

Universidade São Francisco

JULIANA ZAMPOLI BOAVA PAPINI

**EFETIVIDADE E DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA
DE FORMULAÇÕES TÓPICAS A BASE DE LIDOCAÍNA E PRILOCAÍNA
EM MUCOSA ORAL**

Bragança Paulista

2013

JULIANA ZAMPOLI BOAVA PAPINI

**EFETIVIDADE E DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO
PLASMÁTICA DE FORMULAÇÕES TÓPICAS A BASE DE
LIDOCAÍNA E PRILOCAÍNA EM MUCOSA ORAL**

ORIENTADORA: Prof^a. Dra. GIOVANA TÓFOLI

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação *Stricto Senso* em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco para obtenção de título de Mestre em Ciências da Saúde.

Bragança Paulista

2013

QV 40 Papini, Juliana Zampoli Boava.
P234e Efetividade e determinação da concentração
plasmática
de formulações tópicas a base de lidocaína e prilocaína
em mucosa oral / Juliana Zampoli Boava Papini. --
Bragança Paulista, 2013.
xi, 47 p.

Ficha catalográfica elaborada pelas bibliotecárias do Setor de
Processamento Técnico da Universidade São Francisco.

PAPINI Z. B.,Juliana, “Efetividade e determinação da concentração plasmática de formulações tópicas a base de lidocaína e prilocaína em mucosa oral”. Dissertação defendida e aprovada no programa de Pós Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco em vinte seis Fevereiro de dois mil e treze pela Banca examinadora constituída pelos professores:



Profa. Dra. Giovana Tofoli
Universidade São Francisco



Prof. Dr. Mário Angelo Claudino
Universidade São Francisco



Profa. Dra. Michelle Franz Montan Braga Leite
Universidade Estadual de Campinas

AGRADECIMENTOS

Apresento agora de forma carinhosa meus agradecimentos aos que contribuíram para o desenvolvimento deste estudo.

Quero agradecer em primeiro lugar aos meus pais e aos meus irmãos, por todo o carinho e apoio.

Sintetizo um agradecimento especial a todos os meus companheiros de laboratório que participaram da minha vida durante esses anos, proporcionando e ao mesmo tempo dividindo momentos de alegrias, tristezas, experiências e conquistas.

Enfatizo um agradecimento especial a minha professora orientadora Giovana R. Tófoli que demonstrou muita paciência e compreensão, auxiliando-me na elaboração e no desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço aos apoios financeiros CAPES e FAPESP, e a Universidade São Francisco pelo espaço e equipamentos utilizados.

Agradeço aos colegas e voluntários que participaram deste estudo.

Agradeço também aos professores Mario, Michelle, Silvana, Alessandra e Cintia, por participarem da finalização do respectivo estudo.

RESUMO

Os anestésicos tópicos têm sido utilizados na mucosa oral para obtenção de anestesia tópica na Odontologia. No entanto, não há concordância em relação à superioridade dos agentes utilizados após a aplicação na mucosa oral mesmo quando comparados com placebo. Assim, os objetivos deste estudo foram: 1) avaliar a eficácia da anestesia tópica de novas formulações de bioadesivos de lidocaína e prilocaína na mucosa oral e compará-las com a preparação comercial de EMLA®; e 2) determinar os níveis plasmáticos obtidos, após a aplicação tópica destas formulações. Para isso 30 voluntários saudáveis receberam anestesia tópica na região do canino superior direito aplicadas durante 10 minutos em quatro sessões distintas, com as seguintes formulações: mistura eutética de anestésicos local contendo lidocaína e prilocaína á 2,5% em duas dosagens distintas (EMLA®-60 mg e EMLA®-10 mg), mistura de anestésicos contendo lidocaína e prilocaína á 2,5% em bioadesivos (Bioadesivos 2,5%) e mistura de lidocaína e prilocaína á 1,25% em bioadesivos (Bioadesivos 1,25%). Após 15 minutos da aplicação uma agulha gengival foi introduzida na região até o contato com o periósteo e a percepção dolorosa foi medida através da Escala Analógica Visual (EAV). Os parâmetros de alteração limiar basal (LB) e presença de anestesia pulpar (AP) foram avaliados com aplicação de estímulos elétricos no canino superior direito. O tempo de anestesia dos tecidos moles (TM) foi avaliado com palito de ponta romba. Os dados obtidos de AP, TM e EAV foram analisados pelos testes de Friedman ($p < 0,05$). Os dados de LB foram analisados pelo teste de Tukey-Kramer. As concentrações plasmática de lidocaína e prilocaína foram obtidas após a aplicação das formulações em 15 dos voluntários. A quantificação das drogas no soro foi realizada através de espectrometria de massas (CLAE-EM-EM), no tempo 0 (pré-dose) após 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300 e 360 minutos. Para a análise estatística das concentrações plasmáticas foi utilizado o teste Kruskal-Wallis. Diante dos resultados foi observado que as formulações EMLA® 60mg, EMLA®10mg, Bioadesivo 1,25% e Bioadesivos 2,5% foram capazes de promover AP. A formulação do Bioadesivo 2,5% mostrou-se similar a formulação comercial EMLA 10 mg no tempo de anestesia de tecidos moles ($p > 0,05$). Em relação aos dados obtidos com EAV, as duas formulações em creme apresentaram menor sensibilidade dolorosa à punção anestésica ($p < 0,05$). As concentrações plasmáticas de lidocaína e prilocaína obtidas após a administração na mucosa oral dos Bioadesivo 1,25% e Bioadesivo 2,5% não apresentaram diferenças significativas entre si ($p > 0,05$). Os dois sistemas de bioadesivos apresentaram menores concentrações plasmáticas de lidocaína e prilocaína quando comparados com as formulações em creme ($p < 0,05$). Diante dos resultados obtidos podemos concluir que a formulação Bioadesivos 2,5% foi capaz de promover anestesia de tecidos moles equivalente ao EMLA, quando utilizado em duas dosagens distintas (10 e 60 mg). Além disso, esta formulação apresentou baixas concentrações plasmáticas evidenciando a lenta absorção sistêmica.

Palavras-Chave: Lidocaína, Prilocaína, Bioadesivos, Anestesia tópica.

ABSTRACT

Topical anesthetics have been used in oral mucosa for obtaining topical anesthesia in dentistry. However, there is no agreement regarding the superiority of the local anesthetic formulations. Thus, the purposes of this study were to: 1) evaluate the effectiveness of topical anesthesia of new bioadhesive formulations of lidocaine and prilocaine in the oral mucosa and compare them with the commercial preparation of the same local anesthetics (EMLA®), and 2) determine plasma levels of lidocaine and prilocaine obtained after the topical application of these formulations. Thirty healthy volunteers received topical anesthesia, applied for 10 minutes, in the upper right canine region in four different sessions with the following formulations: eutectic mixture of local anesthetic containing 2.5% lidocaine and 2.5% prilocaine in two different dosages (EMLA®-60 mg and EMLA®-10 mg), mixture of anesthetics containing 2.5% lidocaine and 2.5 % prilocaine in bioadhesive (Bioadhesive 2.5%) and mixture of 1.25% lidocaine and 1.25% prilocaine in bioadhesive (Bioadhesive 1.25 %). After 15 minutes of topical application a needle was inserted into the gingival region and pain perception was measured using the Visual Analogue Scale (VAS). The parameters basal threshold (BT) and presence of pulpal anesthesia (PA) were evaluated by an electrical pulp tester in the upper right canine. The duration of soft tissue anesthesia (ST) was evaluated with a blunt toothpick in the same region. PA, ST and VAS data were submitted to statistical analysis with Friedman test ($p < 0.05$). The BT data were analyzed with Tukey-Kramer test ($p < 0.05$). Plasma concentrations of lidocaine and prilocaine were obtained with a mass spectrometer (LC/MS-MS). Blood samples of 15 volunteers were collected via a heparinised cannula pre dose (0 min) and at 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300 and 360 minutes after the topical application of the formulations. Data were submitted to statistical analysis with Kruskal-Wallis test ($p < 0.05$). None of the formulations were able to promote PA. The bioadhesive 2.5% was similar to EMLA® 10 and 60 mg regarding ST duration ($p > 0.05$). VAS data revealed that EMLA® in both dosages promoted less painful sensitivity to the anesthesia puncture when compared to the bioadhesives formulations ($p < 0.05$). Bioadhesive 1.25% and 2.5% produced similar plasma concentrations of lidocaine and prilocaine ($p > 0.05$) at all periods of time. Both bioadhesives systems showed lower plasma concentrations of lidocaine and prilocaine when compared to EMLA® ($p < 0.05$). Based on these results, we concluded that bioadhesive 2.5% formulation was able to promote soft tissue anesthesia equivalent to EMLA when used at two distinct doses (10 and 60 mg). Furthermore, these formulations presented low plasma concentrations and low systemic absorption

Key-word: Lidocaine, Prilocaine, Bioadhesives, Topical anesthesia.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ácido Paraminobenzóico	PABA
Álcool Polivínico	PVA
Análise de variância	ANOVA
Anestesia pulpar	AP
Anestésico local	AL
Área sob a curva	ASC
Concentração plasmática máxima	Cmax
Lidocaína	LDC
Limite de Quantificação	LQ
Linear basal	LB
Eutectic Mixture of Local Anesthetics	EMLA®
Monitoramento de Reações Múltiplas	MRM
Padrão interno	PI
Prilocaina	PLC
Pulp Tester elétrico	PTE
Ropivacaína	RVC
Sistema Nervoso Central	SNC
Tecidos moles	TM
Tempo de meia vida	T_{1/2}
Tempo para obtenção da concentração máxima	Tmax

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação dos anestésicos locais de acordo com a estrutura química.....	3
Tabela 2: Mostra estudos que avaliaram a eficácia de EMLA® e de outras formulações para anestesia tópica em Odontologia após a aplicação intra-oral desta formulação.....	8
Tabela 3: Critérios de inclusão e exclusão dos voluntários.....	15
Tabela 4: Mediana (mínimo-máximo) de TL, AP e TM obtidos após a injeção das quatro formulações.....	23
Tabela 5: Mediana (min-max) dos valores da EAV.....	23
Tabela 6: Curva de calibração (linearidade) – lidocaína e prilocaína.....	31
Tabela 7: Concentração (média \pm desvio padrão) de lidocaína (ng/mL), após a administração das diferentes formulações.....	34
Tabela 8: Concentração (média \pm desvio padrão) de prilocaína (ng/mL), após a administração das diferentes formulações.....	35
Tabela 9: Parâmetros farmacocinéticos da lidocaína e prilocaína após a aplicação tópica na mucosa oral das formulações EMLA® 60mg e EMLA® 10mg lidocaína.....	37

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Média e desvio padrão dos valores de limiar basal (LB) obtidos com o PTE a cada 2 min depois da aplicação das formulações (tempo zero representa o valor obtido como limiar basal inicial).....	21
Figura 2: Medianas dos tempos de anestesia de tecidos moles obtidos após a aplicação tópica das formulações avaliadas. A linha central representa a mediana, a caixa representa o primeiro e terceiro quartis e as suíças representam os valores máximos e mínimos.....	22
Figura 3: (A) Espectro de massas na função EM e (B) Espectro de EM/EM para prilocaína.....	27
Figura 4: (A) Espectro de massas na função EM e (B) Espectro de EM/EM para lidocaína.....	28
Figura 5: (A) Espectro de massas na função MS e (B) Espectro de MS/MS para o PI.....	29
Figura 6: Curva da concentração plasmática de lidocaína média <i>versus</i> tempo após a administração de Mistura eutética EMLA®- 60 mg, Bioadesivo 1,25%, Bioadesivo 2,50% e Mistura eutética EMLA®- 10 mg das formulação com lidocaína (tempo zero representa o valor obtido antes da aplicação tópica na mucosa oral avaliando a curva de concentração plasmática da lidocaína).....	36
Figura 7: Curva da concentração plasmática de prilocaína média <i>versus</i> tempo após a administração de Mistura eutética EMLA®- 60 mg, Bioadesivo 1,25%, Bioadesivo 2,50% e Mistura eutética EMLA®- 10 mg das formulação com lidocaína (tempo zero representa o valor obtido antes da aplicação tópica na mucosa oral, avaliando a curva de concentração plasmática da prilocaína).....	36

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Anestésicos locais tópicos.....	4
1.2. Anestésicos tópicos em sistemas de adesivos.....	9
2. OBJETIVOS.....	12
3. MATERIAL E MÉTODO.....	13
3.1. Formulações tópicas de lidocaína e prilocaína.....	13
3.2. Seleção dos voluntários.....	13
3.3. Procedimento anestésico na mucosa oral.....	15
3.4. Análise da concentração plasmática dos anestésicos locais.....	17
3.5. Validação da metodologia.....	18
3.6. Análise Estatística.....	20
4. RESULTADO E DISCUSSÃO.....	21
4.1. Atividade anestésica.....	21
4.2. Validação da metodologia analítica.....	27
4.3. Determinação da concentração plasmática.....	32
5. CONCLUSÃO.....	39
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40
ANEXO I.....	47

1. INTRODUÇÃO

1.1 Anestésicos locais tópicos

A anestesia local é frequentemente utilizada na clínica odontológica, sendo um dos procedimentos mais temidos pelos pacientes, provavelmente devido a dor causada pela penetração da agulha na mucosa oral (Berde *et al.*, 2009).

A anestesia tópica é amplamente defendida na prática odontológica para reduzir a dor e ansiedade produzida pela administração da solução anestésica local; além de aliviar a dor de lesões superficiais da mucosa (como por exemplo, úlceras, iperemia, eritema) (Meechan, 2000). Existem diferentes combinações de agentes anestésicos tópicos que são comercializados em todo o mundo, no entanto, existem escassos relatos na literatura comprovando a eficácia clínica destes agentes (Deepika *et al.*, 2012). Os anestésicos tópicos, desenvolvidos no fim da segunda metade do século XIX, são considerados ferramentas úteis para diminuir o desconforto promovido pela injeção de AL, bem como permitir a punção atraumática da agulha. Além deste fato, dever ser considerado o valor psicológico desta anestesia, por reduzir o medo do paciente e aumentar sua confiança no cirurgião dentista (Hass, 2002). Por estes motivos, existem a necessidade de novas formulações de anestésicos tópicos capazes de permacerem por um maior tempo no local de aplicação e produzir anestesia local efetiva que possa ser utilizada na Odontologia.

Os anestésicos tópicos evoluíram de simples soluções de cocaína para, cremes, pomadas, géis, preparações lipossomais e adesivos (Kundu & Achar, 2002; Tadicherla & Berman, 2006), permitindo a realização de alguns procedimentos em clínica Médica e Odontológica sem a necessidade de uma posterior infiltração de soluções anestésicas.

