

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Desenvolvimento de sistemas semi-sólidos mucoadesivos para liberação de anestésico e aplicação de iontoforese na cavidade bucal

Camila Cubayachi

Ribeirão Preto  
2014

## RESUMO

CUBAYACHI, C. **Desenvolvimento de sistemas semi-sólidos mucoadesivos para liberação de anestésico e aplicação de iontoforese na cavidade bucal.** 2014. 90f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

A anestesia local da cavidade bucal é uma etapa fundamental na maioria dos procedimentos odontológicos. A administração não-invasiva efetiva de anestésicos locais na cavidade bucal visando substituir as doloridas injeções, possibilitaria o aprimoramento de procedimentos rotineiros e cirúrgicos. No entanto, a anestesia profunda e pelo tempo adequado de regiões estratégicas da mucosa bucal requer a penetração do anestésico em quantidades efetivas. A combinação dos cloridratos de lidocaína (LCL) e prilocaína (PCL) é uma estratégia interessante do ponto de vista farmacocinético, visto que a lidocaína inicia sua ação mais rapidamente, porém a prilocaína apresenta uma potência maior. A velocidade de liberação e permeação dos fármacos pode ser aumentada e modulada através da aplicação da iontoforese. O objetivo deste trabalho foi avaliar *in vitro* a influência da iontoforese na permeação de PCL e LCL através de mucosa esofageal suína a partir de uma formulação semi-sólida mucoadesiva. Para tanto, um hidrogel à base de hidroxipropilmetilcelulose foi desenvolvido e o efeito do pH (5,8 e 7,0) avaliado em função da iontoforese (1 mA/cm<sup>2</sup> por 60 minutos). Um método analítico de cromatografia líquida de alta eficiência foi validado para quantificação simultânea dos fármacos, apresentando satisfatória seletividade, linearidade no intervalo de 0,25 a 10 µg/mL, sensibilidade, precisão, exatidão e robustez. A recuperação dos fármacos a partir da mucosa esofageal suína forneceu níveis adequados conforme preconizado pela literatura. A formulação desenvolvida apresentou uniformidade de conteúdo e propriedades mecânicas e mucoadesivas adequadas para a aplicação bucal. A combinação dos fármacos na formulação não ocasionou a formação de uma mistura eutética, porém promoveu mudanças nos coeficientes de distribuição mucosa/formulação do PCL, tendo maior caráter hidrofílico em pH 7,0 e maior caráter hidrofóbico em pH 5,8. Nos estudos de permeação *in vitro* através de mucosa esofageal suína, a iontoforese a partir da formulação pH 7,0 foi capaz de aumentar as quantidades de PCL permeada e recuperada da mucosa quando isolada e combinada na formulação. Porém, as quantidades de LCL foram aumentadas por iontoforese apenas na mucosa quando combinada ao PCL. A iontoforese a partir da formulação contendo os fármacos isolados em pH 5,8, com o intuito de promover maior ionização dos fármacos, aumentou o fluxo do PCL e do LCL. No entanto, o fluxo passivo foi menor em pH 5,8 e o maior aumento de fluxo proporcionado pela iontoforese neste pH não acarretou em maiores quantidades de fármaco permeadas. O pré-tratamento da mucosa com LCL aumentou ligeiramente o fluxo passivo do PCL, porém quando a iontoforese foi aplicada, tanto o fluxo quanto o acúmulo do PCL na mucosa diminuíram após o pré-tratamento. Assim, para a anestesia não invasiva em procedimentos odontológicos, é recomendável aplicar a iontoforese diretamente na formulação que contém a combinação de PCL e LCL, em pH 7,0. Desta forma, alia-se início de ação mais rápido (LCL) e potência (PCL) e alcançam-se maiores quantidades permeadas e retidas na mucosa para ambos os fármacos.

Palavras-chave: Anestesia, bucal, iontoforese, mucoadesão, lidocaína, prilocaína.

## 1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de anestésicos locais, injetáveis, eficientes e seguros pode ser considerado como um dos principais avanços da área odontológica no século XX (MOORE & HERSH, 2010), possibilitando a realização e aprimoramento de procedimentos rotineiros e cirúrgicos, ampliando o acesso ao tratamento dental a milhares de pacientes. Entretanto, o uso do anestésico injetável representa uma das principais fontes de temor e até de fobia por parte significativa de pacientes (CLARK & YAGIELA, 2010), fazendo com que a visita ao consultório seja muitas vezes postergada e até evitada (SMITH & HEATOM, 2003; SOKOLOWSKI *et al.*, 2010; MCGRATH & BEDI, 2004). Avaliar o impacto deste inconveniente na saúde bucal é difícil por ser subjetivo (ARMPFIELD, 2011; EITNER *et al.*, 2006; AGDAL *et al.*, 2008; GARCHA *et al.*, 2010; POHJOLA *et al.*, 2009), porém, é estimado que aproximadamente 36% da população sofra de algum tipo de ansiedade relativa à execução de tratamentos dentais, enquanto 12% tem medo extremo de procedimentos odontológicos, refletindo de modo negativo na saúde bucal e qualidade de vida (HILL *et al.*, 2013).

