

Vanessa de Almeida Carvalho

**CARACTERIZAÇÃO DO DIACETATO DE CELULOSE
MODIFICADO COMO UM MATERIAL ALTERNATIVO
PARA DISPOSITIVO DE LIBERAÇÃO
MEDICAMENTOSA EM PERIODONTIA**

Dissertação apresentada à Faculdade
de Odontologia da Universidade
Federal de Uberlândia, para obtenção
do Título de Mestre em Odontologia –
Área de Concentração Clínica
Odontológica Integrada.

Uberlândia 2014

Vanessa de Almeida Carvalho

**CARACTERIZAÇÃO DO DIACETATO DE CELULOSE
MODIFICADO COMO UM MATERIAL ALTERNATIVO
PARA DISPOSITIVO DE LIBERAÇÃO
MEDICAMENTOSA EM PERIODONTIA**

Dissertação apresentada à Faculdade
de Odontologia da Universidade Federal
de Uberlândia, para obtenção do Título
de Mestre em Odontologia, Área de
Periodontia e Implantodontia.

Orientador: Prof. Dr. Denildo de Magalhães

Co-orientador: Prof. Dr. Reinaldo Ruggiero

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Denildo de Magalhães

Prof. Dr. Cláudia Jordão Silva

Prof. Dr. César Bataglione

Uberlândia 2014



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-graduação em Odontologia, Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia.

Defesa de: Dissertação de Mestrado Acadêmico nº263 - COPOD

Data: 27/02/2014

Discente: Vanessa de Almeida Carvalho, Matrícula: (11212ODO015)

Título do Trabalho .Caracterização do diacetato de celulose modificado como um material alternativo para dispositivo de liberação medicamentosa em periodontia.

Área de concentração: Clínica Odontológica Integrada.

Linha de pesquisa: Propriedades físicas e biológicas dos materiais odontológicos e das estruturas dentais

Projeto de Pesquisa de vinculação: Propriedades físicas e biológicas dos materiais odontológicos e das estruturas dentais

As **nove** horas do dia **vinte e sete de fevereiro do ano de 2014** no Anfiteatro Bloco 4L, Anexo A, Sala 23, Campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, reuniu-se a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em janeiro 2014, assim composta: Professores Doutores: Cláudia Jordão Silva (UFU); César Bataglion (USP); e Denildo de Magalhães (UFU) orientador(a) do(a) candidato(a) Vanessa de Almeida Carvalho

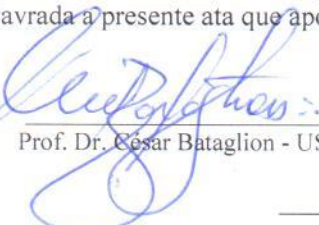
Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa Dr. Denildo de Magalhães apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(a)s, que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais.

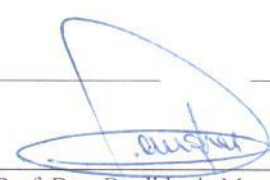
Em face do resultado obtido, a Banca Examinadora considerou o(a) candidato(a) a provado(a).

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos às 11 horas e 30 minutos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.


Prof. Dr. César Bataglion - USP


Profª. Dra. Cláudia Jordão Silva - UFU


Prof. Dr. Denildo de Magalhães - UFU
Orientador(a)



DEDICATÓRIA

À Deus, por me mostrar sempre o melhor caminho e me provar o quanto eu sou capaz.

Aos meus pais, Carmélio e Valdete, que se fazem presentes em todos os momentos da minha vida, sejam os bons e os ruins e que nunca deixaram de acreditar em mim.

Ao meu irmão, Raphael, que sempre esteve ao meu lado, me apoiando no que foi preciso. À minha cunhada Cínthia que torce por mim desde sempre.

À minha afilhada Laís, que mesmo tão pequenininha, enche minha vida de alegria e me dá esperança de um mundo melhor.

Ao meu amor, companheiro e namorado, Guilherme, que esteve sempre ao meu lado nessa jornada, me apoiando, e suportando todos os meus dias difíceis.