Os anestésicos locais (AL), injetáveis e tópicos, são compostos químicos cuja atividade farmacológica primária envolve o bloqueio reversível da condução nervosa. Essa propriedade é uma consequência da inibição do processo de excitação-condução em nervos periféricos, após aplicação local e em concentrações adequadas. Uma das mais importantes propriedades de um AL é impedir a condução dos impulsos nervosos, que apesar de causar um prolongado bloqueio motor leva também a um bloqueio

sensorial apropriado para anestesia em diferentes tipos de procedimentos (Katzung *et al.*, 2009; Kuthiala & Chaudhari, 2011).

O mecanismo de ação destes fármacos consiste em manter fechados os canais de sódio das membranas plasmáticas de todos os tecidos excitáveis do organismo, incluindo-se aqui os nervos, gânglios, músculos esqueléticos, músculos lisos e músculo cardíaco. O AL bloqueia a entrada de sódio por intermédio dos canais de sódio sensíveis à variação de voltagem, além disso, alteram a transmissão na junção neuromuscular, e também inibem as contrações intestinais e relaxam o músculo liso vascular e bronquial (Rang *et al.*, 2007, Muri *et al.*, 2010).

A membrana excitável dos axônios mantém um potencial transmembrana de -90 a -60 mV chamado de potencial de repouso. Durante a propagação de um potencial de ação os canais de sódio se abrem promovendo a entrada de uma corrente rápida, que despolariza prontamente a membrana até o potencial de equilíbrio do sódio (+40 mV). Os canais de sódio se fecham e os canais de potássio se abrem em consequência da despolarização. O fluxo de potássio para fora da célula repolariza a membrana até o potencial de equilíbrio do potássio (+95 mV). A repolarização faz com que os canais de sódio retornem ao estado de repouso. Os gradientes iônicos da transmembrana são mantidos pela bomba de sódio. Essas características são semelhantes às daquelas do cérebro e músculo cardíaco, e os anestésicos locais têm efeitos semelhantes em ambos os tecidos (Drachmann & Strichartz, 1991; Carvalho, 1994; Miller & Hondeghem, 2010; Neal *et al.*, 2010).

A ligação dos AL com os canais de sódio depende da conformação do canal, sendo, um fenômeno de voltagem dependente, sendo baixa a afinidade pela configuração fechada, enquanto que a conformação inativada é extremamente favorável à interação. Assim o AL se liga preferencialmente à forma inativada do canal, não condutora, mantendo-o nesta forma e estabilizando assim a membrana (Carvalho, 1994; Fraceto & De Paula, 2006). Quanto maior o número de canais na forma inativada maior será a facilidade do bloqueio. Quanto maior a frequência de estímulos de uma fibra, mais canais se abrem, se fecham e se inativam. Assim, o bloqueio do canal de

sódio é proporcional à frequência dos impulsos despolarizantes. Esse fenômeno é chamado de bloqueio uso-dependente ou bloqueio dependente de frequência.

Além da ligação com o canal de sódio, os AL também podem exercer seu efeito através da interação com os componentes lipídicos da membrana, o que promove fechamento dos canais de sódio. Neste caso, a interação AL com os componentes lipídicos da membrana pode ocorrer com a entrada do anestésico na parte lipídica da membrana, promovendo alterações na proteína do canal de sódio, levando ao bloqueio da condução do estímulo nervoso (Carvalho, 1994; Fraceto & De Paula, 2004).

As moléculas de anestésicos locais são anfipáticas, ou seja, possuem características lipofílicas e hidrofílicas em extremidades opostas da molécula, a extremidade hidrofílica é o que permite a injeção nos tecidos. Entre estas extremidades está uma cadeia intermediária de hidrocarbonetos, que permite classificar os anestésicos locais, como amino-ésteres ou amino-amidas, de acordo com o tipo de ligação química Araujo, *et al.*, 2008). A tabela 1 mostra a classificação dos anestésicos locais de acordo com a estrutura química da cadeia intermediária.

Tabela 1: Classificação dos anestésicos locais de acordo com a estrutura química.

Amino-Amidas	Amino-Ésteres
Lidocaína	Cocaína
Mepivacaína	Tetracaína
Bupivacaína	Procaína
Prilocaina	Oxibuprocaina
Ropivacaína	Benzocaína
Articaína	Clorprocaína
Cinchocaína	Isobucaína

(Nettis *et al.*, 2001, Malamed, 2005)

Os AL do grupo éster são metabolizados pelas pseudocolinesterases séricas em ácido para-aminobenzóico (PABA). Este composto tem um potencial alergênico conhecido, sendo as reações alérgicas mais frequentes neste grupo de AL. As amidas

têm metabolização hepática e não dão origem ao PABA (Thyssen *et al.*, 2008; Eggleston *et al.*, 1996).

Os anestésicos locais mais utilizados em procedimentos cirúrgicos odontológicos, administrados de maneira injetáveis, são os pertencentes à família das amino-amidas como a bupivacaína, ropivacaína, lidocaína, mepivacaína e prilocaína (Koller *et al.*, 2005), que apesar de serem menos potentes que os amino-ésteres possuem menor grau de toxicidade sistêmica, além de serem biotransformados pelo fígado (via citocromo 450) o que os leva a apresentar uma meia-vida mais longa (Araujo *et al.*, 2008).

O início, a potência e a duração da ação do AL são variáveis e dependem das propriedades de cada fármaco, por exemplo: quanto mais hidrofóbico for o fármaco maior a potência e a duração de ação (Smith *et al.*, 1999; Mascarenhas *et al.*, 2011). A maior duração de ação depende da ligação às proteínas dos canais de sódio, da associação com vasoconstritores (como por exemplo: adrenalina) e resistência à hidrólise (ex: as ligações éster são mais facilmente hidrolisadas que as ligações amida) (Thyssen *et al.*, 2008; Mascarenhas *et al.*, 2011). Fatores físicos – químicos, como constante de dissociação (pK_a), lipossolubilidade e ligação à proteínas plasmáticas, influenciam nas características clínicas dos AL. Os AL que possuem o valor de pK_a mais baixo possuem o efeito anestésico mais rápido do que os fármacos com um valor mais elevado. O aumento da lipossolubilidade permite que o AL penetre com maior facilidade na membrana nervosa. Os AL com grande lipossolubilidade são mais eficientes no bloqueio do que as soluções menos solúveis. O grau de ligação do AL com a proteína é responsável pela duração da analgesia (Arpey *et al.*, 1992; Carvalho *et al.*, 1994; Malamed, 2005).

A lidocaína (LDC) e a prilocaína (PLC) são fármacos semelhantes em vários aspectos, são classificados como amino-amidas, possuem um perfil de ação e efeito semelhantes, não apresentam diferenças significativas quanto ao tempo de latência e duração do efeito anestésico (Cáceres *et al.*, 2008). Dentre os anestésicos locais, a lidocaína (cloridrato de lidocaína) é, sem dúvida, o agente anestésico mais utilizado em todo mundo, tendo sido introduzida no mercado por volta de 1948. Quando utilizada de

maneira injetável, na concentração de 2% possui tempo de latência 2 a 3 minutos, de anestesia pulpar de aproximadamente 01 hora e de tecidos moles de 03 a 05 horas. O tempo de meia vida plasmática é cerca de 90 minutos, metabolizada pelo fígado por um grupo de enzimas conhecidas como oxidases de função mista e seus metabólitos ainda retêm atividade anestésica. Estes metabólitos são eliminados especialmente pela urina, uma pequena porção pela bile, sendo então eliminados pelas fezes. Além de ser amplamente utilizada na clínica odontológica, a lidocaína é também um agente antiarrítmico, empregado por via intravenosa no tratamento das arritmias cardíacas, sobretudo após infartos (Faria & Marzola, 2001).

A prilocaína (cloridrato de prilocaína), sintetizada por volta de 1953, apresenta um perfil farmacológico semelhante ao da lidocaína, porém promove menor vasodilatação, o que permite um maior tempo de duração do efeito anestésico mesmo na ausência de vasoconstritor. Apresenta menor toxicidade para o Sistema Nervoso Central (SNC) por se distribuir melhor por todos os tecidos (Faria & Marzola, 2001), o tempo de anestesia pulpar é de até 60 minutos, tempo de meia vida plasmática de 90 minutos e excreção renal (Malamed, 2004). É metabolizada mais rápida do que a lidocaína, no fígado e nos pulmões, sendo que a orto-toluidina, seu principal metabólito, pode provocar metahemoglobinemia. Neste quadro, ocorre o aparecimento de grandes quantidades de metahemoglobina, que apresenta maior afinidade do oxigênio pela porção parcialmente oxidada da hemoglobina. Com a concentração sanguínea de metahemoglobina acima de 15% a principal característica clínica é o quadro de cianose (Nascimento *et al.*, 2008; Trapp & Will, 2010). O aparecimento de metahemoglobinemia também está relacionado com o uso de benzocaína tópica (gel á 20%) (Trapp & Will, 2010).

Os anestésicos locais tópicos mais utilizados na Odontologia são formulações a base de benzocaína (gel á 20%), lidocaína (spray á 10%), lidocaína e prilocaína em uma mistura eutética (creme à 2,5% de cada um dos anestésicos) (Trapp & Will, 2010; Meechan, 2000). O anestésico tópico ideal deve promover analgesia eficaz quando administrado topicamente, porém, nem todos AL utilizados na odontologia possuem esta propriedade como, por exemplo, a procaína e mepivacaína (Adriani & Campbell,

1956; Malamed, 1997). A anestesia tópica intra-oral, adequada deve apresentar as seguintes propriedades:

- ✓ Ser anti-alérgico;
- ✓ Permanecer no local da aplicação;
- ✓ Ter um sabor aceitável;
- ✓ Produzir duração suficiente de anestesia durante o procedimento;
- ✓ Não produzir dano local;
- ✓ Não produzir toxicidade sistêmica.

Atualmente várias formulações tópicas de anestésicos do tipo estér e do tipo amino-amida têm sido utilizadas na mucosa oral. No entanto, não há concordância em relação à superioridade dos agentes utilizados após a aplicação na mucosa oral. Alguns estudos relatam que não há diferença entre a aplicação de placebo ou de benzocaína tópica para reduzir o desconforto da penetração da agulha ou da injeção de anestésicos (Nakanishi *et al.*, 1996; Hutchins *et al.*, 1997; Carr & Horton, 2001a; Fukayama *et al.*, 2002). Outros relatam a superioridade de formulações tópicas a base de benzocaína e lidocaína em relação às formulações placebo para diminuir o desconforto da penetração da agulha na infiltração do anestésico (Vickers & Punnia Moorthy, 1992; Nakanishi *et al.*, 1996; Hutchins *et al.*, 1997; Carr & Horton, 2001b; Fukayama *et al.*, 2002).

Diversos estudos avaliaram a eficácia do anestésico tópico denominado de EMLA®. Esta sigla tem como significado *Eutectic Mixture of Local Anesthetics* e contém uma mistura de 5% de lidocaína e prilocaína, ou seja, esta formulação apresenta 2,5% dos dois sais anestésicos. A mistura eutética de anestésicos foi desenvolvida para uso tópico na pele e é a mais utilizada em dermatologia (Eidelman *et al.*, 2005; Moysés *et al.*, 2011). No entanto, apesar desta formulação não ter sido desenvolvida para uso intra-oral, vários estudos mostram a superioridade desta em relação às demais

formulações tópicas à base de lidocaína ou benzocaína (Holst & Evers, 1985; Nayak & Sudha, 2006).

Além da maior eficácia para diminuir a dor da inserção da agulha e da injeção anestésica, vários estudos têm apontado a eficácia do EMLA® permitindo a execução de procedimentos como instrumentação periodontal (Svensson *et al.*, 1994), dentística (Vickers & Punnia-Moorthy, 1993; Vickers *et al.*, 1997) e em alguns casos de extrações e biópsia (Meechan, 2001) sem o uso de anestésicos injetáveis.

Vickers e Punnia-Moorthy (1993), comparando o EMLA®, lidocaína a 10% e um placebo aplicados por 15 a 30 minutos, observaram que o EMLA® foi capaz de promover anestesia pulpar (ausência de resposta ao estímulo máximo do pulp tester) em incisivos centrais superiores em 93% (12/13) dos voluntários. Posteriormente, em um estudo piloto, Vickers *et al.* (1997) verificaram que a aplicação tópica de 1 g de EMLA® foi eficaz em produzir anestesia satisfatória para a realização de procedimentos restauradores em 75% dos voluntários, sem a necessidade de infiltração de anestésico local. No entanto, estes relatos são escassos e somente com o EMLA® o efeito foi observado.

Em um estudo realizado por Svensson *et al.*, (1994), foi observado que a aplicação tópica de EMLA® reduziu a dor em relação a um placebo durante o procedimento de raspagem periodontal em voluntários com doença periodontal crônica, e a intensidade da dor e desconforto foram avaliados através de escalas analógicas visuais (EAV).

Meechan (2001) relatou a remoção de fibroma palatino na região de molar superior, após a aplicação tópica por 15 minutos da mistura eutética EMLA®, sem necessidade da anestesia infiltrativa posterior.

A utilização de AL tópico no controle da dor tem sido utilizada com frequência na odontopediatria. Em um relato de caso clínico o anestésico tópico EMLA® mostrou-se eficiente no controle da dor na remoção de tecido cariado com uso de sistema ultrassônico (Paschoal *et al.*, 2011). A tabela 2 mostra estudos que avaliaram a eficácia de EMLA® e de outras formulações para anestesia tópica em odontologia após a aplicação intra-oral desta formulação.

Tabela 2: Mostra estudos que avaliaram a eficácia de EMLA® e de outras formulações para anestesia tópica em odontologia após a aplicação intra-oral desta formulação.