Várias estratégias tem sido utilizadas para minimizar o desconforto do paciente. Dentre elas, pode-se citar a utilização de procedimentos drásticos como a sedação e indução de anestesia geral (AMERICAN DENTAL ASSOCIATION, 2007; HIGGINS, 2006), mas também práticas menos invasivas como uso de equipamentos que substituem a agulha para realização da anestesia (*needle-free*) e a utilização de formulações anestésicas tópicas. A grande maioria das formulações farmacêuticas, administradas de forma não-invasiva, contendo anestésicos para uso tópico odontológico consiste em pomadas, géis ou *sprays*. Essas formulações são utilizadas *a priori* para minimizar o desconforto do paciente que será posteriormente submetido à injeção do anestésico local ou para realização de alguns procedimentos específicos e menos invasivos, sendo mais comumente utilizados os géis contendo benzocaína a 20%.

No tocante ao estudo de novas formulações, a maioria deles visa prolongar o efeito anestésico e minimizar o risco de efeitos tóxicos sistêmicos durante o tratamento da dor aguda e crônica, especialmente em condições pós-operatórias. Nesses casos, a principal estratégia é a encapsulação do fármaco em lipossomas ou em partículas poliméricas (micro/nano), veiculadas na forma injetável (DE MELO *et al.*, 2011; MORAES *et al.*, 2009; CEREDA *et al.*, 2006; ARAÚJO *et al.*, 2003). Dessa

forma, o conhecimento obtido com o desenvolvimento desses sistemas pouco contribui para o aprimoramento de formulações tópicas de liberação imediata para aplicação não-invasiva na mucosa bucal.

A literatura relativa ao desenvolvimento de sistemas que possibilitem um efeito anestésico mais profundo a partir de formulação de uso tópico que viabilize a substituição do injetável é escassa. Em 1996, o FDA aprovou um sistema mais elaborado (*patch*; Dentipatch<sup>®</sup> – Noven Pharmaceuticals), preparado a partir de polímeros formadores de hidrogéis. Uma das faces do *patch* é protegida com revestimento hidrofóbico, enquanto a não revestida, em contato com a mucosa, hidrata, intumescce e libera o fármaco. O tempo de latência é de 05 minutos e a duração da ação 45 minutos (FERNANDEZ *et al.*, 2005). O contato íntimo com a mucosa possibilita maior retenção do fármaco no local de aplicação, penetração e duração do efeito, eliminando a possibilidade de diluição do produto pela saliva, como acontece com as formulações convencionais. É indicado em procedimentos superficiais (CARR & HORTON, 2002), em que o paciente apresenta elevado grau de ansiedade e sensibilidade à dor, ou em procedimentos que exigem múltiplas injeções de anestésico (DENTIPATCH<sup>®</sup>, 2011). Embora sustente a duração do efeito anestésico por maior período de tempo, não foram localizadas informações de aplicação em substituição à anestesia infiltrativa ou de bloqueio nervoso.

Duas outras formulações visando a minimização do uso de anestésico injetável estão sendo avaliadas em ensaios clínicos. Um *spray* nasal, contendo 3% de tetracaína e 0,05% de cloridrato de oximetazolina, vasoconstritor, finalizou recentemente os ensaios clínicos de Fase II (Empresa: St. Renatus, LLC). O sistema proporcionou um efeito comparável à injeção de lidocaína e a empresa pretende dar continuidade à avaliação clínica (CLINICAL TRIAL DATABASE, 2011). Este é o único produto que tem como proposta a substituição do uso da injeção do anestésico que já concluiu com sucesso as fases iniciais de ensaios clínicos, tendo sido idealizado para a realização de procedimentos na arcada dentária superior.

Um gel contendo ropivacaína a 1 e 2% encapsulada em lipossomas finalizou ensaios de Fase I, tendo sido avaliado quanto ao efeito anestésico pulpar e na diminuição da dor em ensaios de simulação de injeção (CLINICAL TRIAL DATABASE, 2011). Um artigo de divulgação científica, publicado pelas mesmas instituições que conduziram o ensaio clínico, relata que o efeito da formulação de ropivacaína a 1% sobre a resposta pulpar, duração da anestesia e a dor durante a

inserção de agulha foi equivalente à formulação padrão (EMLA<sup>®</sup>). No entanto, em nenhuma delas foi possível obter efeito pulpar (estudo conduzido pela Faculdade de Odontologia de Piracicaba-SP) (FRANZ-MONTAN *et al.*, 2007).

