulations as vehicles for oral drug delivery. **J Control Release**. v. 60, p. 287-295, 1999.

MONTALVO, C. et al. Phase and Rheological Behavior of the Dodecyl Tetraethylene Glycol / Benzyl Alcohol / Water System at Low Surfactant and Alcohol Concentrations, **J. Colloid Interf. Sci.** v. 202, p. 232 – 237, 1998.

MONTALVO, G.; VALIENTE, M.; RODENAS, E. Rheological Properties of the L Phase and the Hexagonal, Lamellar, and Cubic Liquid Crystals of the CTAB/ Benzyl Alcohol /Water System, **Langmuir**. v. 12, p. 5202- 5208, 1996.

MORTAZAVI, S.A.; SMART JD. Factors influencing gel-strengthening at the mucoadhesive–mucus interface. **J Pharm Pharmacol**. v. 46, p. 86–90, 1994.

MORTAZAVI, S.A.; SMART, J.D. An investigation into the role of water movement and mucus gel dehydration in mucoadhesion. **J. Control. Release.** v. 25, p.197-203, 1993.

MORTAZAVI, S.A.; SMART, J.D. An investigation of some factors influencing the in-vitro assessment of mucoadhesion, **Int. J. Pharm.** v. 116, p. 223 – 230, 1995.

NAKAGAWA, T. et al. Clinical and microbiological study of local minocycline delivery (Perioline[®]) following scaling and root planning in recurrent periodontal pockets. **Bull. Tokyo Dent. Coll.** v.32, p. 63-70, 1991.

NAKANO, M. et al. Dispersions of Liquid Crystalline Phases of the Monoolein/Oleic Acid/Pluronic F127 System. **Langmuir.** v. 18, p. 9283-92, 2002.

NASTRUZZI, C. et al. Kinetics of bromocriptine release from microspheres: comparative analysis between different in vitro models. **J. Microencapsulation.** v. 11, p. 565-574, 1994.

NEEDLEMAN, I. G.; SMALES, F. C. In vitro assessment of bioadhesion for periodontal and buccal drug delivery. **Biomaterials,** v.16, p. 617-624, 1995.

NEEDLEMAN, I.G.; SMALES, F.C. In vitro assessment of bioadhesion for periodontal and buccal drug delivery, **Biomaterials.** v.16, 617- 624, 1995.

NÉMETH, Zs. Rheological behavior of a lamellar liquid crystalline surfactant – water system. **Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects.** v. 145, p. 107-119, 1998.

NIELSEN, L.S.; SCHUBERT, L.; HANSEN, J. Bioadhesive drug delivery systems I. Characterisation of mucoadhesive properties of systems based on glyceryl mono-oleate and glyceryl monolinoleate **European Journal of Pharmaceutical Sciences.** v. 6, p. 231–239, 1998.

NORLING, T. et al. Formulation of a drug delivery system based on a mixture of monoglycerides and triglycerides for use in the treatment of periodontal disease. **J. Clin. Periodontol.** v. 19, p. 687-692, 1992.

OKONOGI, S. et al. Development of Local Injectable Dental Gel: The Influence of Certain Additives on Physicochemical Properties of Glycerylmonooleate-Based Formulation. **Drug Development and Industrial Pharmacy.** v. 30, p. 347-357, 2004.

PAQUETTE, D.W. et al. Inhibition of experimental gingivitis in beagle dogs with topical salivary histatins, **J. Clin. Periodontol.** v. 24, p. 216 – 222, 1997.

PATEL, R.; PATEL, T. N. Liquid crystals and their application in the field of drug Delivery . **Colloids in Drug Delivery**. chapter 13. p. 311-336, 2010.

PEDRAZZOLI, V.; KILIAN, M.; KARRING, T. Comparative clinical and microbiological effects of topical subgingival application of metronidazole 25% dental gel and scaling in the treatment of adult periodontitis. **J. Clin. Periodontol.** 19: 715-722, 1992.