Autores (ano da publicação)	Formulações testadas	Número de voluntários	Tempo e Local de Aplicação	Verificação da Eficácia da formulação	Resultados
Holst & Evers, 1985	EMLA® e lidocaína 5%	10 adultos	Mucosa gengival na região de caninos mandibulares e mucosa palatina na região de caninos superiores, por 2 e 5 minutos.	Inserção de agulha gengival 30G na mucosa.	EMLA® foi superior a lidocaína, após 5 minutos de aplicação, na redução da dor da inserção da agulha na mucosa.
Meechan & Donaldson, 1994	EMLA® e lidocaína 5%	20 crianças	Mucosa vestibular maxila por 5 minutos.	Injeção infiltrativa de anestésico na maxila	Não houve diferença entre os tratamentos.
Meechan & Thomason, 1999	EMLA® e lidocaína 5%	10 adultos	Mucosa gengival por 5 minutos	Injeção intraligamentar	EMLA® foi mais efetivo que a lidocaína 5%.
McMillan <i>et al.</i> , 2000	EMLA® e lidocaína 5%	10 adultos	Mucosa gengival entre os pré-molares superiores por 10 minutos.	Aplicação de pressão na mucosa gengival	EMLA® foi mais efetivo que a lidocaína 5%.
Primosch & Rolland-Asensi, 2001	EMLA® e benzocaína 20%	40 crianças	Mucosa palatina por 2 min (benzocaína) e por 5 min (EMLA®)	Injeção infiltrativa de anestésico na mucosa palatina com agulha 27G	EMLA® foi mais efetivo na redução do desconforto da injeção infiltrativa palatina
Nayak & Sudha, 2006	EMLA®, lidocaína 5% e benzocaína 18%	60 crianças	Mucosa gengival vestibular	Injeção infiltrativa de anestésico na maxila	EMLA® foi mais efetivo que os outros anestésicos testados.
Al-Melh & Andersson, 2007	EMLA® creme, formulação da mistura eutética de lidocaína e prilocaína a 2,5% em gel (Oraqix®) e benzocaína 20%	40 adultos (2 grupos de 20)	Mucosa palatina na região de caninos (1 lado formulação teste e no outro benzocaína) por 2 minutos	Inserção de agulha gengival 27G na mucosa até obtenção de contato ósseo.	Aplicação de EMLA® e Oraqix® reduz a dor da inserção da agulha na mucosa palatina quando comparada a aplicação de benzocaína 20%
Franz-Montan <i>et al.</i> , 2007	Gel de ropivacaína 1%, EMLA®, benzocaína 20% (20 e 60 mg)	30 adultos	Mucosa vestibular na região de canino	Inserção de agulha gengival 30G na mucosa até obtenção de contato ósseo. Aplicação de pressão na mucosa gengival	Todas as formulações reduziram a dor da inserção da agulha. A aplicação de 60 mg de EMLA® promoveu anestesia de tecidos moles de maior duração.
Franz-Montan <i>et al.</i> , 2012	Gel de ropivacaína (RVC) 1% e 2% encapsulada em lipossoma, EMLA®	40 adultos	Mucosa palatina na região de canino	Inserção de agulha palatina 30G na mucosa até obtenção de contato ósseo.	As formulações de RVC encapsuladas, incluindo o controlo positivo (EMLA), foram eficazes na redução da dor de uma injeção de anestésico local em comparação com o placebo.

1.2 Anestésicos tópicos em sistemas de adesivos

Um dos fatores críticos para aumentar a eficácia de anestésicos tópicos é a manutenção de contato prolongado com a mucosa oral. A maioria das formulações tópicas disponíveis é apresentada comercialmente na forma de géis, que podem ser facilmente diluídos pela saliva e dificilmente se mantêm no local de aplicação (Leopold *et al.*, 2002). Estas limitações podem ser reduzidas utilizando formulações anestésicas incorporadas em adesivos, que prolongam o contato do anestésico com a superfície da mucosa, promovendo aumento na duração da anestesia quando comparada com o creme e *spray* (Giddon *et al.*, 1968). Atualmente, está disponível para uso em Odontologia, a formulação de lidocaína 20% em adesivo (DentiPatch®) aprovada nos Estados Unidos pelo FDA é indicada para anestesia superficial em mucosa oral.

As formulações contidas em adesivos atualmente apresentam problemas como perda de propriedades adesivas e presença de altas concentrações de anestésicos. A perda de propriedade adesiva durante a aplicação na mucosa gengival (para os bioadesivos contendo lidocaína) reduziu a superfície de liberação do princípio ativo e prolongou o tempo necessário para início do efeito anestésico (Stecker *et al.*, 2002). É importante resaltar que alguns desses produtos apresentam concentrações superiores (20%) que a maioria dos géis tópicos tradicionais (como o EMLA® por exemplo, com 2,5% de lidocaína e 2,5% de prilocaína) e, por isso, são necessárias precauções com relação à toxicidade sistêmica induzida pelos anestésicos locais.

O uso de adesivo contendo 50 mg de lidocaína por 30 minutos provocou anestesia de lábios e da mucosa gengival, após 7,4 min de aplicação e a percepção a estímulos dolorosos já havia sido eliminada, ainda foi observada anestesia de tecidos moles por um período de aproximadamente 26 minutos após a remoção do adesivo (Brook *et al.*, 1989). A efetividade de duas concentrações de lidocaína em adesivos foi avaliada por Hersh *et al.*, (1996) para aliviar a dor da penetração de agulha 25G na mucosa oral. As duas doses testadas (10% e 20%) foram mais efetivas que o placebo para aliviar a dor. O desconforto promovido pela injeção de anestésico local durante o tratamento de raspagem periodontal também foi reduzido após a aplicação de adesivo com lidocaína 20% (Carr & Horton, 2001).

Stecker *et al.* (2002) avaliaram a efetividade do adesivo de lidocaína 20% e de benzocaína gel na concentração de 20%, afim de diminuir o desconforto durante a colocação de isolamento absoluto com grampos em crianças. Estes autores observaram que o adesivo não foi superior à formulação comercial de benzocaína, e sua aplicação apresentou pouca retenção.

Assim, como uma alternativa interessante, surge o desenvolvimento e possível uso terapêutico de um sistema bioadesivo recente e inovador. Este sistema é composto por um filme bioadesivo, transparente, composto por monocamadas que apresentam, individualmente, propriedades adesivas e reservatório de fármacos; bem como flexibilidade e resistência mecânicas suficientes para agir como um bioadesivo apenas quando aplicado sobre a superfície molhada. Além disso, o bioadesivo é permeável ao vapor de água e hidratado na superfície aplicada, tal característica facilita a adaptação à superfícies irregulares, como a mucosa oral, e aumenta a área de contato efetiva para liberação do fármaco (Padula *et al.*, 2003; 2007a,b).

O sistema de bioadesivos proposto no presente trabalho já foi caracterizado e avaliado em modelos animais e humanos, utilizando diferentes composições contendo fármacos como lidocaína (Padula *et al.*, 2003; 2007a,b; 2010), cafeína (Nicoli *et al.*, 2005), oxibutinina amicacina (Nicoli *et al.*, 2006), sumatriptano (Femenía-Font *et al.*, 2006, Balaguer-Fernández *et al.*, 2010). O anestésico local benzocaína foi recentemente avaliado após a incorporação em bioadesivos (de Araujo *et al.*, 2010). Neste estudo, os autores observaram maior permeação através da pele e controle da liberação inicial, além de melhora nos perfis de liberação em relação às preparações comerciais. Além disso, outras vantagens foram observadas como: não indução de efeitos tóxicos (como reações inflamatórias e/ou mudanças morfológicas da pele) e redução do tempo necessário para o início de liberação dos fármacos, sendo esta uma característica útil para o início rápido do efeito terapêutico.

Deste modo, a utilização dos filmes bioadesivos contendo anestésicos locais poderia favorecer o início de ação tornando-o mais rápido e com maior duração de ação devido à permanência prolongada do fármaco no local de administração. Estes sistemas apresentam ainda propriedades particularmente úteis para a administração de fármacos através da mucosa oral, como a adesão às superfícies irregulares e

permeabilidade à água o que facilita a adesão na superfície irregular da mucosa oral fornecendo flexibilidade e resistência mecânica adequadas.

No entanto, o sistema de bioadesivos ainda não foi avaliado considerando-se como fármaco-padrão a mistura de dois dos anestésicos locais utilizados na clínica odontológica: lidocaína e prilocaína. Assim, durante este estudo inovador, será avaliada a efetividade desta nova formulação com bioadesivos.

2. OBJETIVOS

Os objetivos deste estudo foram:

Avaliar a efetividade e a farmacocinética dos anestésicos locais lidocaína e prilocaína contidos em uma formulação comercial EMLA® em creme e em bioadesivos após a aplicação em mucosa oral de voluntários sadios.

3. MATERIAL E MÉTODO

3.1. Formulações tópicas de lidocaína e prilocaína

Os filmes bioadesivos foram preparados inicialmente por dissolução de determinada quantidade de cloridrato de prilocaína e cloridrato de lidocaína em uma solução contendo glicerina-água sendo, posteriormente, adicionada a soluções de álcool polivinílico a 25 % (PVA 83400) e do adesivo Plastoid E35H (Padula *et al.*, 2003; 2007 b). A mistura final obtida apresentou a seguinte constituição: PVA 25 % (56 % p/p), Plastoid E35H (26 % p/p), água (13 % p/p), glicerina (4 % p/p) e cloridrato de prilocaína e cloridrato de lidocaína (2,5 % - 2,5 % p/p) e (1,25 % - 1,25 % p/p). Todos os constituintes foram mantidos em agitação lenta por pelo menos 12 horas e, então, estendidos (extensores com altura de 0.45 mm) em papéis siliconizados. Em seguida, os filmes foram submetidos à secagem em estufa a 80 °C durante 30 minutos, cobertos com filmes plásticos protetores (*backing liner*, 3M EVA/film) e acondicionados em embalagens seladas, até o uso. Todos os componentes da formulação são de grau farmacêutico e aprovados pelo FDA para uso humano (de Araujo *et al.*, 2010). As formulações de bioadesivos foram preparadas na Universidade Federal do ABC, em colaboração com a Profa. Dra. Daniele Ribeiro de Araujo.

Além dos bioadesivos foi utilizada a formulação comercial da mistura eutética de anestésicos lidocaína 2,5% e prilocaína 2,5% (EMLA® cream AstraZeneca®, Cotia, Brazil) em duas dosagens (EMLA® 60 mg e EMLA® 10 mg).

3.2. Seleção dos voluntários

Foram selecionados 30 voluntários saudáveis, com idade entre 20 e 45 anos (26 anos 5,31), alunos de graduação ou pós-graduação da Universidade São Francisco (USF) e da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Os voluntários foram tratados aleatoriamente em dias distintos com as seguintes formulações:

- EMLA – 60 mg: mistura eutética (EMLA®) de anestésicos contendo lidocaína 2,5% e prilocaína 2,5%
- Bioadesivo 1,25%: mistura lidocaína e prilocaína a 1,25% de cada anestésico cada em sistema de bioadesivos (1 cm²);
- Bioadesivo 2,5%: mistura lidocaína e prilocaína a 2,5% de cada anestésico cada em sistema de bioadesivos (1 cm²);
- EMLA – 10 mg: mistura eutética (EMLA®) de anestésicos contendo lidocaína 2,5% e prilocaína 2,5%

A quantidade de anestésico utilizada em cada grupo foi determinada de acordo com estudos prévios e de acordo com área de anestesia desejada. Os adesivos foram utilizados com 1cm² para delimitar a área de anestesia da região de canino. O EMLA® foi utilizado na dosagem de 60 mg de acordo com o relatado por Franz- Montan *et al.*, (2007). A dosagem de 10 mg foi testada uma vez que esta é a quantidade de anestésico presente em 1cm² do adesivo com a mistura lidocaína e prilocaína a 2,5%.

O trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade São Francisco (Protocolo n.0035.0.0142.000-11- Anexo 1). Os voluntários assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme resolução nº 196/96 do CONEP/MS. Os voluntários foram informados e orientados quanto aos procedimentos realizados, ressaltando a não obrigatoriedade da permanência no experimento e que não foram executados procedimentos de risco.

Os voluntários apresentavam bom estado de saúde, avaliado através da anamnese, e não apresentavam alterações sistêmicas que impedissem o uso de anestésicos locais. Os participantes foram selecionados de acordo com os critérios de inclusão e exclusão descritos na Tabela 3.

Tabela 3. Critérios de inclusão e exclusão dos voluntários

Critérios de inclusão	Critérios de exclusão:
<ul style="list-style-type: none">- alunos de graduação ou pós-graduação da USF ou da UNICAMP;- idade entre 20 e 45 anos;- classificados como sadios durante a anamnese clínica;- aptidão em fornecer consentimento por escrito;- canino superior do lado direito livre de cáries e restaurações extensas, trauma ou tratamento endodôntico e responsável ao estímulo elétrico (“pulp tester”);- gengiva vestibular da região de canino superior direito livre de ulcerações;- já terem recebido anestesia tópica com alguma das formulações propostas, anteriormente ao estudo, sem terem apresentado quaisquer reações adversas às mesmas;- não apresentarem alergia a quaisquer dos componentes das formulações.	<ul style="list-style-type: none">- histórico de hipersensibilidade aos fármacos em estudo;- histórico de qualquer doença psiquiátrica, gastrointestinal, hepática, renal, cardiovascular, pulmonar, neurológica ou hematológica, diabetes ou glaucoma;- fumante;- histórico de dependência de drogas ou consumo abusivo de álcool;- participação de qualquer estudo clínico similar nas 6 semanas que antecederem ao estudo;- uso de fármacos que alterem a percepção de dor e a resposta ao “pulp tester” elétrico nas 2 semanas que antecedem o estudo;- gestação.

3.3. Procedimento anestésico na mucosa oral

Cada voluntário recebeu todas as formulações anestésicas de forma aleatória em 4 sessões com intervalo no mínimo 07 dias entre as sessões.

Antes de cada sessão, previamente à aplicação tópica dos anestésicos, cada voluntário teve o canino superior direito estimulado pelo Pulp Tester elétrico (PTE) por três vezes, com intervalo de dois minutos entre cada estímulo, para se determinar o limiar basal (LB), considerado a média dessas medidas. Para a transmissão dos impulsos elétricos foi utilizada como substância condutora flúor gel 2% (DFL®, Rio de

Janeiro, Brasil). Os estímulos elétricos pulparem foram feitos com intervalos de no mínimo dois minutos, para se evitar a acomodação das fibras nervosas que ocorre após a aplicação de estímulos repetidos sobre o mesmo elemento dental (Bender, 1989; Dal Santo, 1992).

O “Pulp Tester” elétrico (PTE) Vitality Scanner modelo 2006 (Analytic Technology, Redmond, EUA, Registro no Ministério da Saúde nº 103 1111 0033), utilizado neste estudo é composto por uma unidade controle, que produz a corrente elétrica e um eletrodo que transmite a corrente para o dente. Ao se posicionar o eletrodo sobre a coroa dental, com o voluntário segurando o fio terra, a corrente liberada vence a resistência do esmalte e da dentina, estimulando as fibras sensoriais mielinizadas de condução rápida da junção dentina-polpa (Certosimo & Archer, 1996), produzindo uma sensação descrita como formigamento, pulsação, vibração ou dor (Cooley *et al.*, 1984). A menor corrente capaz de causar estímulo representa o limiar basal de estimulação elétrica (Cooley *et al.*, 1984) e a falta de reatividade ao estímulo máximo produzido pelo aparelho (80) é considerada como anestesia completa (McClean *et al.*, 1993; Chan *et al.*, 2012).