Dessa forma, tanto o trabalho com formulações para uso tópico que possibilitem um efeito mais preciso para procedimentos superficiais (a exemplo do sistema *patch* contendo lidocaína a 20%), como formulações de aplicação não-invasiva que possibilitem um efeito anestésico mais profundo trariam ganhos significativos para a odontologia.

O desenvolvimento de dispositivo para liberação tópica de anestésico local que possibilite a substituição da anestesia local injetável, especialmente para uso odontológico é desejável, porém não é tarefa fácil, pois deve contemplar vários requisitos e para tanto deve combinar várias tecnologias farmacotécnicas. Entre outras, a) disponibilizar o fármaco rapidamente, assim como os sistemas *fast-dissolve*; b) manter o fármaco em íntimo contato com a mucosa em área restrita, assim como proporcionado pelos sistemas biomucoadesivos; c) direcionar a liberação visando à permeação do fármaco através da mucosa, como os transcutâneos; d) induzir o plano anestésico e mantê-lo por período de tempo adequado (aproximadamente 1 hora) e facilitar a remoção pós procedimento. Mas as maiores limitações da liberação local de fármacos na cavidade bucal são mesmo a baixa retenção da forma de dosagem no sítio de absorção e o baixo fluxo, reduzindo a biodisponibilidade. Essas limitações podem ser contornadas com a utilização de sistemas mucoadesivos e aplicação de iontoforese para melhorar a permeabilidade dos fármacos (SHOJAEI, 1998).

## 6. CONCLUSÃO

O método analítico proposto para quantificação do PCL e LCL por CLAE mostrou-se adequado, apresentando valores satisfatórios de seletividade, linearidade, sensibilidade, precisão, exatidão e robustez. Os parâmetros avaliados no teste de adequabilidade do sistema e a recuperação dos fármacos a partir da mucosa esofageal suína apresentaram resultados aceitáveis aos níveis recomendados pela literatura.

A formulação desenvolvida apresentou uniformidade de conteúdo e propriedades mecânicas e mucoadesivas adequadas para a aplicação bucal. Conforme verificado por estudos de DSC, a combinação dos fármacos não ocasionou a formação de uma mistura eutética.

O coeficiente de distribuição mucosa/formulação do PCL foi alterado pela combinação com LCL. Em pH 7,0, houve aumento de seu caráter hidrofílico, com maior distribuição na formulação; em pH 5,8, o PCL se distribuiu mais na mucosa, tendo seu caráter hidrofóbico aumentado.

Com relação aos estudos de permeação *in vitro* através de mucosa esofageal suína, a iontoforese a partir da formulação pH 7,0 foi capaz de aumentar cerca de 4,5 vezes a quantidade de PCL permeada e 2 vezes a quantidade de PCL recuperada da mucosa quando isolada. Quando combinado, o PCL permeado foi 12 vezes maior e o recuperado da mucosa 10 vezes maior. A iontoforese aumentou apenas o LCL recuperado da mucosa quando associado, cerca de 2 vezes.

A aplicação da iontoforese a partir da formulação contendo os fármacos isolados em pH 5,8 (com o intuito de promover maior ionização dos fármacos), aumentou cerca de 9 e 4 vezes o fluxo do PCL e do LCL. No entanto, o fluxo passivo foi menor em pH 5,8 e o maior aumento de fluxo proporcionado pela iontoforese neste pH não acarretou em maiores quantidades permeadas. Para os fármacos combinados, a iontoforese não aumentou significativamente seus fluxos em pH 5,8.

O pré-tratamento da mucosa com LCL aumentou ligeiramente o fluxo passivo da PCL. No entanto, quando a iontoforese foi aplicada, tanto o fluxo quanto o acúmulo da PCL na mucosa diminuíram após o pré-tratamento.

Assim, a combinação de PCL e LCL em pH 7,0 em uma mesma formulação associada a iontoforese parece ser uma alternativa promissora para a anestesia não invasiva em procedimentos odontológicos, pois além de aliar início de ação mais rápido (LCL) e potência (PCL), resultou em maiores quantidades permeadas e

retidas na mucosa dos fármacos quando comparada ao dispositivo comercial utilizado para anestesia tópica.