PEPPAS, N.A.; BURI, P.A. Surface, Interfacial and molecular aspects of polymer bioadhesion on soft tissues. **Journal of Controlled Release**. v. 2, p. 257-275, 1985.

PERIOLI, L., et al. Rheological and functional characterization of new antiinflammatory delivery systems designed for buccal administration. **Int. J. Pharm** 356, p.19-28, 2008.

PERIOLI, L. et al. Novel mucoadhesive buccal formulation containing metronidazole for the treatment of periodontal disease. **Journal of Controlled Release**, v. 95, n. 3, p. 521-533, 2004.

PETERSEN, P.E. OGAWA, H., Strengthening the Prevention of Periodontal Disease: The WHO Approach, **J. Periodontol.** v.76, p. 2187- 2193, 2005.

PIHLSTROM, B.S. MICHALOWICZ, N.W. JOHNSON, Periodontal diseases, **Lancet**. v. 366, p. 1809 -1820, 2005. .

POLIZELLI, M.A. et al. Formation and characterization of soy bean oil/surfactant/water microemulsions, **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**. v. 281, p. 230–236, 2006.

PONCHEL G.; TOUCHARD, F.; DUCHENE, D.; PEPPAS, N. A. Bioadhesive analysis of controlled release systems. I. Fracture and interpenetration analysis in poly (acrylic acid)-contained systems. **Journal of Controlled Release**. v. 5, p. 129–41, 1987.

PRAGATI, S.; ASHOK S.; KULDEEP S. Recent advances in periodontal drug delivery systems. **International Journal of Drug Delivery**. v. 1, p. 1-14, 2009.

PRUD'HOMME, R. K.; GUANGWEI, W.; SCHNEIDE, D. K. Structure and Rheology Studies of Poly (oxyethylene–oxypropylene–oxyethylene) Aqueous Solution. **Langmuir**. v. 12, p. 4651–4659, 1996.

QIU, H. CAFFREY, M. The phase diagram of the monoolein/water system: metastability and equilibrium aspects, **Biomaterials**. v. 21, p. 223-234, 2000 .

RATHBONE, M. J. et al. The oral cavity as a site for systemic drug delivery **Advanced Drug Delivery Reviews**. v. 13, p. 1-22, 1994.

REDIGUIERI, C. F. Misturas aquosas de pectina/caseína: estudo físico-químico e potencial de uso no tratamento da doença periodontal. 2008. 147 f. **Tese de Doutorado** – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 2008.

RIGTER, P.L., PEPPAS, N.A. A simple equation for description of solute release. II. Fickian and anomalous release from swellable devices. **J. Control. Release**. v. 5, p. 37–42, 1987.

RIZWAN, S.B. et al. Liquid Crystalline Systems of Phytantriol and Glyceryl Monooleate Containing a Hydrophilic Protein: Characterisation, Swelling and Release Kinetics. **Journal of Pharmaceutical Science**. vol. 98, n. 11, p. 4191-4204, 2009.

ROBINSON, J.R.; LEE, V.H.L. *Controlled Drug Delivery: Fundamentals and Applications*. Marcel Dekker, New York, 1987, 715p.

ROBINSON, J.R.; LEE, V.H.L. *Controlled Drug Delivery: Fundamentals and Applications*. Marcel Dekker, New York, 1987, 715p.

RODRIGUEZ-ABREU, C. et al. Structure and rheology of direct and reverse liquid-crystal phases in a block copolymer/water/oil system, **Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects**. v. 269, p. 59–66, 2005.

ROSEVEAR, F. B. The Microscopy of the Liquid Crystalline Neat and Middle Phases of Soaps and Synthetic Detergents. *The Journal of the American Oil Chemists' Society* . v. 31, p. 628-639. 1954.