Após a determinação do limiar basal de estimulação, os anestésicos tópicos (EMLA® 60mg, EMLA® 10mg, Bioadesivos 2,5% e Bioadesivo de 1,25%) foram aplicados nos voluntários por um mesmo cirurgião dentista. Na região do fundo de sulco vestibular da região de canino superior direito. Previamente o local de aplicação foi seco com gaze estéril e o anestésico tópico aplicado por 10 min. Após a aplicação a mucosa foi limpa com gaze estéril e lavada suavemente com água, em seguida os voluntários foram testados três vezes para avaliação dos seguintes parâmetros (Franz-Montan *et al.*, 2007):

- Dor associada à punção anestésica: imediatamente após a aplicação do anestésico uma agulha gengival 30 G e 1 polegada foi introduzida na região da aplicação até o contato com o periosteio. A percepção dolorosa foi medida com Escala Analógica Visual (EAV). A EAV é uma linha de 10 cm sem números ou demarcações, exceto nas extremidades onde há as marcações 0 (zero) e 10 (dez). A marcação 0 corresponde a nenhuma dor e 10, a dor de maior intensidade. A classificação da dor

é feita pela colocação de uma marca vertical sobre a linha; a distância entre a marca e as extremidades 0 e 10 é medida por uma régua milimetrada, avaliando-se a sensação de dor do paciente (Jensen, 1986; Tófoli *et al.*, 2010).

- Duração da anestesia de tecidos moles: os voluntários receberam estímulos na mucosa, a cada 1 minuto, com palito de ponta romba para verificar a duração da anestesia na mucosa oral.
- Anestesia pulpar: Estímulos elétricos foram aplicados com PTE a cada 2 minutos, por 10 minutos, para verificar a ocorrência ou não de anestesia pulpar no canino superior direito. A anestesia pulpar foi definida como ausência de resposta ao estímulo máximo produzido pelo PTE indicada com uma leitura de 80 (300 V; 0,08 mA).

3.4. Análise da concentração plasmática dos anestésicos locais

Foi realizada a instalação de uma via de acesso venoso em 15 voluntários no início de cada uma das quatro sessões anestésicas. Durante as quatro sessões de tratamento foram coletadas amostras de 5 mL de sangue venoso periférico em vários períodos para determinação da concentração sanguínea das formulações dos AL existentes nas formulações testadas. O sangue foi coletado com a adaptação na cânula do cateter de um tubo a vácuo (Vacuette®, Greiner Bio-one), contendo um anticoagulante (EDTA), fixado com fita adesiva em uma das seguintes veias mediana, intermediária ou basílica (Netter, 2000). Logo após a coleta, o escalpe foi lavado com uma mistura de anticoagulante (heparina sódica) e soro fisiológico, para evitar coagulação do sangue e obstrução da via de acesso venoso.

O sangue foi coletado nos seguintes tempos: 0 - antes da injeção anestésica (linha de base), 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300 e 360 minutos após a injeção. Os tempos de coleta foram definidos para que fossem obtidos dez pontos entre o tempo zero (linha base) e 4 vezes o $t_{1/2}$ (tempo de meia-vida) dos anestésicos lidocaína e prilocaína (1,5 hora) (Scott *et al.*, 1976). Este esquema de progressão geométrica é comumente utilizado e fornece informações sobre a disposição da droga (Bourne,

1995). As amostras colhidas foram imediatamente centrifugadas e armazenadas em temperatura de -70°C até a análise por espectrometria de massas.

Para a determinação dos níveis plasmáticos de lidocaína e prilocaína o equipamento utilizado foi um espectrômetro de massas triplo-quadrupolar em sequência com fonte de ionização por eletrospray (Micromass / Quattro Micro®) acoplado ao cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu LC 20 AD. Todos os reagentes foram de grau analítico ou farmacopêico. Os dados foram adquiridos e analisados pelo software MassLynx 4.1 (Waters®).

As amostras de plasma (100µL) obtidas foram misturadas com o padrão interno (PI) de bupivacaína (500 ng/mL) previamente a extração. Em seguida foram adicionados 1000 µL de Eter/Diclorometano (1:1) a mistura foi agitada por 5 minutos e centrifugada a 13200 rpm durante 5 minutos a 4° C. Foram transferidos 800 µL de fase orgânica para um microtubo e esta foi seca em fluxo de gás nitrogênio e ressuspensa em 100 µL de fase móvel. Esta solução foi transferida para o insert e injetada no sistema LC-MS/MS.

Foram injetados 10 µL desta mistura no LC- MS/MS. Foi utilizada uma coluna Ace de 3µm C-18-PFP (50 x 2.1 mm) e a fase móvel utilizada foi composta de acetonitrila e água (80:20 v/v) com adição de 0,1% de ácido fórmico. A detecção foi feita pelo monitoramento de reações múltiplas (MRM), que consiste na separação no primeiro analisador (Q1) da molécula-alvo ionizada e fragmentação no segundo analisador (Q2), seguida da análise do fragmento específico no terceiro analisador (Q3).

3.5. Validação da metodologia

A validação foi realizada de acordo com os preceitos da resolução 899 de 2003 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Para a condução e validação dos ensaios analíticos, foi utilizado o padrão analítico de lidocaína (LDC), prilocaína (PLC) e bupivacaína (Sigma Chem. Co). Foi utilizado um “pool” de plasma de voluntários coletado com um cateter intravascular instalado no braço. O plasma foi

congelado a -70°C até a utilização na validação da metodologia. Durante a validação da metodologia analítica foram avaliados os parâmetros descritos a seguir:

- **Especificidade:** capacidade do método de medir um composto em presença de outros componentes tais como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz. Para confirmar a especificidade do método, foram analisadas amostras ($n=5$) de um pool de plasma dos voluntários, sendo três amostras normais, uma com o plasma lipêmico e outra hemolisada. Foi observada a possível presença de interferentes e de supressão de íons no tempo de retenção do fármaco e do PI.
- **Linearidade:** capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado. A análise da linearidade foi feita com no mínimo 6 concentrações diferentes. Foram construídas 3 curvas de calibração que incluíram a análise da amostra branco, amostra Branco+PI e mais seis amostras com valores na faixa de 0,3 a 50 ng/mL em pool de plasma dos voluntários. O desvio padrão deve ser menor ou igual a 20% em relação à concentração nominal para o limite de quantificação (LQ) e deve ser menor ou igual a 15% em relação à concentração nominal para as outras concentrações da curva de calibração. O coeficiente de correlação linear deve ser no mínimo $r=0,98$.
- **Precisão:** é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. Esta é considerada como repetibilidade ou precisão intra-corrída e precisão intermediária ou inter-corrídas. A precisão intra-corrída é a concordância entre os resultados dentro de um curto período de tempo com o mesmo instrumentador e a mesma instrumentação. Esta análise foi feita com três concentrações alta (CA 40 ng/mL), média (CM 20 ng/mL) e baixa (CB 0,9 ng/mL) em triplicatas, ou seja, 9 determinações. A precisão intermediária (ou inter-corrídas) é a concordância entre os resultados do mesmo laboratório, mas obtidos em dias diferentes, ou instrumentador diferente e/ou equipamentos diferentes. Esta análise também foi feita com três concentrações alta,

média e baixa em triplicatas, em dois dias diferentes, ou seja, 18 determinações. A precisão não deve apresentar valores de desvio padrão superiores a 15%, exceto para o LQ, para o qual se admite valores menores ou iguais a 20%.

- **Exatidão:** é expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente. A exatidão do método- foi determinada com o uso de 3 concentrações (CA, CB e CM) com cinco determinações por concentração. A exatidão foi determinada em uma mesma corrida analítica (exatidão intra-corrída) e em corridas diferentes (exatidão inter-corrídas) como a precisão. O desvio padrão não deve exceder 15%, exceto para o limite de quantificação, para o qual se admite desvios menores ou iguais a 20%.
- **Limite de quantificação (LQ):** é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas. A resposta de pico para o LQ deve ser, no mínimo, 5 vezes maior que qualquer interferência na amostra branco no tempo de retenção do fármaco. O pico de resposta do fármaco no LQ foi identificável e reprodutível com precisão de 20% e exatidão entre 80-120% em relação à concentração nominal do padrão, através da análise de cinco amostras de padrões.

3.6. Análise Estatística

Os tempos de anestesia de tecidos moles (TM) e os escores de EAV foram analisados pelo teste de ANOVA com nível de significância 5%, com “post hoc” de Friedman. O limiar basal foi analisado com o teste de ANOVA/Tukey- Kramer com nível de significância 5%. Os resultados obtidos pela espectrometria de massas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Kruskal-Wallis (post hoc), com nível de significância 5% (Graph Pad Instat, GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA). O software P.K. Solutions 2.0 (Summit Research Services) foi utilizado para calcular os parâmetros farmacocinéticos: concentração plasmática máxima (C_{max}), tempo para obtenção da concentração máxima (T_{max}), Área sob a curva (ASC) do tempo 0 até 360 e tempo de meia vida de eliminação ($t_{1/2}$). Os parâmetros

farmacocinéticos foram analisados pelo teste de ANOVA com nível de significância 5%, com “post hoc” de Wilcoxon.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Atividade anestésica

A atividade anestésica foi avaliada através da detecção de anestesia pulpar e de tecidos moles. Nenhum voluntário apresentou anestesia pulpar com nenhuma das formulações utilizadas. Assim, não foram determinados valores de tempo de latência (TL) e anestesia pulpar (AP). O limiar basal (LB) não apresentou modificações significativas ($p>0,05$) após a aplicação das quatro formulações durante 30 min. A figura 1 mostra a variação do LB nos voluntários com as diferentes formulações.

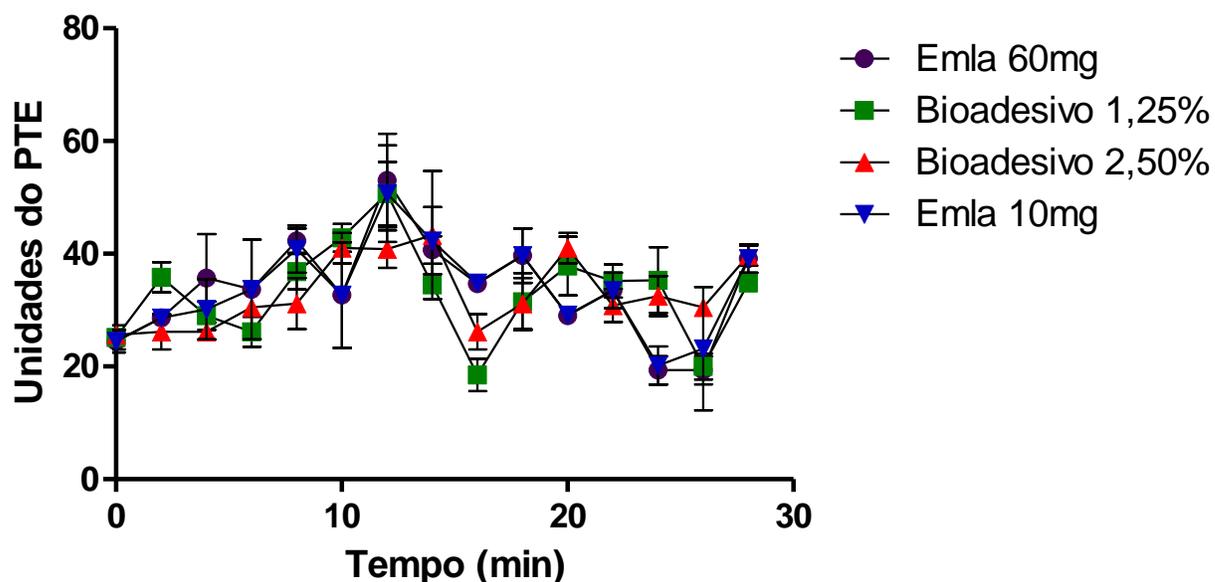


Figura 1: Média e desvio padrão dos valores de limiar basal (LB) obtidos com o PTE a cada 2 min depois da aplicação das formulações (tempo 0 representa o valor obtido como limiar basal inicial) ($p>0,05$).

Em relação ao tempo de anestesia de tecidos moles (TM) a formulação EMLA® 60 mg apresentou maior duração de anestesia quando comparada ao Bioadesivo 1,25% ($p < 0,01$). O Bioadesivo 2,5% não apresentou diferenças estatisticamente significantes em relação à TM quando comparado ao EMLA 10 e 60 mg ($p > 0,05$). As outras formulações não apresentaram diferenças estatisticamente significantes em relação à TM ($p > 0,05$). A figura 2 mostra as medianas dos tempos de anestesia de tecidos moles obtidos com as quatro formulações.

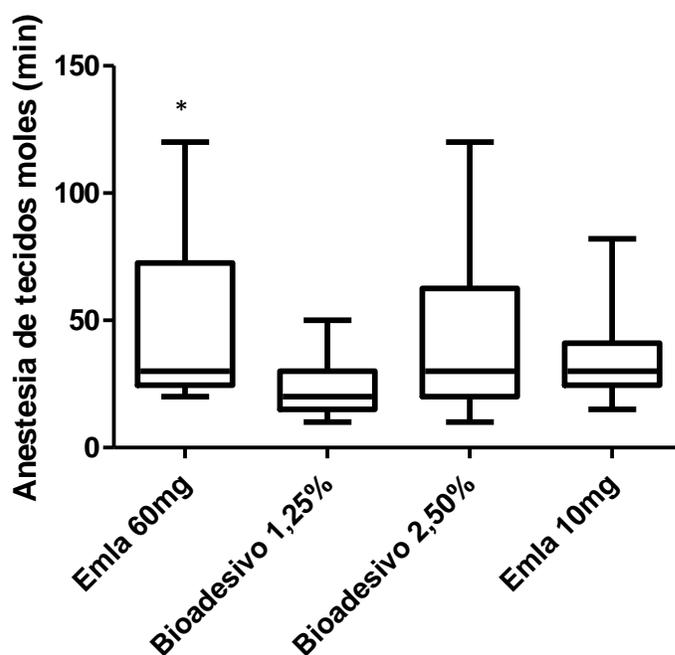


Figura 2: Medianas dos tempos de anestesia de tecidos moles obtidos após a aplicação tópica das formulações avaliadas. A linha central representa a mediana, a caixa representa o primeiro e terceiro quartis e as suíças representam os valores máximos e mínimos. * Emla 60 mg X Bioadesivo 1,25%, $p < 0,01$.