A todos os meus familiares, obrigada pelo carinho.

As minhas avós Dalva, que sempre reza por mim e Ana Abadia, que sempre me acompanhou e esteve presente em todos os momentos.

À vocês dedico esse trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao meu professor e orientador Dr. Denildo de Magalhães, que além de compartilhar todo o seu conhecimento e sabedoria profissionalmente, é um exemplo de pessoa e honestidade a ser seguida.

Ao professor Ms. Helder Henrique M. De Menezes que me proporcionava uma ampla visão do caminho a ser percorrido. À você tenho imensa gratidão por todos esses anos convividos.

À professora Ms. Marina de Melo Naves, que além de ser minha amiga, me fez ainda mais admirar-lhe pela competência que tem. Me mostrou sempre disposta a me ajudar. Não tenho palavras para agradecer.

Ao meu co-orientador professor Dr. Reinaldo Ruggiero que tantos conhecimentos me trouxe. Obrigada professor pela sua acolhida e por todo aprendizado na Química.

Ao Leandro, que além de um colega, esteve sempre ao meu lado durante a execução deste trabalho, com muita paciência e dedicação.

A minha amiga Watuse Miranda, que esteve ao meu lado nesse Mestrado em todos os momentos. A admiro muito por toda a sua vontade de crescer na vida e por toda sua dinamicidade.

A todos os meus colegas de turma do Mestrado, que de uma forma ou de outra me ajudaram a ser uma pessoa melhor.

A toda equipe da HD Ensinos Odontológicos.

Às minhas amigas, Ana Paula Rende, Carla Milken, Dayane Spirandelli, Gabriela do Vale, Julia Ferro, Juliana Cassiano, Karine Gomes, Karla Mendonça, Luna Ferolla, Olívia Félix, Patrícia Lacerda, Soraia El Kadi, Samira El Kadi, Morgana Guilherme e Carla Machado. Todos esses anos de

amizade mostram o quanto nos admiramos. Obrigada pelo carinho e pelo apoio de sempre.

A Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia, onde também conclui minha graduação, que tem me acolhido tão bem desde então.

Ao Instituto de Química e ao Laboratório LFML (Laboratório de fotoquímica e materiais lignocelulosicos) que cederam o espaço para toda minha pesquisa.

Aos professores do mestrado, que tanto colaboraram para o meu aprendizado. Que vocês continuem sendo sempre esses transmissores de conhecimento. Em especial o professor Dr. Flávio Domingues das Neves, o qual eu tenho uma imensa admiração pelo ser humano que é, e seus conselhos vinham sempre no momento certo.

À FAPEMIG pelo apoio financeiro.

“Eu estou sempre fazendo aquilo que não sou capaz, numa tentativa de aprender como fazê-lo”

Pablo Picasso

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	pág. 1
RESUMO	pág. 2
ABSTRACT	pág. 3
1. INTRODUÇÃO	pág. 4
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	pág.7
2.1. Dispositivos de Liberação Local (DLL)	pág.7
2.2. Acetato de Celulose como Biomaterial	pág.11
2.3. Tetraciclina (TET)	pág.13
2.3.1. Propriedades físico-químicas	pág.13
2.3.2. Aspectos Clínicos e Microbiológicos	pág.14
2.3.3. Administração Local de Tetraciclina	pág. 16
3. PROPOSIÇÃO	pág.19
4. MATERIAIS E MÉTODOS	pág.20
5. RESULTADOS	pág.32
6. DISCUSSÃO	pág.38
7. CONCLUSÃO	pág.41
REFERÊNCIAS	pág.42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

TET - Tetraciclina

DCMT - Diacetato de Celulose Modificado com Tetraciclina

DLL - Dispositivo de Liberação Local

DCC – Diacetato de Celulose Comercial

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

AC – Acetato de Celulose

DDCMT – Dispositivo de Diacetato de Celulose Comercial Modificado com Tetraciclina