## 7. REFERÊNCIAS

- AGDAL, M.L.; RAADAL, M.; SKARET, E.; KVALE, G. Oral health and oral treatment needs in patients fulfilling the DSM-IV criteria for dental phobia: Possible influence on the outcome of cognitive behavioral therapy. *Acta Odontologica Scandinavica*, v.66, p.1-6, 2008.
- AGUIAR, F. A.; GAITANI, C. M.; BORGES, K. B. Capillary electrophoresis method for the determination of isradipine enantiomers: Stability studies and pharmaceutical formulation analysis. *Electrophoresis* v. 32, p. 2673–2682, 2011.
- AL-MELH, M.A.; ANDERSSON, L. Comparison of topical anesthetics (EMLA/ Oraqix vs. benzocaine) on pain experienced during palatal needle injection. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*. v. 103, p.16-20, 2007.
- AMASYA, G.; KARAVANA, S. Y.; SÖREN, T.; BALOGÖLU, E.; TARIMCI, N. Bioadhesive and mechanical properties of triamcinolone acetonide buccal gels. *Turk J. Pharm. Sci.*; v.9, p.1-12, 2012.
- American Dental Association. *Guideline for the use of sedation and general anesthesia by dentists (2007)*. Disponível online em [http://ada.org/sections/about/pdfs/anesthesia\\_guidelines.pdf](http://ada.org/sections/about/pdfs/anesthesia_guidelines.pdf). Acesso em 13/06/2011.
- ARAÚJO, D.R.D.; PINTO, L.D.M.A.; BRAGA, A.D.F.D.A.; PAULA, E.D. Formulações anestésicas de liberação controlada: aplicações terapêuticas. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, v.53, p.663-671, 2003.
- ARMPFIELD, J.M. Australian population norms for the Index of Dental Anxiety and Fear. *Australian Dental Journal*, v.56, p.16-22, 2011.
- BANSAL ,K.; RAWAT, M.K.; JAIN, A.; RAJPUT, A.; CHATURVEDI, T.P.; SINGH, S. Development of Satranidazole Mucoadhesive Gel for the Treatment of Periodontitis. *AAPS PharmSciTech*, v.10, p.716-723, 2009.
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria. Editora da Unicamp, Campinas, SP, 2001.
- BATHEJA, P.; THAKUR, R.; MICHNIAK, B. Basic Biopharmaceutics of buccal and sublingual absorption (Chapter 9). In: Enhancement in Drug Delivery, TOUITOU, E; BARRY, B.W. (Ed.) CRC Press 2006.
- BHAL, S.K.; KASSAM, K.; PEIRSON, I.G.; PEARL, G.M. The Rule of Five Revisited: Applying Log D in Place of Log P in Drug-Likeness Filters. *Molecular Pharmaceutics* v.4, p.556-560, 2007.
- CANNON, J.B. Transmucosal and Ocular Drug Delivery (Chapter 7). In: Drug Delivery Systems, p.373–450, CRC Press 2011.

- CAON, T.; SIMÕES, C.M.O. Effect of freezing and type of mucosa on ex vivo drug permeability parameters. *AAPS PharmSciTech.* v.12, p.587–92, 2012.
- CARR, M.P.; HORTON, J.E. Evaluation of a transoral delivery system for topical anesthesia. *Journal of the American Dental Association*, v.132, p.1714-1719, 2002.
- CARVALHO, J.C.A. Farmacologia dos anestésicos locais. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, v.44, p.75-82, 1994.
- CATTERALL, W.A.; MACKIE, K. Local Anesthetics, In: Goodman & Gilman's, The pharmacological basis of therapeutics (Cap. 14). Ed. Guabanara Koogan, 2006.
- CEREDA, C.M.S.; BRUNETTO, G.B.; DE ARAÚJO, D.R.; DE PAULA, E. Liposomal formulations of prilocaine, lidocaine and mepivacaine prolong analgesic duration. *Canadian Journal of Anesthesia*, v.53, p.1092-1097, 2006.
- CHUNG, J.; KOH,S.; KIM, T.; SEOL, Y.; LEE, Y.; KU, Y.; RHYU, I.; CHUNG, C.; KOO, K. Effect of eutectic mixture of local anesthetics on pain perception during scaling by ultrasonic or hand instruments: a masked randomized controlled trial. *J Periodontol*, v.82, p.259-266, 2011.
- CIACH, T.; MOSCICKA-STUDZINSKA, M. Buccal iontophoresis: an opportunity for drug delivery and metabolite monitoring. *Drug Delivery Today*, v. 16, n.7/8, p.361-366, 2011.
- CLARK, T.M.; YAGIELA, J.A. Advanced Techniques and Armamentarium for Dental Local Anesthesia. *Dental Clinics of North America*, v.54, p.757-768, 2010.
- DEL CONSUELO, I.; JACQUES, Y.; PIZZOLATO, G.; GUY, R.H.; FALSON, F. Comparison of the lipid composition of porcine buccal and esophageal permeability barriers. *Archives of Oral Biology* v.50, p.981-987, 2005.
- DE MELO, N.F.S.; GRILLO, R.; GUILHERME, V.A.; DE ARAUJO, D.R.; DE PAULA, E.; ROSA, A.H.; FRACETO, L.F. Poly(Lactide-co-Glycolide) Nanocapsules Containing Benzocaine: Influence of the Composition of the Oily Nucleus on Physico-Chemical Properties and Anesthetic Activity. *Pharmaceutical Research*, p.1-11, 2011.
- Dentipatch - product information. *Daily med : current medication information*. Disponível online em: <http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/lookup.cfm?setid=1b5826d4-5177-42b9-8ac2-d35071b4bccb>. Acesso em 11/06/2011.
- DE PAULA, E.; SCHREIER, S. Use of a novel method for determination of partition coefficient to compare the effect of local anesthetics on membrane structure. *Biochim Biophys Acta* v.240, p. 25–33, 1995.
- EITNER, S.; WICHMANN, M.; PAULSEN, A.; HOLST, S. Dental anxiety - An epidemiological study on its clinical correlation and effects on oral health. *Journal of Oral Rehabilitation*, v.33, p.588-593, 2006.