A tabela 4 mostra a Mediana (Mínimo-Máximo) dos valores de TL, AP e TM obtidos com as quatro formulações, em minutos.

Tabela 4: Mediana (Mínimo-Máximo) de TL, AP e TM obtidos após a aplicação tópica das formulações avaliadas.

Formulação	TL (min)	AP (min)	TM (min)
Emla® 60mg	0	0	30 (20-120) a**
Bioadesivo 1,25%	0	0	20 (10- 50)
Bioadesivo 2,50%	0	0	30 (10 -120)
Emla® 10mg	0	0	30 (15-82)

Nota: Análise Estatística: $p < 0,001$ (***), $p < 0,01$ (**), $p < 0,05$ (*), $p > 0,05$ (não significativa).
a – Emla® 60mg x Bioadesivo 1,25%

A sensibilidade dolorosa provocada pela punção anestésica avaliada pela EAV foi menor para a formulação em creme nas duas dosagens utilizadas do que a promovida pelos adesivos ($p < 0,05$). A tabela 5 mostra as Medianas (Mínimo-Máximo) dos valores obtidos com a EAV.

Tabela 5: Mediana (min-max) dos valores da EAV.

Formulação	EAV (cm)
Emla® 60mg	0,00 (0,00 – 1,8) a*, b*
Bioadesivo 1,25%	0,85 (0,00 – 7,40) e**
Bioadesivo 2,50%	0,30 (0,00 – 6,10) f**
Emla® 10mg	0,00 (0,00 – 0,00)

Nota: Análise Estatística: $p < 0,001$ (***), $p < 0,01$ (**), $p < 0,05$ (*), $p > 0,05$ (não significativa).

ANOVA/Friedman

a Emla® 60mg x Bioadesivo 1,25%

d Bioadesivo 1,25% x Bioadesivo 2,50%

b Emla® 60mg x Bioadesivo 2,50%

e Bioadesivo 1,25% x Emla® 10mg

c Emla® 60mg x Emla® 10mg

f Bioadesivo 2,50% x Emla® 10mg

Os resultados deste estudo mostram que a incorporação de lidocaína e prilocaína em adesivos, em duas concentrações distintas, foi capaz de promover anestesia de tecidos moles. As duas formulações em adesivos promoveram tempo similar de anestesia de tecidos moles mesmo em diferentes concentrações. Assim, o uso do Bioadesivo com menor concentração de AL (1,25%) foi capaz de promover duração de anestesia de tecidos moles similar ao uso de uma maior quantidade da associação de anestésicos de forma livre (EMLA® 10 mg). A efetividade de formulações tópicas em adesivos foi determinada em diversos estudos com animais e voluntários (Taware *et al.*, 1997; Cho *et al.*, 2011). No entanto estes estudos foram conduzidos com diferentes metodologias: local de administração, sal anestésico e o tipo de adesivo eram diferentes dos utilizados no presente estudo.

Taware e colaboradores (1997) realizaram um estudo cruzado com trinta voluntários e aplicaram sobre a mucosa gengival na região de canino inferior direito e canino superior direito, em dias distintos, um sistema de bioadesivo incorporado de 20 mg lidocaína (2 cm²) e Lidocaína gel 20 mg, durante 30 minutos. Os autores observaram a possibilidade de realizar exodontia somente com a aplicação de anestesia tópica. Avaliaram anestesia de tecido mole, através de sondagem profunda e observaram que a anestesia com a formulação em gel teve o início de anestesia mais rápido do que a do bioadesivo de lidocaína. Não foi possível realizar exodontia somente com a aplicação das duas formulações, sendo necessário a complementação com anestesia infiltrativa de lidocaína.

Cho e colaboradores (2001) estudaram a efetividade do anestésico tópico mepivacaína 2% e bioadesivo incorporado com mepivacaína nas concentrações de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5%. As formulações foram aplicadas na base da cauda de ratos *Wistar* machos e a anestesia foi avaliada através do teste de Tail-Flick. Os bioadesivos de mepivacaína promoveram maior ação anestésica local do que os géis de mepivacaína.

O adesivo utilizado no presente estudo já foi reportado nos seguintes estudos de Padula *et al.*, 2010 (fármaco lidocaína) e Araujo *et al.*, 2010 (fármaco benzocaína).

Padula e colaboradores (2010) observaram a distribuição da lidocaína incorporada no sistema de adesivo aplicada sobre a pele de voluntários, utilizando a técnica de “tape-stripping”. A droga foi encontrada no extrato córneo depois de 5 min de

contato, o que comprova a liberação efetiva de lidocaína do sistema. No entanto, este estudo não avaliou a efetividade do sistema adesivo com lidocaína. Araujo e colaboradores (2010) avaliaram a efetividade de três formulações de benzocaína incorporadas no mesmo sistema adesivo utilizado no presente estudo, com teste de tail-flick em ratos. Os autores observaram que o anestésico incorporado em adesivos promoveu um maior tempo de anestesia que a formulação em creme do mesmo anestésico local. Os resultados do presente estudo também demonstraram a efetividade do sistema de adesivos, no entanto, as formulações em adesivos foram equivalentes ao creme. Estes resultados podem ser explicados por diferentes locais de aplicação (pele e mucosa de animais) e pelos diferentes sais anestésicos utilizados.

Apesar dos adesivos promoverem anestesia de tecidos moles de duração similar ao creme (10 mg), o mesmo padrão de resposta não foi observado em relação a sensibilidade dolorosa. A aplicação do creme, nas duas quantidades, promoveu menor sensibilidade dolorosa após a punção da agulha do que com a aplicação dos adesivos. De maneira semelhante, diversos estudos demonstraram a efetividade do EMLA®, em relação à outras formulações em creme a base de LDC e benzocaína (Mc Millan *et al.*, 2000; Primosch & Rolland-Asensi, 2001; Nayak & Sudha, 2006; Al-Melh & Andersson, 2007).

Mc Millan e colaboradores (2000) avaliaram a efetividade de anestesia de tecido mole em 10 voluntários, neste estudo foi aplicado sobre a mucosa gengival na região de pré-molares superiores as formulações de EMLA® (LDC 2,5% e PLC 2,5%), e Lidocaína 5% gel por 10 minutos. A eficácia das formulações testadas foi observada através de pressão na mucosa gengival. De acordo com o estudo, a formulação comercial de EMLA® foi mais efetiva na anestesia de tecido mole do que a lidocaína 5%.

Primosch & Rolland-Asensi (2001) compararam a resposta de dor de quarenta crianças durante infiltração de anestésico local bilateral na mucosa palatina após a aplicação tópica de gel de benzocaína 20%, benzocaína 20% em orabase ou EMLA (LDC 2,5% e PLC 2,5%) em orabase. Respostas à dor foram medidas através da escala analógica visual (EAV). Os resultados mostraram que a formulação de EMLA foi mais efetiva na redução do desconforto da injeção infiltrativa palatina.

Nayak & Sudha (2006) avaliaram a efetividade anestésica, previamente a anestesia infiltrativa, de formulações de anestésicos tópicos EMLA® (LDC 2,5% e PLC 2,5%), gel de Lidocaína 5% e gel de benzocaína 18%. Estas formulações foram testadas em 60 crianças na mucosa gengival vestibular superior. A sensibilidade dolorosa foi avaliada através da Escala Analógica Visual (EAV) após a punção com agulha e anestesia infiltrativa. A formulação EMLA creme mostrou-se superior na redução da dor em comparação com benzocaína e lidocaína.

Al-Melh & Andersson (2007) testaram duas formulações em dois grupos de 20 indivíduos cada. As formulações avaliadas foram o EMLA (LDC 2,5% e PLC 2,5%), e um gel de termoativado (Oraqix) e benzocaína. Os agentes tópicos foram aplicados sobre a mucosa do palato na região de canino, de um lado formulação teste e outro lado benzocaína (controle). Foi realizada uma punção anestésica em cada um dos lados a cada 2 minutos durante um período de 10 minutos. Os voluntários registraram a sensibilidade dolorosa usando EAV. A aplicação tópica de EMLA e Oraqix foram associadas a menor dor após a punção palatina quando comparadas com a benzocaína.

4.2. Validação da Metodologia Analítica

Operando o espectrômetro de massas em modo positivo obteve-se o espectro de massa da prilocaína e lidocaína, a figura 3 e 4 apresentam o espectro de EM (A) e EM/EM (B) respectivamente para a prilocaína e lidocaína. A figura 5 mostra o espectro de EM (A) e EM/EM (B) para a bupivacaína PI.

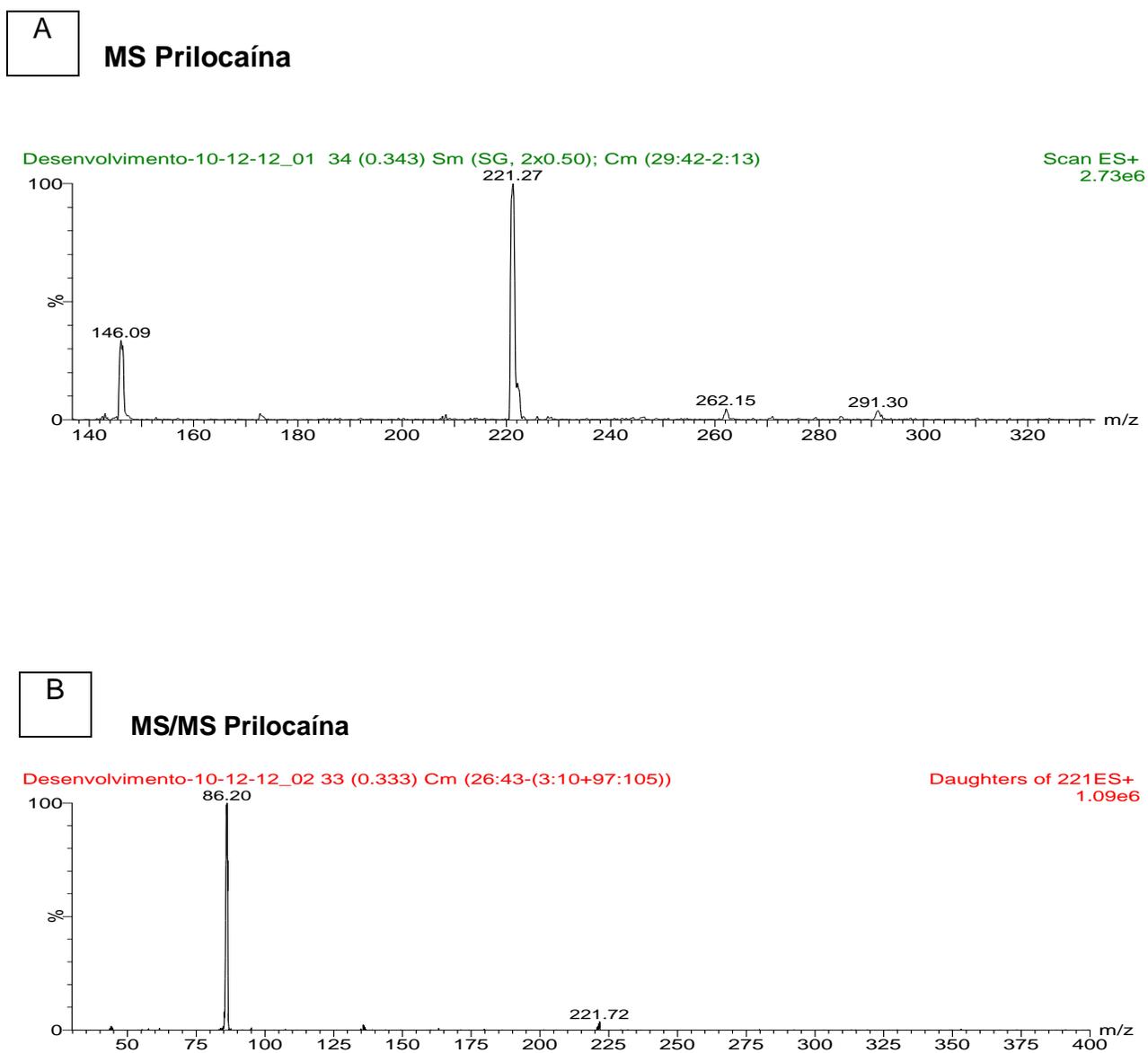
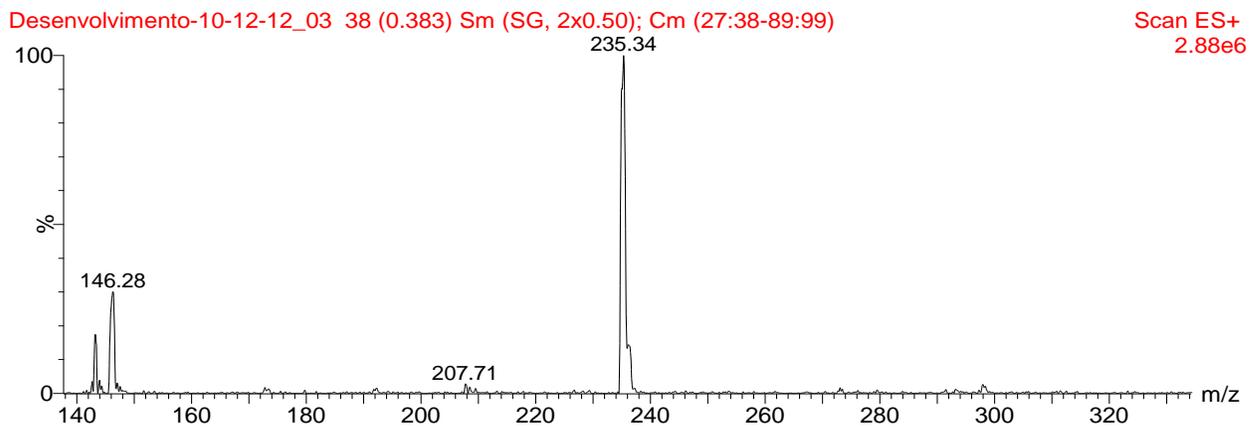


Figura 3: (A) Espectro de massas na função EM e (B) Espectro de EM/EM para prilocaína.