DCM – Diacetato de Celulose Modificado

GS: Grau de Substituição

ST: Solução com concentrações conhecidas de tetraciclina

PVP: Povidone-iodine

TCN: Tetraciclina Hidroclorídrica

CHX: Gluconato de Clorexedina

RESUMO

Embora a terapia mecânica promova resultados satisfatórios no controle da doença periodontal, a remoção completa do biofilme no interior da bolsa periodontal de média e elevada profundidade é rara. Assim, a utilização de antimicrobianos, como tetraciclina (TET), tem sido proposto como um adjunto para a terapia periodontal. O objetivo deste estudo foi avaliar o diacetato de celulose modificado (DCM) como carreador de tetraciclina em Dispositivos de liberação local (DLL). Portanto, diacetato de celulose comercial (DCC) foi modificado e incorporado com TET. O material foi caracterizado posteriormente e os dispositivos foram imersos em 25 ml de solução tampão de fosfato, mantendo-se em banho-maria a 36,5°C durante 105 dias. As soluções foram analisadas no espectrofotômetro nos comprimentos de onda 265nm e 355nm, onde foram verificados os níveis de degradação de material e liberação da droga, respectivamente. A análise estrutural foi realizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Depois, as curvas de calibração foram criadas para TET, em solução tampão de fosfato. O sistema de liberação se encaixa em um modelo cinético de pseudo-segunda ordem, permitindo o cálculo de parâmetros relevantes, como o tempo de liberação completa que foi 168h com um tempo de liberação mais rápida nas primeiras 24h, que reduz exponencialmente a zero quando atinge 168h. O sistema pode ser caracterizado como um dispositivo de liberação controlada, por toda a manutenção da estabilidade estrutural, mesmo após um longo período de tempo do início da experiência. Sendo assim, torna-se uma ferramenta viável como DLL utilizado como coadjuvante no controle de patógenos periodontais e modulador da resposta inflamatória do hospedeiro.

Palavras chaves: Dispositivos de liberação local; tetraciclina; acetato de celulose; terapia periodontal;

ABSTRACT

Although mechanical therapy promotes satisfactory results on periodontal disease control, the complete removal of periodontal biofilm within the periodontal pocket with medium and high depth is rare. Thus, the use of local antimicrobials, like tetracycline (TET), has been proposed as an adjunct to periodontal therapy. The aim of this study was to evaluate the modified cellulose diacetate (MCD) as a tetracycline carrier in Local Delivery Device (DLL). Therefore, commercial cellulose diacetate (CCD) was modified and incorporated with TET. The material was characterized and posteriorly the devices were immersed in 25ml of phosphate buffer solution, remaining in thermostatic bath at 36,5 °C during 105 days. The solutions were analyzed in the spectrophotometer at 265nm and 355nm wavelength, where the material degradation levels and drug release were verified respectively. Estructural analysis was performed by Scanning Electron Microscopy (MEV). Then calibration curves were created for TET in phosphate buffer solution. The release device fits into a kinetic model of pseudo-second order, allowing calculation of relevant parameters, such as the complete liberation time that was of 168h with a faster release time in the first 24h, than exponentially reduces to zero when it reaches 168h. The system can be characterized as a controlled release device, due to their effective retention even after a long time of the start of the experiment. So, it is viable tool as DLL, when used as coadjutant on periodontal pathogen control and to modulate the inflammatory response on patient.

Keywords: Drug Release Device; tetracycline; cellulose acetate; periodontal therapy;

1- INTRODUÇÃO

Periodontite crônica é uma doença inflamatória e infecciosa que resulta em uma inflamação no interior dos tecidos de suporte dos dentes, progressiva perda de inserção, e a perda óssea, e é caracterizada pela formação da bolsa periodontal e/ou recessão gengival (American Academy of Periodontology, 2001). A doença periodontal é amplamente aceita como sendo causada por bactérias específicas associadas com o biofilme dental (Socransky SS e Haffajee, 1992).