EMLA<sup>®</sup> clinicals trials. *Clinical Trial Database*. Disponível online: <http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=EMLA>. Acesso em: 18/06/2011.

EMLA Creme. *Astrazeneca*. Disponível online: <http://www.saudedireta.com.br/catinc/drugs/bulas/emlacreme.pdf>. Acesso em: 18/06/2011.

FDA Reviewer Guidance, Validation of Chromatographic Methods, Center for Drug Evaluation and Research, US Food and Drug Administration, 1994.

FERNANDEZ, G.; MANTELLE, J.; LUCKING, D.; KANIOS, D. *Oral Transmucosal Systems for Local Anesthetics*, in *Drug Delivery to the Oral Cavity*. Informa Healthcare. p. 233-259, 2005.

FERREIRA, S.L.; BRUNS, R.E.; DA SILVA, E.G.; DOS SANTOS, W.N.; QUINTELLA, C.M.; DAVID, J.M.; DE ANDRADE, J.B.; BREITKREITZ, M.C.; JARDIM, I.C.; NETO, B.B. Statistical designs and response surface techniques for the optimization of chromatographic systems, v.1158, p.2-14, 2007.

FINI, A.; BERGAMANTE, V.; CESCHEL, G.C. Mucoadhesive Gels Designed for the Controlled Release of Chlorhexidine in the Oral Cavity. *Pharmaceutics*, v.3, p.665-679, 2011.

FRANZ-MONTAN, M.; SILVA, A.L.R.; COGO, K.; BERGAMASCHI, C.D.C.; VOLPATO, M.C.; RANALI, J.; DE PAULA, E.; GROPPPO, F.C. Liposome-encapsulated ropivacaine for topical anesthesia of human oral mucosa. *Anesthesia and Analgesia*, v.104, p.1528-1531, 2007.

FRIEDMAN, P.M.; MAFONG, E.A.; FRIEDMAN, E.S.; GERONEMUS, R.G. Topical anesthetics update: Emla and beyond. *Dermatol Surg* v.27, p.1019-1025, 2001.

FRISKOPP, J.; ISACSSON, N.M. The anesthetic onset and duration of a new lidocaine/prilocaine gel intra-pocket anesthetic (Oraqix) for periodontal scaling/ root planing. *J Clin Periodontol* v. 28 p. 453-458, 2001.

GANGAROSA, L. P.; HILL, J. M. Modern iontophoresis for local drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics* v.123, p.159-171, 1995.

GAJRAJ, N.M.; PENNANT, J.H.; FRCA, WATCH, M.F. Eutetic Mixture of Local Anesthetics (EMLA) Cream. *Anesth Analg*, v. 78, p. 574-583, 1994.

GARCHA, V.; SHETIYA, S.H.; KAKODKAR, P. Barriers to oral health care amongst different social classes in India. *Community Dental Health*, v.27, p.158-162, 2010.

GRATIERI, T.; GELFUSO, G.; LOPEZ, R.F.V. Princípios básicos e aplicação da iontoforese na penetração cutânea de fármacos. *Quim Nova*, v.31, n.6, p.1490-1498, 2008.

GRATIERI, T.; GELFUSO, G.M.; ROCHA, E.M.; SARMENTO, V.H.; FREITAS, O.; LOPES, R.V. A poloxamer/chitosan in situ forming gel with prolonged retention time for ocular delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 75, p. 186-193, 2010.

GRATIERI, T. Sistemas de liberação ocular contendo fluconazol: obtenção, caracterização e liberação passiva e iontoforética in vitro e in vivo. Tese de doutorado, Ribeirão Preto, 2010.

GIANNOLA, L. I.; DE CARO, V.; GIANDALIA, G.; SIRAGUSA, M. G.; CAMPISI, G.; FLORENA, A. D.; CIACH, T. Diffusion of naltrexone across reconstituted human oral epithelium and histomorphological features. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 65, p.238–246, 2007.

HIBBERT, D. B. Experimental design in chromatography: A tutorial review. *Journal of Chromatography B*, v.910, p.2–13, 2012.

HIGGINS, M. Dental anesthesiology - An access to care issue. *Alpha Omegan*, v.99, p.56-63, 2006.