A MS Lidocaína



B MS/MS Lidocaína

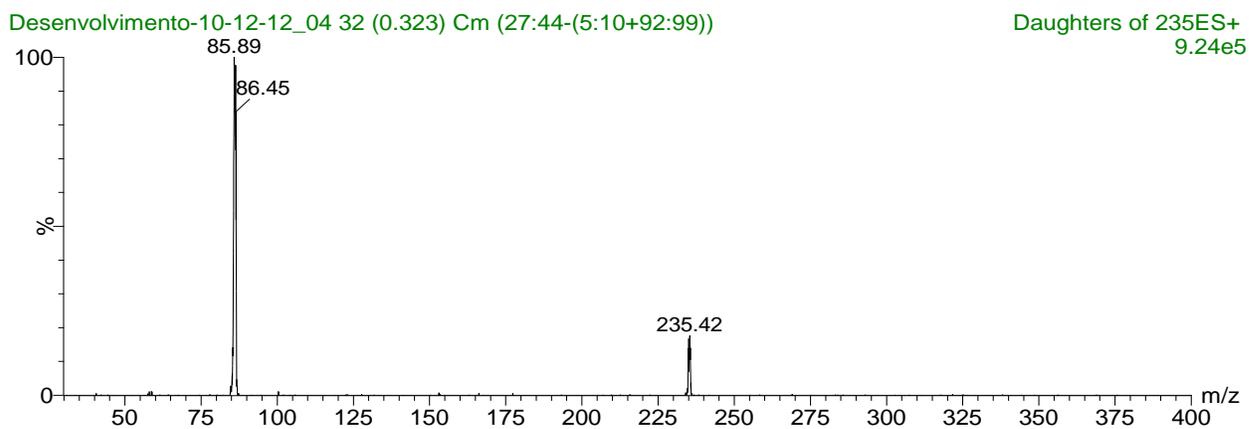
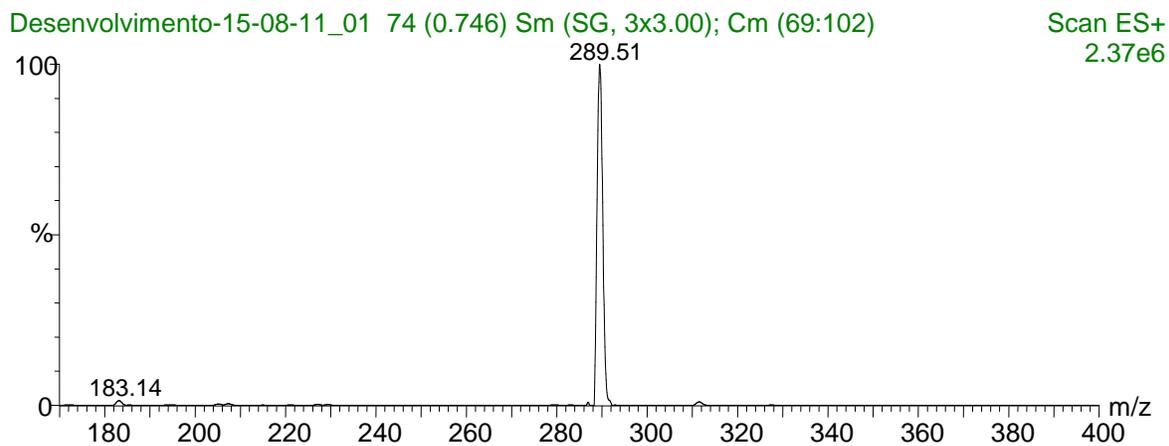


Figura 4: (A) Espectro de massas na função EM e (B) Espectro de EM/EM para lidocaína.

A

MS Bupivacaína



B

MS/MS Bupivacaína

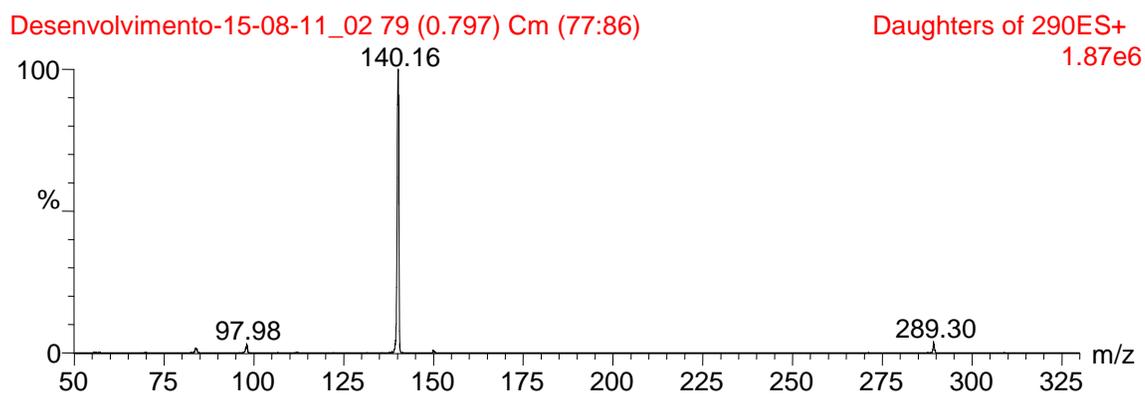


Figura 5: (A) Espectro de massas na função MS e (B) Espectro de MS/MS para o PI.

A especificidade do método foi verificada, separadamente para lidocaína e prilocaína, com amostras de plasma (branco) obtidas dos voluntários, sendo quatro amostras normais, uma com o plasma lipêmico e a outra hemolisada. Não foram encontradas interferências no tempo de retenção dos fármacos e padrão interno utilizando-se os procedimentos de extração e as condições cromatográficas propostas.

A curva de calibração para LDC e PLC foi gerada através da análise de quantidades crescentes dos fármacos. As concentrações foram definidas em testes preliminares, incluindo a primeira quantificação de amostras, levando-se em consideração a sensibilidade do método e a faixa prevista das concentrações das amostras a serem determinadas. Para ambos os fármacos foi observada uma resposta adequada na faixa de 0,3 a 50 ng/mL. A curva de calibração apresentou excelente linearidade com coeficiente de correlação $r = 0.99$ para os dois anestésicos utilizados. Os desvios observados foram menores que 20% em relação à concentração nominal para o Limite de quantificação ($LQ = 0,3$ ng/mL) e menores que 15% em relação à concentração nominal para as outras concentrações da curva de calibração. A Tabela 6 mostra os valores de concentração obtidos com as curvas de calibração obtida nestes experimentos.

Tabela 6: Curva de calibração (linearidade) – lidocaína e prilocaína (n=9).

Fármaco	Concentração nominal (ng/mL)	Concentração média experimental (ng/mL)	CV (%)	Exatidão (%)
Lidocaína	0,3	0,298	2,906	99,333
Lidocaína	1,0	1,013	10,370	101,333
Lidocaína	5,0	5,266	4,455	105,313
Lidocaína	10,0	9,911	3,637	99,113
Lidocaína	30,0	29,256	3,905	97,520
Lidocaína	50,0	48,682	5,482	97,363
Prilocaína	0,3	0,306	0,997	102,111
Prilocaína	1,0	0,919	4,066	91,900
Prilocaína	5,0	5,201	2,556	104,020
Prilocaína	10,0	10,554	4,881	105,543
Prilocaína	30,0	30,555	0,577	101,849
Prilocaína	50,0	47,957	4,867	95,913

Equação da curva de calibração 1 (LDC): $y = 0,00173346x + 0,000196634$ ($r = 0,99$);
Equação da curva de calibração 2 (LDC): $y = 0,00176589x + 0,000125025$ ($r = 0,99$);
Equação da curva de calibração 3 (LDC): $y = 0,00182142x + 0,000134061$ ($r = 0,99$).
Equação da curva de calibração 1 (PLC): $y = y = 0,000492579x + 0,00019464$ ($r = 0,99$);
Equação da curva de calibração 2 (PLC): $y = 0,000504482x + 0,000133055$ ($r = 0,99$);
Equação da curva de calibração 3 (PLC): $y = 0,000490161x + 4,17083e-005$ ($r = 0,99$).

A precisão e exatidão do método utilizado foram calculados pelas variações intra e inter-lote de três concentrações distintas de LDC e PLC, alta (CA 40 ng/mL), média (CM 20 ng/mL) e baixa (CB 0,9 ng/mL), utilizando-se várias determinações por concentração. A precisão e a exatidão foram determinadas em um mesmo lote (intra-lote) e em lotes diferentes (inter-lotes). A precisão intra-lotes de LDC apresentou valores na faixa de 0,45 a 9,41% e a inter-lotes de 3,90 a 8,50%. A exatidão para LDC apresentou valores de 94,55 a 104,82% (intra-lotes) e 98,97 a 100,71% (inter-lotes).

Para a PLC a precisão intra-lotes foi de 1,84 a 10,68% e a inter-lotes de 4,91 a 8,98% e a exatidão apresentou valores de 94,92 a 104,65% (intra-lotes) e 97,58 a 98,97% (inter-lotes).

O Limite de quantificação (LQ) foi determinado como o menor valor mensurável de LDC e PLC com um desvio padrão de 20% e exatidão entre 80-120% em relação à concentração nominal do padrão, através da análise de, no mínimo, cinco amostras de padrões. O LQ para ambos os fármacos foi de 0,3 ng/mL. Para LDC a precisão intra-lotes do LQ apresentou valores na faixa de 5,55% a 11,10% e a exatidão valores de 96,86% a 108,53%. A análise de precisão e exatidão inter-lotes do LQ da LDC apresentou exatidão de 101,67% e precisão de 10,24%. Precisão e exatidão intra-lotes do LQ da PLC apresentaram valores na faixa de 5,23 a 12,04% e 98,26% a 101,93%, respectivamente. Precisão e exatidão inter-lotes do LQ da PLC apresentaram valores de 9,87% e 103,68%, respectivamente.

Os resultados obtidos na validação do método estão de acordo com os preceitos da resolução 899 de 2003 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e indicam que os métodos são altamente específicos e seletivos na faixa analítica avaliadas para os dois fármacos. Além disso, o método descrito provou ser rápido (tempo de corrida analítica de 2,5 minutos) e adequado para dosagens de lidocaína e prilocaína.

4.3. Determinação da concentração plasmática e parâmetros farmacocinéticos

As concentrações plasmáticas de lidocaína e prilocaína obtidas após a administração na mucosa oral dos Bioadesivo 1,25% e Bioadesivo 2,50% não apresentaram diferenças significativas entre si ($p > 0,05$). Assim como não ocorreram diferenças nas concentrações dos dois anestésicos com a aplicação do creme nas duas dosagens utilizadas no estudo ($p > 0,05$). Porém, os dois sistemas de bioadesivos apresentaram menores concentrações plasmáticas de lidocaína e prilocaína quando comparados com as formulações em creme ($p < 0,05$). Com a lidocaína estes resultados foram observados em todos os tempos avaliados (360 min) e com a prilocaína os resultados observados ocorreram até o tempo de 180 min. Após o tempo 180 as

concentrações de prilocaína não apresentaram diferenças entre as quatro formulações ($p>0,05$).

As tabelas 7 e 8 apresentam as concentrações de lidocaína e prilocaína (ng/ml) obtidas após a administração tópica na mucosa oral das diferentes formulações nos 15 voluntários testados. As figuras 6 e 7 apresenta o gráfico de concentração plasmática média *versus* o tempo após a aplicação das formulações testadas para lidocaína e prilocaína.

Tabela 7: Concentração (média \pm desvio padrão) de lidocaína (ng/mL), após a administração das diferentes formulações.

Tempo	EMLA® 60mg	Bioadesivo 1,25%	Bioadesivo 2,50%	EMLA® 10mg
0	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
15	4,86 \pm 5,08 a, b***	0,17 \pm 0,47 e***	0,00 \pm 0,00 f***	3,57 \pm 2,65
30	5,34 \pm 4,59 a, b***	0,00 \pm 0,00 e***	0,00 \pm 0,00 f***	3,82 \pm 3,08
45	4,80 \pm 4,41 a, b***	0,02 \pm 0,10 e***	0,00 \pm 0,00 f***	3,43 \pm 3,25
60	3,86 \pm 3,25 b***	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00 f***	2,75 \pm 2,37
90	3,05 \pm 2,27a, b***	0,04 \pm 0,01 e***	0,08 \pm 0,33 f***	2,49 \pm 2,05
120	1,80 \pm 1,29 a, b***	0,00 \pm 0,00 e***	0,00 \pm 0,00 f***	1,84 \pm 1,44
180	1,29 \pm 0,82 a, b***	0,00 \pm 0,00 e***	0,00 \pm 0,00 f***	1,70 \pm 2,65
240	1,79 \pm 3,18 a, b***	0,00 \pm 0,00 e***	0,00 \pm 0,00 f***	1,70 \pm 3,49
300	1,15 \pm 1,09 a, b***	0,00 \pm 0,00 e**	0,00 \pm 0,00 f**	1,35 \pm 2,65
360	0,69 \pm 0,48 a, b***	0,00 \pm 0,00 e**	0,00 \pm 0,00 f**	0,69 \pm 0,79

Nota: Análise Estatística: $p < 0,001$ [***], $p < 0,01$ [**], $p < 0,05$ [*], $p > 0,05$ [não significativo].

ANOVA/Kruskal-Wallis

a Emla® 60mg x Bioadesivo 1,25%

d Bioadesivo 1,25% x Bioadesivo 2,50%

b Emla® 60mg x Bioadesivo 2,50%

e Bioadesivo 1,25% x Emla® 10mg

c Emla® 60mg x Emla® 10mg

f Bioadesivo 2,50% x Emla® 10mg

Tabela 8: Concentração (média \pm desvio padrão) de prilocaína (ng/mL), após a administração das diferentes formulações.

Tempo	EMLA® 60mg	Bioadesivo 1,25%	Bioadesivo 2,50%	EMLA® 10mg
0	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
15	1,88 \pm 1,94 a, b, ^{***}	0,07 \pm 0,19 e ^{***}	0,00 \pm 0,00 f ^{***}	0,79 \pm 1,33
30	1,91 \pm 1,57 a, b ^{***}	0,00 \pm 0,00 e ^{***}	0,00 \pm 0,00 f ^{***}	0,53 \pm 1,37
45	1,53 \pm 1,31 a, b ^{***}	0,00 \pm 0,00 e ^{***}	0,00 \pm 0,00 f ^{***}	0,56 \pm 1,34
60	1,15 \pm 1,00 a, b ^{***}	0,00 \pm 0,00 e ^{***}	0,02 \pm 0,00 f ^{***}	0,36 \pm 0,98
90	1,50 \pm 2,57 a, b ^{***}	0,00 \pm 0,00 e ^{***}	0,08 \pm 0,33 f ^{**}	0,39 \pm 0,69
120	0,33 \pm 0,40 a [*]	0,00 \pm 0,00 e ^{***}	0,06 \pm 0,13 f ^{***}	0,00 \pm 0,63
180	0,27 \pm 0,27 a, b ^{**}	0,00 \pm 0,00 e [*]	0,02 \pm 0,08 f [*]	0,00 \pm 1,28
240	0,29 \pm 0,64	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 2,24
300	0,24 \pm 0,50	0,00 \pm 0,00	0,02 \pm 0,08	0,00 \pm 1,66
360	0,050 \pm 0,13	0,00 \pm 0,00	0,06 \pm 0,12	0,00 \pm 0,61

Nota: Análise Estatística: $p < 0,001$ [***], $p < 0,01$ [**), $p < 0,05$ [*], $p > 0,05$ [não significativo].