Apesar das evidências indicando a especificidade bacteriana da doença periodontal, e da influência de alguns fatores adicionais no curso de periodontopatias, como a resposta imune do hospedeiro (Slots e Jorgensen, 2002), e os fatores ambientais (Roberts, 2002) , o tratamento periodontal é ainda com base na redução da microbiota supra e subgengival a níveis compatíveis com a saúde dos tecidos . Estudos demonstram que, embora o tratamento mecânico não cirúrgico de raspagem e alisamento radicular, considerado o tratamento padrão, promove resultados satisfatórios no controle de inflamação periodontal, a completa remoção do biofilme e depósitos subgengivais é restrita, particularmente em locais profundos (Eickholz et al., 2005). Assim, os agentes antimicrobianos têm sido propostos como coadjuvantes para o tratamento mecânico convencional, no combate aos patógenos e modular a resposta inflamatória do hospedeiro, e assim limitar a destruição dos tecidos (Xajigeorgiou et al., 2006) .

A utilização eficaz de agentes anti-bacterianos para o tratamento da bolsa periodontal requer o uso de carreador ou veículo que proporcione uma concentração adequada por um tempo pré-determinado, visto que a bolsa periodontal é um local importante para esta forma de terapia, uma vez que é a fonte de contínua infecção localizada. Classicamente, três métodos de administração da droga na terapia da doença periodontal têm sido utilizados: administração sistêmica de antibióticos, a administração tópica de agentes anti-bacterianos (enxaguatórios), e irrigação da bolsa. Embora a administração

sistêmica tenha a vantagem do tratamento simultâneo de todo o ambiente oral, há que se considerar que a manutenção da concentração por tempo determinado, implica na possibilidade de sensibilização do organismo, assim como na capacidade da droga de perfundir dos tecidos periodontais para o interior da bolsa. Verifica-se também que a administração de tetraciclina sistêmica, uma dose de 250 mg produz uma concentração de pico transitório no fluido gengival de 5 a 14 µg/ml. Por sua vez o uso de antibacterianos por meio de enxaguatórios bucais, não produzem nenhum tipo de ação no interior de bolsas de média e alta profundidade, somente na microflora supragengival (Gordon, J.M. et. al. 1980; Walter, C.B. et. al. 1981).

TET é um antibiótico bacteriostático , com um amplo espectro de ação, atuando contra as bactérias gram-negativas e gram-positivas , por inibição específica do procariótico (bacteriano). A síntese de proteínas é, portanto, inibida na bactéria, impedindo a replicação e ocasionando a morte celular (Cunha et.al., 1982). Além do efeito anti-bacteriano, a tetraciclina tem propriedades anti-inflamatórias e imunossupressoras, uma vez que reduz a atividade dos fagócitos dos leucócitos polimorfo - nucleares e a quimiotaxia de neutrófilos e leucócitos. Eles também têm propriedades anti-colágeno e ação anti-lipase, a promoção da reparação de tecido conjuntivo, o que é clinicamente, que se manifesta como um aumento da resistência à sondagem (Delaisse et. al. 2000).

Existem diversos tipos de DLL, como por exemplo: Actisite®, (fita de tetraciclina não-degradável ou fibra), (gel de minociclina) Periocline®; Elyzol® (gel de metronidazol) ; Atridox ® (doxiciclina sistema pó - líquido) e Periochip ® (pastilhas clorexidina) (Killooy e Polson,1998). Cada qual apresenta vantagens e desvantagens. A terapia local por meio de DLL permite a aplicação de antimicrobianos em níveis que não podem ser alcançados pela via sistêmica. Além disso, não são observados efeitos colaterais adversos (Greenstein & Polson, 1998; Wennström et al., 2001). Por outro lado, não atuam sobre os microrganismos amplamente distribuídos pela cavidade oral (Haffajee et al., 1995; Addy e Martin, 2003).

A celulose, como um material natural abundante, tornou-se um assunto em pauta na ciência, tão logo ferramentas apropriadas para investigações científicas tornaram-se disponíveis para melhorar as propriedades dos materiais. Portanto, a celulose tem sido considerada como um dos mais importantes objetos de estudo na história da ciência dos polímeros (Zugenmaier, 2008).