HILL, K.B., CHADWICK, B., FREEMAN, R. Adult Dental Health Survey 2009: relationships between dental attendance patterns, oral health behaviours and the current barriers to dental care. *Br Dent J*, v.214, p.25-32, 2013.

HU, L.; SILVA, S.M.C.; DAMAJ, B.B.; MARTIN, R.; MICHNIAK-KOHN, B.B. Transdermal and transbuccal drug delivery systems: Enhancement using iontophoretic and chemical approaches. *International Journal of Pharmaceutics*, v.421, p.53-62, 2011.

HUND, E.; VANDER, H.Y.; HAUSTEIN, M.; MASSART, D.L.; SMEYERS-VERBEKE, J. Robustness testing of a reversed-phase high-performance liquid chromatographic assay: comparison of fractional and asymmetrical factorial designs. *Journal of Chromatography A*, v.874, p.167–185, 2000.

International Conference on Harmonization (ICH). Guidance for industry Q2B: Validation of Analytical Procedures. Methodology. 1996.

JEPSON, G.W.; HOOVER, D.K.; BLACK, R.K.; MCCAFFERTY, J.D.; MAHLE, D.A.; GEARHART, J.M. A partition coefficient determination method for nonvolatile chemicals in biological tissues. *Fundamental and applied toxicology*, v.22, p.519-524, 1994.

JONES, D.S.; WOOLFSON, A.D.; DJONIC, J. Texture profile analysis of bioadhesive polymeric semisolids: mechanical characterization and investigation of interactions between formulation component. *J Appl Polymer Sci*, v.61, p.2229 – 2234, 1996.

JONES, D.S.; WOOLFSON, A.D.; BROWN, A.F. Textural analysis and flow rheometry of novel, bioadhesive antimicrobial oral gels. *Pharmaceutical Research*, v.14, p.450-457, 1997.

JONES, D.S.; IRWIN, C.R.; WOOLFSON, A.D.; DJOKIC, J.; ADAMS, V. Physicochemical characterization and preliminary in vivo efficacy of bioadhesive semisolid formulations containing flurbiprofen for the treatment of gingivitis, *J Pharm Sci* v.88, p.592–598, 1999.

JUNIOR, E.R.; BENTLEY, M.V.L.B.; MARCHETTI, J.M. HPLC assay of lidocaine in in vitro dissolution test of the Poloxamer 407 gels. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. v. 38, 2002.

KAH, M.; BROWN, C. D. LogD: Lipophilicity for ionisable compounds. *Chemosphere* v. 72, p.1401–1408, 2008.

KARAVANA, S.Y.; GÜNERI, P.; ERTAN, G. Benzydamine hydrochloride buccal bioadhesive gels designed for oral ulcers: Preparation, rheological, textural, mucoadhesive and release properties. *Pharmaceutical Development and Technology*, v.14, p.623–631, 2009.

KELLEY, I.W.; WARREN, S.J. Mucoadhesive Hydrogels for Buccal Delivery (Cap. 10). In: *Oral Mucosal Drug Delivery*, RATHBONE, M.J. (Ed.), Marcel Dekker Inc, 1996.

KHUTORANSKIY, V.V. Advances in Mucoadhesion and Mucoadhesive Polymers. *Macromolecular Bioscience*, v.11, p.748–764, 2011.

KOKATE, A.; LI, X.; JASTI, B. HPLC detection of marker compounds during buccal permeation enhancement studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* v.47, p.190–194, 2008.

KOKATE, A.; LI, X.; WILLIAMS, P. J.; SINGH, P.; JASTI, B. R. In Silico Prediction of Drug Permeability Across Buccal Mucosa. *Pharmaceutical Research*, V. 26, p. 1130-1139, 2009.

Kovacaine Nasal mist - Company announcement. *St. Renatus Website*. Disponível online em: <http://www.st-renatus.com/>. Acesso em 18/06/2011.

KULKARNI, U.; MAHALINGAM, R.; PATHER, I.; LI, X.; JASTI, B. Porcine Buccal Mucosa as *In Vitro* Model: Effect of Biological and Experimental Variables. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.99, p.1265-1277, 2010.

LAGAN, G.; MCLURE, H.A. Review of local anaesthetic agents. *Current Anaesthesia & Critical Care*, v.15, p.247–254, 2004.

LAI, P.M.; ROBERTS, M.S. Epidermal Iontophoresis: II. Application of the Ionic Mobility - Pore Model to the Transport of Local Anesthetics. *Pharmaceutical Research*, v.15, 1998.

LOPEZ, R.F.; COLLETT, J.H.; BENTLEY, M.V. Influence of cyclodextrin complexation on the in vitro permeation and skin metabolism of dexamethasone. *Int J Pharm.* v.200, p.127-132, 2000.