ANOVA/Kruskal-Wallis

a Emla® 60mg x Bioadesivo 1,25%

d Bioadesivo 1,25% x Bioadesivo 2,50%

b Emla® 60mg x Bioadesivo 2,50%

e Bioadesivo 1,25% x Emla® 10mg

c Emla® 60mg x Emla® 10mg

f Bioadesivo 2,50% x Emla® 10mg

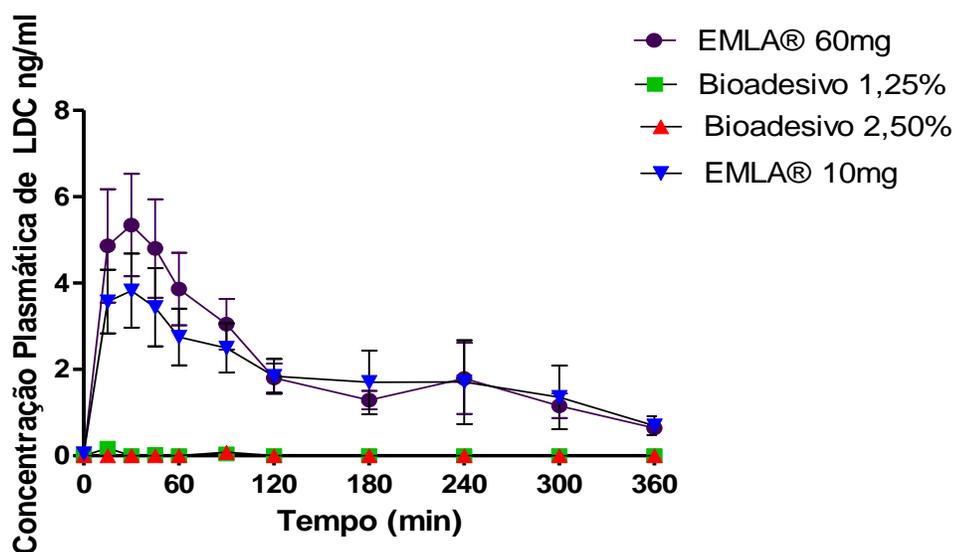


Figura 6: Curva da concentração plasmática de lidocaína média *versus* tempo após a administração de mistura eutética EMLA® 60 mg, Bioadesivo 1,25%, Bioadesivo 2,50% e mistura eutética EMLA® 10 mg (tempo zero representa o valor obtido antes da aplicação tópica na mucosa oral) ($p>0,05$).

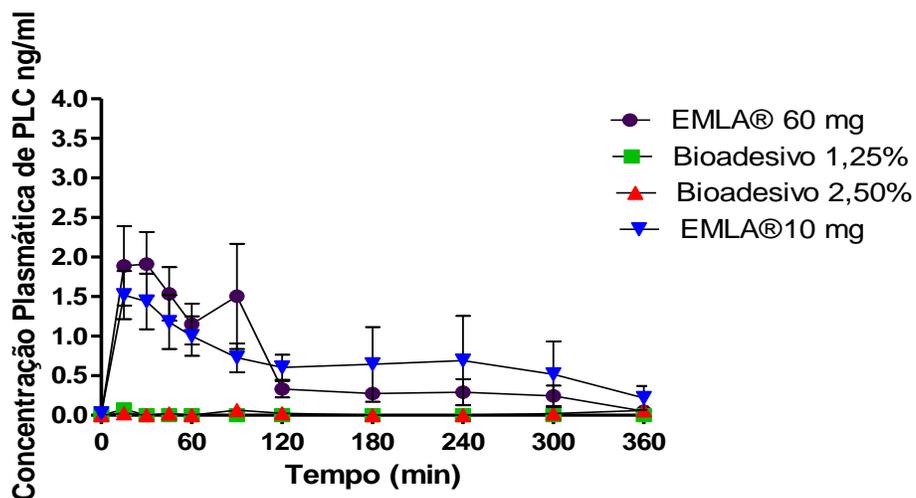


Figura 7: Curva da concentração plasmática de prilocaína média *versus* tempo após a administração de mistura eutética EMLA® 60 mg, Bioadesivo 1,25%, Bioadesivo 2,50% e mistura eutética EMLA® 10 mg (tempo zero representa o valor obtido antes da aplicação tópica na mucosa oral) ($p>0,05$).

A tabela 9 representa os valores dos parâmetros farmacocinéticos (C_{max} , T_{max} , ASC_{0-t} , $t_{1/2}$) obtidos com as formulações de EMLA®. Os parâmetros farmacocinéticos das formulações em bioadesivos não foram determinados pois as concentrações plasmáticas dos anestésicos eram nulas na maior parte dos períodos avaliados.

Com relação ao perfil farmacocinético observou-se que não houve diferença significativa entre as formulações EMLA®-60 mg e EMLA®-10 mg tanto para lidocaína quanto prilocaína em relação à concentração plasmática máxima (C_{max}), tempo de meia vida ($T_{1/2}$), (T_{max}) e área sobre a curva (AUC_{0-t}).

Tabela 9: Parâmetros farmacocinéticos da lidocaína e prilocaína após a aplicação tópica na mucosa oral das formulações EMLA® 60mg e EMLA® 10mg lidocaína.

Parâmetros farmacocinéticos	Lidocaína		Prilocaína	
	EMLA® 60mg	EMLA® 10mg	EMLA® 60 mg	EMLA® 10mg
$T_{1/2}$ (min)	343,31 ± 532,29	345,62 ± 864,77	10,68 ± 39,96	20,80 ± 46,68
$T_{máx}$ (min)	62,00 ± 97,19	37,00 ± 56,93	64,00 ± 94,46	39,00 ± 54,71
$C_{máx}$ (ng/mL)	5,94 ± 4,61	4,20 ± 3,97	5,04 ± 2,52	3,04 ± 2,77
$AUC_{(0-360)}$ (ng.min/mL)	758,55 ± 607,06	567,41 ± 665,78	240,42 ± 164,46	371,52 ± 439,54

Nota: Análise Estatística Anova/Wilcoxon: $p < 0,001$ [***], $p < 0,01$ [**], $p < 0,05$ [*], $p > 0,05$ [não significativo].

Outros estudos avaliaram formulações de anestésico tópico na forma de adesivos aplicados em animais, os adesivos permaneceram mais tempo aplicados na pele prolongando assim o efeito do anestésico. Estes autores também avaliaram a efetividade e perfil farmacocinético dessas formulações (Bidwell *et al.*, 2007; Ko, *et al.*, 2008).

Bidwell *et al.* (2007) avaliaram a farmacocinética da lidocaína (930 mg) incorporada em um sistema de adesivos medindo 10 x 14 cm aplicado sobre a pele de

cavalos (n=6), na região de pata dianteira direita. Amostras de sangue foram coletadas durante um período de 12 horas após a aplicação do adesivo. A presença de lidocaína no soro foi determinada através do teste ELISA. Os resultados mostraram baixas concentrações de LDC no soro dos animais, e os autores concluíram que o uso de lidocaína incorporada no adesivo é seguro, por não apresentarem toxicidade sistêmica.

Ko *et al.* (2008) observaram a distribuição sistêmica da lidocaína na (700 mg) incorporada em sistema de adesivo medindo 10 x 14 cm. O adesivo foi aplicado sobre a pele de gatos (n=7) na região de tórax por um período de 72 horas, amostras de sangue foram coletadas, e após 72 horas foi realizada biópsia na pele dos animais para a quantificação local da lidocaína. As concentrações de lidocaína encontrada na pele e na circulação apresentavam comportamentos distintos, na pele a concentração era alta e na circulação baixa. Os autores observaram que o anestésico incorporado no adesivo promoveu maior tempo de anestesia local do que a formulação intravenosa. Os resultados do presente estudo também demonstraram a efetividade do sistema de adesivos, além de uma baixa absorção sistêmica.

Apesar das diferenças metodológicas, o presente estudo também apresentou resultados que demonstraram a baixa absorção sistêmica de AL incorporada em um sistema de adesivos. A baixa absorção sistêmica associada à efetividade anestésica indica a possibilidade de futuro uso clínico das formulações de bioadesivos com LDC e PLC.

5. CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos podemos concluir que:

- O Bioadesivo 2,5% promoveu anestesia de tecidos moles de duração similar ao EMLA® em duas dosagens distintas (10 e 60 mg).
- As formulações de Bioadesivos (1,25 e 2,5%) apresentaram concentrações plasmáticas extremamente baixas ou inexistentes, evidenciando a baixa absorção sistêmica dos anestésicos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adriani, J.; Campbell, D. Fatalities following topical application of local anesthetics to mucous membranes. **JAMA**, 162: 1527–1530, 1956.

Al-Melh, M. A.; Andersson, L. Comparison of topical anesthetics (EMLA / Oraqix vs benzocaine) on pain experienced during palatal needle injection. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, 103: e16-e20, 2007.

Araujo, D. R.; De Paula, E.; Fraceto, L.F. Anestésicos locais: Interação com membranas biológicas e com o canal de sódio voltagem-dependente. **Quim. Nova**, Vol. 31, No. 7, 1775-1783, 2008.

Araujo, D. R.; Padula, C.; Cereda, C. M. S.; Tofoli, G. R.; Brito, R. B Jr.; de Paula, E.; Nicoli, S.; Santi, P. Bioadhesive Films Containing Benzocaine: Correlation Between *In Vitro* Permeation and *In Vivo* Local Anesthetic Effect. **Pharm Res**, 27 (8), 1677-1686, 2010.

Arpey, C. J.; Lynch, W. S. *Advances in Local Anesthesia*. Elsevier Science Publishing Co., Inc. | 0738-081x92, 1992.

Balaguer-Fernández, C.; Padula, C.; Femenía-Font, A.; Merino, V.; Santi, P.; López-Castellano, A. Development and evaluation of occlusive systems employing polyvinyl alcohol for transdermal delivery of sumatriptan succinate. **Drug Deliv**, 17(2): 83-91, 2010.

Bender, I. B.; Landau, M. A.; Fonseca, S.; Trowbridge, H. O. The optimum placement-site of the electrode in electric pulp testing of the 12 anterior teeth. **J Am Dent Ass**, 118 (3): 305-310, 1989.

Berde, C. B.; Strichartz, G. R. Local anesthetics. In: Miller, R. D.; Eriksson, L. I.; Fleisher, L. A, *et al*, eds. **Miller's Anesthesia**. Philadelphia: Elsevier, Churchill Livingstone; 2009.

Bidwell, D. V. M.; Debbie, V. W.; Caron, J. P. Lack of systemic absorption of lidocaine from 5% patches placed on horses. **Large Animal Clinical Sciences**, 34 (6): 443–446, 2007.

Bourne, T. M.; Raphael, J. H.; Tordoff, S. G. Anaesthesia for a patient with tracheobronchomegaly (Mounier-Kuhn syndrome). **Anaesthesia**, 50 (6): 545-546, 1995.

Brook, I. M.; Tucker, G. T.; Tuckley, E. C.; Boyes, R. N. A linocaine patch for dental analgesia safety and early pharmacology. **J Control Release**, 10,() 183–188, 1989.

Cáceres, M. T. F.; Ludovice, A. C. P. P.; Brito, F. S.; Darrieux, F. C.; Neves, R. S.; Scanavacca, M. I.; Sosa, E. A.; Hachul, D. T. Effect of Local Anesthetics with and without Vasoconstrictor Agent in Patients with Ventricular Arrhythmias. **Arg Bras Cardiol**, 91 (3): 128-147, 2008.

Calvallari, C.; Fini, A.; Ospitali, F. Mucoadhesive multiparticulate patch for the intrabuccal controlled delivery. **Eur J Pharm Biopharm**, 16 (12): 2012.

Carr, M. P.; Horton, J. E. Clinical evaluation and comparison of 2 topical anesthetics for pain caused by needle insertion and scaling and root planning. **J Periodontol**, 72 (4): 479-484, 2001a.

Carr, M. P.; Horton, J. E. Evaluation of a transoral delivery system for topical anesthesia. **J Am Dent Assoc**, 132 (12):1714-1719, 2001 b.

Carvalho, J. C. A. Farmacologia dos anestésicos locais. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, 44 (1): 75-82, 1994.

Certosimo, A. J.; Archer, R. D. A clinical evaluation of the electric pulp tester as an indicator of local anesthesia. **Operative Dent.**, 21 (1): 25-30, 1996.

Chan, A.; Armati, P.; Moorthy, A. P. Pulsed Nd: YAG laser induces pulpal analgesia: a randomized clinical trial. **J Dent Res**, 91(7 Suppl):79-84, 2012.

Cho, C. W.; Choi, J. S.; Shin, S. C. Enhanced local anesthetic action of mepivacaine from the bioadhesive gels. **Park J Pharm**, 24 (1): 87-93, 2011.

Cooley, R. L.; Stillely, L.; Lubow, R. M. Evaluation of a digital pulp tester. **Oral Surg**, 58 (4): 437-42, 1984.

Dal Santo, F.; Ellis, E. 3rd.; Throckmorton, G. S. The effects of zygomatic complex fracture on masseteric muscle force. **J Oral Maxillo fac Surg**, 50 (8): 791-799, 1992.

de Araujo, D. R.; Padula, C.; Cereda, C. M.; Tófoli, G. R.; Brito, R. B, Jr.; de Paula, E.; Nicoli, S.; Santi, P. Bioadhesive films containing benzocaine: correlation between *in vitro* permeation and *in vivo* local anesthetic effect. **Pharm Res**, 27 (8): 1677-86, 2010.

Deepika, .A; Rao, C.R; Vinay, C; Uloopi, K.S; Rao, V.V. Effectiveness of two flavored topical anesthetic agents in reducing injection pain in children: a comparative study. **J Clin Pediatr Dent**. 2012 Fall;37(1):15-8

Drachman, D.; Strichartz, G. Potassium channel blockers potentiate impulse inhibition by local anesthetics. **Anesthesiology**, 75 (6): 1051-1061, 1991.