SABA-CHUJFI, E. et al. Inter-relação das doenças periodontais com as doenças cardiovasculares e cerebrovasculares isquêmicas.. **Revista Peridontia. Sociedade Brasileira de Periodontologia**, v. 17, p. 21-31, 2007.

SALAMAT-MILLER, N. et al. The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v. 57, p. 1666 – 1691, 2005.

SALLAM, A.S. et al. Formulation of an oral dosage form utilizing the properties of cubic liquid crystalline phases of glyceryl monooleate. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v.53, p. 343–352, 2002.

SALLUM, A.W.; NETO, J.B.C.; SALLUM, E.J. Tabagismo e a doença periodontal. **Revista Periodontia**. v. 17, p. 45-53, 2007.

SANTANA, R.C. et al. Effects of a cosurfactant on the shear-dependent structures of systems composed of biocompatible ingredients. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**. v. 398, p. 54 – 63, 2012.

SATO, S. et al. Metronidazole-containing gel for the treatment of periodontitis: an in vivo evaluation. **Braz Oral Res**. v. 22, n. 2, p. 145-50, 2008.

SCHOTT, H. Kinetics of swelling of polymers and their gels. **J. Pharm. Sci**. v. 81, p. 467–470, 1992.

SCHWACH-ABDELLAOUI, K.; MONTI, A.; BARR, J.; HELLER, J.; GURNY, R. Optimization of a novel bioerodible device based on auto-catalyzed poly(ortho esters) for controlled delivery of tetracycline to periodontal pocket. **Biomaterials**, v. 22, p. 1659-1666, 2001.

SEDDON, J. M, TEMPLER, R.H. **Polymorphism of Lipid-Water Systems**. In Handbook of Biological Physics in: R. Lipowsky, E. Sackmann, (Eds).; Elsevier Science, 1 (1995) 97-160.

SEYMOUR, R.A.; HEASMAN, P.A. Dental plaque and calculus. In: SEYMOUR, R.A.; HEASMAN, P.A. **Drugs, Diseases, and the Periodontium**. New York: Oxford University Press, 1992. Cap.2, p.11-18.

SHAH, M. H.; PARADKAR, A. Cubic Liquid Crystalline Glyceryl Monooleate Matrices for Oral Delivery of Enzyme. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 294, p. 161–171, 2005.

SHAH, M. H.; PARADKAR. Effect of HLB of additives on the properties and drug release from the glyceryl monooleate matrices. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v. 67, p. 166–174, 2007.

SHAH. M. H.; PARADKAR. A. Cubic Liquid Crystalline Glyceryl Monooleate Matrices for Oral Delivery of Enzyme. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 294. p. 161–171. 2005

SIDDIG, M.A. Rheological behaviours of the hexagonal and lamellar phases of glucopone (APG) surfactant. **Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects**. v. 276, 15 -21, 2006.

SMART J. D. Recent developments in the use of bioadhesive systems for delivery of drugs to the oral cavity. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Delivery Systems**. v. 21, p. 319–44, 2004.

SMART, J.D. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. **Adv. Drug Deliv. Rev.** v.57, p.1556-1568, 2005.

SOSKOLNE WA, CHAJEK T, FLASHNER M, LANDAU I, STABHOLTZ A, KOLATCH B, LERNER EL. An in vivo study of the chlorhexidine release profile of the PerioChip in the gingival crevicular fluid, plasma and urine. **J Clin Periodontol** v. 25, p. 1017–1021, 1998.

SOSKOLONE, W. A.; FREIDMAN, M. F. **Intra-periodontal pocket drug delivery systems.** In: RATHBONE, M. J. (Ed.). Oral mucosal drug delivery. New York: Marcel Dekker, 1996. cap. 14, p. 359-379.

SOUTHARD, G.L.; GODOWSKI, K.C. Subgingival controlled release of antimicrobial agents in the treatment of periodontal disease. **International Journal of Antimicrobial Agents.** v. 9, p. 239-253, 1998.