LOPEZ, R.F.V., BENTLEY, M.V.L.B., DELGADO-CHARRO, M.B., SALOMON, D., VAN DEN BERGH, H., LANGE, N., GUY, R.H. Enhanced delivery of 5-aminolevulinic acid esters by iontophoresis *in vitro*. *Photochem. Photobiol.*, v.77, p.304-308, 2003-B.

- MANOHAR, S.D.; SRIDHAR, D.A.; MALLIKARJUNA, S.C. Drug Delivery from the Oral Cavity: a focus on mucoadhesive buccal drug delivery systems. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, v.66, p.466-500, 2012.
- MASHRU, R.C; SUTARIYA, V.B.; SANKALIA, M.G.; PARIKH, P.P. Development and Evaluation of Fast-Dissolving Film of Salbutamol Sulphate. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v.31, p.25–34, 2005.
- MCGRATH, C.; BEDI, R. The association between dental anxiety and oral health-related quality of life in Britain. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, v.32, p.67-72, 2004.
- MOHAMMAD, M.A. LC Determination of Lidocaine and Prilocaine Containing Potential Risky Impurities and Application to Pharmaceuticals. *Chromatographia*, v.70, p.563-568, 2009.
- MOORE, P.A.; HERSH, E.V. Local Anesthetics: Pharmacology and Toxicity. *Dental Clinics of North America*, v.54, p.587-599, 2010.
- MORAES, C.M.; DE MATOS, A.P.; DE PAULA, E.; ROSA, A.H.; FRACETO, L.F. Benzocaine loaded biodegradable poly-(d,l-lactide-co-glycolide) nanocapsules: factorial design and characterization. *Materials Science and Engineering: B*, v.165, p.243-246, 2009.
- MOSCICKA-STUDZINSKA, A.E.; KIJÉŃSKA, E.; CIACH, T. Electroosmotic flow as a result of buccal iontophoresis – Buccal mucosa properties. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.72, p.595-599, 2009.
- MORTAZAVI, S.A.; SMART, J.D. An in-vitro method for assessing the duration of mucoadhesion. *Journal of Controlled Release* v.31, p.207-212, 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.
- NICOLAZZO, J.A.; REED, B.L.; FINNIN, B.C. Buccal penetration enhancers—How do they really work? *Journal of Controlled Release*, v.105, p.1–15, 2005.
- NUNES, K.M. Desenvolvimento de sistemas precursores de fase cristalina para administração intrabolsa periodontal. Tese de Doutorado, Ribeirão Preto, 2012.
- PADERNI, C.; COMPILATO, D.; GIANNOLA, L.I.; CAMPISI, G. Oral local drug delivery and new perspectives in oral drug formulation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, v. 114, p.25-34, 2012.
- PAIVA, L.C. A.; CAVALCANTI, A.L. Local anesthetics in dentistry: a literature review. *Publ. UEPG Ci. Biol. Saúde, Ponta Grossa*, v. 11, p. 35-42, 2005.
- PATEL, V.F.; LIU, F.; BROWN, M.B. Advances in oral transmucosal drug delivery. *Journal of Controlled Release*, v.153, p.106-116, 2011.

PHIPPS, J.B.; GYORY, J.R. Transdermal ion migration, *Adv. Drug Delivery Rev.*, v.9, p. 137 – 176, 1992.

PIMENTEL, M. F.; NETO, B. B. Calibração: Uma revisão para químicos analíticos. *Química Nova*, v.19, 1996.

POHJOLA, V.; LAHTI, S.; SUOMINEN-TAIPALE, L.; HAUSEN, H. Dental fear and subjective oral impacts among adults in Finland. *European Journal of Oral Sciences*, v.117, p.268-272, 2009.

POLAT, B.M.; FIGUEROA, P.L.; BLANKSCHTEIN, D.; LANGER, R. Transport Pathways and Enhancement Mechanisms Within Localized and Non-Localized Transport Regions in Skin Treated with Low-Frequency Sonophoresis and Sodium Lauryl Sulfate. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.100, 2011.

RANG, H.P.; DALE, M.M. Local anaesthetics and other drugs affecting sodium channels. In: Rang, H.P.; Dale, M.M., *Pharmacology (Cap.44)*, 6ª edição, p. 638–42, 2007.

RAO, K.V. R.; BURI, P. A novel in situ method to test polymers and coated microparticles for bioadhesion. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 52, p. 265–270, 1989.

REPKA, M.A; GUTTA, K.; PRODDUTURI, S.; MUNJAL, M.; STODGHILL, S.P. Characterization of cellulosic hot-melt extruded films containing lidocaine. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.59, p.189–196, 2005.

RIBEIRO, F.A.L.; FERREIRA, M.M.C.; MORANO, S.C.; DA SILVA, L.R.; SHNEIDER, R.P. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. *Quim. Nova*, v.31, p.164-171, 2008.