Eggleston, S. T.; Lush, L. W. Understanding allergic reactions to local anesthetics. **Ann Pharmacotherapy**, 30 (7-8): 851-857, 1996.

Eidelman, A.; Weiss, J. M.; Lau, J.; Carr, D. B. Topical anesthetics for dermal instrumentation: a systematic review of randomized, controlled trials. **Ann Emerg Med**, 46 (4): 343-351, 2005.

Faria, F. A. C.; Marzola, C. **Farmacologia dos anestésicos locais – considerações gerais**: Curitiba. BCI, 2001. p.19-30.

Femenía-Font, A.; Padula, C.; Marra, F.; Balaguer-Fernández, C.; Merino, V.; López-Castellano, A.; Nicoli, S.; Santi, P. Bioadhesive monolayer film for the *in vitro* transdermal delivery of sumatriptan. **J Pharm Sci**, 95 (7): 1561-1569, 2006.

Fraceto, L. F.; De Paula, E. Interação de anestésicos locais com lipossomos determinada por espectroscopia de infravermelho. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl**, 27 (1): 27-35, 2006.

Franz-Montan, M.; Silva, A. L.; Cogo, K.; Bergamaschi, C de C.; Volpato, M. C.; Ranali, J.; de Paula, E.; Groppo, F. C. Liposome-encapsulated ropivacaine for topical anesthesia of human oral mucosa. **Anesth Analg.**, 104 (6): 1528-1531, 2007.

Franz-Montan, M.; Cereda, C.M.; Gaspari, A.; da Silva, C.M.; de Araújo, D.R.; Padula, C.; Santi, P; Narvaes, E.; Novaes, P.D.; Groppo, F.C. Liposomal-benzocaine gel formulation: correlation between in vitro assays and in vivo topical anesthesia in volunteers. **EJ Liposome.**, 23(1):54-60, 2012.

Fukuyama, H.; Suzuki, N.; Umino, M. Comparison of topical anesthesia of 25% benzocaine and 60% lidocaine gel. **Oral Surg Oral Med Oral Path Oral Radiol Endodont**, 94 (2): 157–161, 2002.

Giddon, D. B.; Quadland, M.; Rachwall, P. C.; Springer, J.; Tursky, B. Development of method for comparing topical anesthetics in different application and dosage forms. **J. Oral Ther Pharm**, 4 (4): 270–274, 1968.

Hass, D. A. A update no local anesthetics in dentistry. **J Assoc**, 68 (9): 546-51, 2002.

Hersh, E. V.; Houpt, M. I.; Cooper, S. A.; Feldman, R. S.; Wolff, M. S.; Levin, L. M. Analgesic efficacy and safety of an intraoral lidocaine patch. **J Am Dent Assoc**, 127 (11): 1626-1634, 1996.

Holst, A.; Evers, H. Experimental studies of new topical anesthetics on the oral mucosa. **Swed Dent J**, 9 (5): 185–191, 1985.

Hutchins, H. S.; Young, F. A.; Lackland, D. L.; Fishburne, C. P. The effectiveness of topical anesthesia and vibration in alleviating the pain of oral injections. **Anesth Prog**, 44 (3): 87– 89, 1997.

Jensen, M. P.; Karoly, P.; Braver, S. The measurement of clinical pain intensity: a comparison of six methods. **Pain**, 27 (1): 117-126, 1986.

Katzung, B. G.; White, P. F. Local anesthetics. *In*: Katzung, B. G.; Masters, S. B.; Trevor, A. J. **Basic and Clinical Pharmacology**. New York: McGraw-Hill Companies Inc, 2009.

Ko, J. C. H.; Maxwell, L. K.; Abbo, L. A.; Weil, A. B. Pharmacokinetics of lidocaine following the application of 5% lidocaine patches to cats. **J Vet Pharmacol Therap**, 31 (4): 359–367, 2008.

Koller, M. F.; Papassotiropoulos, A.; Henke, K.; Behrends, B.; Noda, S.; Kratzer, A.; Hock, C.; Hofmann, M. Evidence of a genetic basis of Morgagni-Stewart-Morel syndrome. A case report of identical twins. **Neurodegener Dis**, 2 (2): 56-60, 2005.

Kuthiala, G.; Chaudhary, G. Ropivacaine: A review of its pharmacology and clinical use. **Indian J Anaesth**, 55 (2): 104-110, 2011.

Leopold, A.; Wilson, S.; Weaver, J. S.; Moursi, A. M. Pharmacokinetics of Lidocaine Delivered From a Transmucosal Patch in Children. **Anesth Prog.**, 49 (3) :82-87, 2002.

Malamed, S. F. **Manual de anestesia local**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.

Malamed, S. F. **Manual de anestesia local**. São Paulo: Elsevier, 2004.

Malamed, S. F. **Manual de anestesia local**. São Paulo: Elsevier, 2005.

Mascarenhas, M. I.; Silva, S. L.; Mendes, A.; Santos, A. S.; Pedro, E.; Barbosa, M. B. Alergia aos anestésico locais. **Acta Med Port**, 24 (2): 293-298, 2011.

McLean, C.; Reader, A.; Beck, M.; Meryers, W. J. An evaluation of 4% prilocaine and 3% mepivacaine compared with 2% lidocaine (1:100.000 epinephrine) for inferior alveolar nerve block. **J Endod**, 19 (3): 146-150, 1993.

McMillan, A. S.; Walshaw, D.; Meechan, J. G. The efficacy of Emla and 5% lignocaine gel for anesthesia of human gingival mucosa. **Br J Oral Maxillofac Surg**, 38 (1): 58-61, 2000.

Meechan, J. G. Intraoral topical anesthesia. **Periodontol** 2000, 46:56-79, 2008.

Meechan, J. G.; Donaldson, D. The intraoral use of EMLA cream in children: a clinical investigation. **J Dent Child**, 61 (4): 260–262, 1994.

Meechan, J. G.; Thomason, J. M. A comparison of 2 topical anesthetics on the discomfort of intraligamentary injections: a double-blind, split-mouth volunteer clinical trial. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, 87 (3): 362–365, 1999.

Miller, R. D.; Hondeghem, L. M. Anestésicos Locais. *In* Katzung, B. G. **Farmacologia básica e clínica**. Rio de Janeiro: AMGH Editora, 2010. p. 301-307.

Moyses, N. A.; Junior, N. L. F.; Rehder, J. R. C. L. Efficacy of EMLA® cream application for pain relief of periorcular botulinum toxin injections, 2011.

Muri, E. M. F.; Sposito, M. M. M.; Metsavaht, L. Efeitos secundários parcialmente desejáveis dos anestésicos locais. **Acta Fisiatr**, 17(1): 28-33, 2010.

Nakanishi, O.; Haas, D.; Ishikawa, T.; Kameyama, S.; Nishi, M. Efficacy of mandibular topical anesthesia varies with the site of administration. **Anesth Prog**, 43 (1): 14-19, 1996.

Nascimento, T.S; Pereira, R.O; Mello, H.L.D; Costa, J. Metemoglobinemia: do Diagnóstico ao Tratamento. **Rev Bras Anesthesiol**, 58: 6: 651-664, 2008.

Nayak, R.; Sudha, P. Evaluation of three topical anaesthetic agents against pain. **Indian J Dent Res**, 17 (4): 155-160, 2006.

Neal, J. M.; Bernards, C.M; Butterworth, J.F; Gregorio, G.; Drasner, K.; Hejtmanek, M.R.; Mulroy, M.F.; Rosenquist, R.W.; Weinberg, G.L. ASRA Practice Advisory on Local Anesthetic Systemic Toxicity. **Regional Anesthesia and Pain Medicine** & Volume 35, Number 2, 2010.

Netter, F. H. **Atlas de anatomia humana**. Porto Alegre: Artes Médicas, 2000.525p.

Nettis, E.; Napoli, G.; Ferrannini, A.; Tursi, A. The incremental challenge test in the diagnosis of adverse reactions to local anesthetics. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, 91(4):402-5 2001.

Nicoli, S.; Colombo, P.; Santi P. Release and permeation kinetics of caffeine from bioadhesive transdermal films. **AAPS J**; 7(1): 218-223, 2005.

Nicoli, S.; Penna, E.; Padula, C.; Colombo, P.; Santi, P. New transdermal bioadhesive film containing oxybutynin: *In vitro* permeation across rabbit ear skin. **Int J Pharm**, 325(1-2): 2-7, 2006.

Padula, C.; Colombo, G.; Nicoli, S.; Catellani, P. L.; Massimo, G.; Santi, P. Bioadhesive film for the transdermal delivery of lidocaine: *in vitro* and *in vivo* behavior. **J Control Release**, 88 (2): 277-285, 2003.

Padula, C.; Fulgoni, A.; Santi, P. *In vivo* stratum corneum distribution of lidocaine, assessed by tape stripping, from a new bioadhesive film. **Skin Res Technol**, 16 (1): 125-130, 2010.

Padula, C.; Nicoli, S.; Aversa, V.; Colombo, P.; Falson, F.; Pirot, F.; Santi, P. Bioadhesive film for dermal and transdermal drug delivery. **Eur J Dermatol**, 17 (4): 309-312, 2007a.

Padula, C.; Nicoli, S.; Colombo, P.; Santi, P. Single-layer transdermal film containing lidocaine: modulation of drug release. **Eur J Pharm Biopharm**, 66 (3): 422-428, 2007b.

Paschoal, M. A.; Cordeiro, R. C. L.; Santos-Pinto, L. Utilização de pontas ultrassônicas CVD no manejo do paciente pediátrico. **J Health Sci Ins**, 29(4): 254-256, 2011.
Primosch, R. E.; Rolland-Asensi G. Comparison of topical EMLA 5% oral adhesive to benzocaine 20% on the pain experienced during palatal anesthetic infiltration in children. **Pediatr Dent**, 23 (1): 11-14, 2001.

Rang, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, J. M. **Farmacologia**. Elsevier, 2007. p.530-539.

Scott, D. B.; Littlewood, D. G.; Covino, B. G.; Drummond, G. B. Plasma lidocaine concentrations following endotracheal spraying Plasma lidocaine concentrations following endotracheal spraying with an aerosol. **Br J Anaesth**, 48 (9): 899-902, 1976.

Smith, D. W.; Peterson, M. R.; DeBerard, S. C. Local anesthesia:topical application, local infiltration and field block. **Postgraduate Med**, 106 (2): 57-66, 1999.

Stecker, S. S.; Swift, J. Q.; Hodges, J. S.; Erickson, P. R. Should a mucoadhesive patch (DentiPatch) be used for gingival anesthesia in children? **Anesth Prog**, 49 (1): 3-8, 2002.

Svensson, P.; Petersen, J. K.; Svensson, H. Efficacy of a topical anesthetic on pain and unpleasantness during scaling of gingival pockets. **Anesth Prog**, 41(2): 35-39, 1994.

Tadicherla, S.; Berman, B. Percutaneous dermal drug delivery for local pain control. **Ther Clin Risk Manag**, 2 (1): 99-113, 2006.

Taware, C. P.; Mazumdar, S.; Pendharkar, M.; Adani, M. H.; Devarajan, P. V. A bioadhesive delivery system as an alternative to infiltration anesthesia. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, 84 (6): 609-615, 1997.

Thyssen, J. P.; Menné, T, Elberling, J.; Plaschke, P.; Johansen, J. D. Hypersensitivity to local anesthetics – update and proposal of evaluation algorithm. **Contact Dermatitis**, 59 (2): 69-78, 2008.

Tofoli, G. R.; Cereda, C. M.; Groppo, F. C.; Volpato, M. C.; Franz-Montan, M.; Ranali, J.; de Araújo, D. R.; de Paula, E. Efficacy of liposome-encapsulated mepivacaine for infiltrative anesthesia in volunteers. **Journal of Liposome Research**, 21(1): 88-94, 2011.

Trapp, L.; Will, J. Acquired Methemoglobinemia. **Revisited Dent Clin N Am** 54665–675, 2010.

Vickers, E. R, Marzbani, N.; Gerzina, T. M.; McLean, C.; Punnia-Moorthy, A.; Mather, L. Pharmacokinetics of EMLA cream application to oral mucosa. **Anesth Pro**, 44 (1): 32-37, 1997.

Vickers, E. R.; Punnia Moorthy, A. A clinical evaluation of three topical anaesthetic agents. **Aust Dent J**, 37 (4): 266- 270, 1992.

Vickers, E. R.; Punnia Moorthy, A. Pulpal anesthesia from an application of a eutectic topical anesthetic. **Quintessence Int**, 24 (8): 547–551, 1993.

NEXO I



Comitê de Ética em Pesquisa – CEP

Bragança Paulista, 24 de Março de 2011

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Projeto de Pesquisa: Efetividade e determinação da concentração plasmática de formulações tópicas a base de lidocaína e prilocaína em mucosa oral

Curso: Odontologia

Grupo: III

Autor (es): Profª Giovana Tofoli; Profª Daniele Ribeiro de Araujo; Juliana Zampoli Boava Papini

Instituição: Universidade São Francisco

Protocolo CAAE: 0035.0.142.000-11

Prezado (a) (s) Pesquisador (a) (s),

O Comitê de Ética em Pesquisa – CEP, da Universidade São Francisco, analisou em reunião extraordinária dia **24/03/2011** o projeto de pesquisa supracitado, sob a responsabilidade de Vossa Senhoria.

Este Comitê, acatando o parecer do relator indicado, apresenta-lhe o seguinte resultado:

Marcelo Lima Ribeiro

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa - USF

Universidade São Francisco

Qualquer alteração no protocolo de pesquisa, deve ser comunicado e enviado ao CEP-USF.

Ao término do desenvolvimento do estudo o (a) pesquisador (a) responsável deverá enviar ao CEP-USF o relatório consolidado de conclusão do mesmo.

CÂMPUS DE BRAGANÇA PAULISTA Av. São Francisco de Assis, 218 - CEP 12916-900 Fone (11) 4034-8000 - FAX (11) 4034-1825

CÂMPUS DE CAMPINAS Rua Waldemar César da Silveira, 105 - Cura D'Arns CEP 13045-270 (19) 3779-3300.

CÂMPUS DE ITATIBA Rua Alexandre Rodrigues Barbosa, 45 - CEP 13251-900 Fone (11) 4534-8000 - FAX (11) 4524-1933

CÂMPUS DO PARI - SÃO PAULO Rua Hannemann, 352 - Pari - CEP 03031-040 Fone (11) 3315-2000 - FAX (11) 3315-2036