STABHOLZ, A. et al. Antimicrobial properties of human dentin impregnated with tetracycline HCl or chlorhexidine. An in vitro study. **J. Clin. Periodontol.** v. 20, p. 557-562, 1993.

STANLEY, A.; WILSON, M.; NEWMAN, H.N. The in vitro effects of chlorhexidine on subgingival plaque bacteria. **J. Clin. Periodontol.** 16: 259-264, 1989.

STEFFE, J. F. **Rheological Methods in Food Process Engineering.** 2. Ed. USA: Freeman Press, 1996. 412 p.

STEINBERG, D. et al. A new degradable controlled release device for treatment of periodontal disease. In vitro release study. **J. Periodontol.**, v. 61, p.393-398, 1990.

STEINBERG, D.; FRIEDMAN, M. **Sustained release drug delivery devices for local treatment of dental disease.** In: TYLE, P. (ed). Drug delivery devices. New York: Marcel Dekker, p. 491-515, 1988.

SUDHAKAR, Y.; KUOTSU, K.; BANDYOPADHYAY, A.K. Review: Buccal bioadhesive drug delivery - A promising option for orally less efficient drugs. **J. Control. Release.** v. 114, p. 15-40, 2006.

TINOCO, E.M.B, et al., Clinical and microbiological effects of adjunctive antibiotics in treatment of localized juvenile periodontitis. A controlled clinical trial. **J. Periodontol.** v. 69, 1355-1363, 1998.

TIWARI G.; TIWARI R.; RAI A. K. Studies on development of controlled delivery of combination drug(s) to periodontal pocket. **Indian J. Dent Res.** v. 21, p. 72-83, 2010.

TOMASI, C.; WENNSTROM, J. L. Locally Delivered Doxycycline as an Adjunct to Mechanical Debridement at Retreatment of Periodontal Pockets: Outcome at Furcation. **J Periodontol**. v. 82, p. 210-218, 2011.

TONETTI, M.; CUGINI, M.A.; GOODSON, J.M. Zero-order delivery with periodontal placement of tetracycline-loaded ethylene vinyl acetate fibers. **Journal of Periodontal Research**. v. 25, p. 243-249, 1990.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. BRUSCHI, M.L.; LARA, E.H.G.; FREITAS, O. **Dispositivo mimetizador de bolsa periodontal**. I.N.P.I/SP, P.I. 0.700.932-1.2008.

VERECKEN, J. et al. Effect of water and monoglyceride concentration on the behaviour of monoglyceride containing fat systems. *Food Research International*, v. 43 p. 872–881, 2010.

VYAS, S. P.; SIHORKAR, V.; MISHRA, V. Controlled and targeted drug delivery strategies towards intraperiodontal pocket disease. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**. v. 25, p.21-42, 2000.

WONG, C. F.; YUEN, K. H.; PEH, K. K. An in-vitro method for buccal adhesion studies: importance of instrument variables. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 180, p. 47 – 57 1999.

WOODLEY, J. Bioadhesion: New Possibilities for Drug Administration? **Clin. Pharmacokinetics**. v. 40, p. 77-84, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. The World Oral Health Report 2003. Geneva: WHO, 2003.

YUE, H.; GUO, P.; GUO, R. Phase Behavior and Structure Properties of Sodium Dodecyl Sulfate (SDS)/Brij 30/Water system. **J. Chem. Eng. Data**. v. 54, p. 2923 – 2929, 2009.

ZAMAN, M. A.; MARTIN, G. P.; REES G. D. Mucoadhesion, hydration and rheological properties of non-aqueous delivery systems (NADS) for the oral cavity. **Journal of Dentistry**. v. 36, p. 351–359, 2008.

ZHENG, M. Study on the microstructure and rheological property of fish oil lyotropic liquid crystal. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**. v. 385, p. 47–54, 2011.