RICHARDSON, J.; ILLUM, L. Routes of delivery: case studies, the vaginal route of peptide and protein drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* v.8, p.341–366, 1992.

SACHDEVA, S.; GUPTA, R.; GUPTA, G. Iontophoresis and Dentistry. *JIDA*, v.5, p.46-48, 2011.

SALAMAT-MILLER, N.; CHITTCHANG, M.; JOHNSTON, T.P. The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* v.57, p.1666–1691, 2005.

SHOJAEI, A.H. Buccal mucosa as a route for systemic drug delivery: a review. *J Pharm Pharmaceut Sci* v.1, p.15-30, 1998.

SIMONETTI, D.D. Obtenção e caracterização de formulações contendo cisplatina para a quimioterapia tópica do câncer de pele: iontoforese versus promotor de absorção. Dissertação de Mestrado, Ribeirão Preto, 2004.

SISK, A.L. Long-Acting Local Anesthetics in Dentistry. *Anesth Prog* v.39, p.53-60, 1992.

- SMITH, T.A.; HEATOM, L.J. Fear of dental care: Are we making any progress? *Journal of the American Dental Association*, v.134, p.1101-1108, 2003.
- SMART, J.D. Drug delivery using buccal-adhesive systems. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, v.11, p.253-270, 1993.
- SMART, J.D. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. *Adv. Drug Deliv.* v.57, p.1556-1568, 2005.
- SOKOLOWSKI, C.J.; GIOVANNITTI, J.A.; BOYNES, S.G. Needle Phobia: Etiology, Adverse Consequences, and Patient Management. *Dental Clinics of North America*, v.54, p.731-744, 2010.
- SQUIER, C. A.; COX, P.; WERTZ, P. W. Lipid content and water permeability of skin and oral mucosa. *The Journal of Investigative Dermatology*. v.96, p.123-6, 1991.
- SROKA-MARKOVIC, J.; JOHANSSON L.; MAGNUS, B. O. A.; GRANELLI, I. Development of an HPLC Method for Determination of Related Impurities in Prilocaine Substance, *Chromatographia* v.75, p. 329-336, 2012.
- SUDHAKAR, Y.; KUOTSU, K.; BANDYOPADHYAY, A.K. Buccal bioadhesive drug delivery — A promising option for orally less efficient drugs. *Journal of Controlled Release* v.114, p.15-40, 2006.
- SURAPANENI, M.S.; DAS, S.K.; DAS, N.G. Effect of Excipient and Processing Variables on Adhesive Properties and Release Profile of Pentoxifylline From Mucoadhesive Tablets. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v.32, p.377-387, 2006.
- TAN, Y.T.F.; PEH, K.K.; AL-HANBALI, O. Effect of carbopol and polyvinylpyrrolidone on the mechanical, rheological and release properties of bioadhesive polyethylene glycol gels. *AAPS Pharm Sci Tech* v.1, p.1-10, 2000.
- TAVEIRA, S.F. Desenvolvimento de formulações iontoforéticas semi-sólidas para o tratamento de tumores cutâneos: estudo in vitro em cultura de células tumorais. Dissertação de Mestrado, Ribeirão Preto, 2007.
- U.S. Pharmacopeial Convention. Medicines Compendium. Disponível online em: <https://mc.usp.org/homepage?destination=homepage>. Acesso em 12/01/2014.
- USP XXX. United States Pharmacopeia, 30 ed., United States Pharmacopeial Convention: Rockville, MD, 2007.
- VICKERS, E.R.; PUNNIA-MOORTHY, A. Pulpal anesthesia from an application of a eutectic topical anesthetic. *Quintessence International*, v.24, p.547-551, 1993.
- VICKERS, E.R.; MARZBANI, N.; GERZINA, T.M.; MCLEAN, C.; PUNNIA-MOORTHY, A.; MATHER, L. Pharmacokinetics of EMLA Cream 5% application to oral mucosa. *Anesth Prog* v.44, p.32-37, 1997.

WEI, R.; SIMON, L.; HU, L.; MICHNIAK-KOHN, B. Effects of Iontophoresis and Chemical Enhancers on the Transport of Lidocaine and Nicotine Across the Oral Mucosa. *Pharmacy Research*, v.4, p. 961-71, 2011.

WELIN-BERGER, K.; NEELISSEN, J.A.M.; ENGBLOM, J. Physicochemical interaction of local anesthetics with lipid model systems - correlation with in vitro permeation and in vivo efficacy. *Journal of controlled release*, v.81, p.33-43, 2002.

WILSON, C.G; WASHINGTON, N.; WASHINGTON, C. Physiological Pharmaceutics Barriers to Drug Absorption (Cap 3). p.37-58. In: *Drug Delivery to Oral Cavity or Mouth*, *Informa Healthcare*, 2001.