O acetato de celulose (AC) é um dos derivados de celulose mais importantes e amplamente utilizados na produção de fibras, plásticos, revestimentos resistentes aos solventes, para processos de separação por membranas, em sistemas de liberação controlada de fármacos, entre outros (Fischer et al., 2008). O mesmo já vem sendo estudado como dispositivos de liberação local, e por isso gera-se a hipótese do mesmo poder ser utilizado na Odontologia.

Considerando-se as propriedades físico-químicas do AC e as características da TET pode-se sugerir a utilização destes dois materiais combinados como dispositivo de liberação de droga em bolsas periodontais. Como as características do diacetato de celulose são as que mais atendem para tal, o mesmo foi utilizado, porém modificado para que melhor atenda as necessidades na Periodontia. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi caracterizar o DCMT e avaliar in vitro a desorção cinética de TET incorporadas em dispositivos de diacetato de celulose modificado com tetraciclina (DDCMT) utilizados como dispositivos de liberação controlada no tratamento periodontal.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Dispositivos de Liberação Local (DLL)

Para Langer & Peppas (1981), os DLL de drogas estão classificados como sistemas de liberação sustentada e controlada. O sistema de liberação sustentada promove a liberação do fármaco por um período de menos de 24 horas, enquanto que o sistema de liberação controlada o faz por um período maior que 24 horas.

Kho et al. (1983), Goodson et al. (1985) and Minabe et al. (1990) em seus estudos já relataram a eficácia da associação do tratamento não cirúrgico, raspagem e alisamento radicular, com o uso de dispositivos de liberação de droga. O tratamento combinado foi marcadamente eficaz na redução da densidade de microrganismos em bolsas periodontais.

Em 1984, Addy & Langeroudi estudaram o metronidazol e a clorexidina em tiras de metilmetacrilato e verificaram a efetividade deste dispositivo, marcadamente com o uso do metronidazol, na redução da microbiota subgengival. Já em 1985, Goodson, J.M. et al. avaliaram a liberação de tetraciclina em fibras de acetato de celulose inseridas dentro da bolsa periodontal e verificaram que a inserção de uma pequena quantidade de tetraciclina é suficiente para a redução da doença periodontal.

Addy et al. (1988), compararam o uso de tiras de acrílico contendo diferentes antimicrobianos (clorexidina, metronidazol e tetraciclina) com raspagem e alisamento radicular somente e a não realização de tratamento em 75 pacientes com bolsas periodontais com 6mm de profundidade, submetida ou não a raspagem e alisamento radicular. As tiras permaneceram nos sítios por uma semana, quando foram colocadas novas tiras, as quais permaneceram por mais sete dias. Profundidade de sondagem, sangramento á sondagem e perda de inserção foram avaliados no início e após 3 meses. No final do estudo, foi verificado que houve melhora clínica para os cinco tipos de

tratamentos avaliados, entretanto, melhores resultados foram obtidos para o grupo que recebeu somente terapia mecânica e o grupo que recebeu tiras de acrílico contendo metronidazol.

Um DLL pode ser classificado em biodegradável e não-biodegradável, dependendo do material utilizado como carreador (Soskolone & Freidman, 1996). Dispositivos que não são biodegradáveis possuem a vantagem de permitir o controle do tempo de exposição do ambiente da bolsa ao fármaco. Entretanto, a principal limitação desse tipo de dispositivo é a necessidade de remoção do mesmo após o período de tratamento e vários problemas têm sido associados a esse procedimento (Medlicott et al., 1994). Normalmente é necessária competência técnica para assegurar a retirada completa do dispositivo, devido à possibilidade do aparecimento de efeitos indesejáveis, tais como inflamação do tecido local, resultantes do reconhecimento pelo sistema imune de um corpo estranho (fragmentos). Além disso, a remoção do dispositivo é acompanhada por um rápido declínio na concentração antibacteriana (Tonetti et al., 1990), o qual está frequentemente associado com recolonização da bolsa periodontal. Por outro lado, os dispositivos biodegradáveis possuem a grande vantagem do paciente necessitar de apenas uma visita ao dentista para a inserção do dispositivo, que não precisa ser retirado, havendo diminuição das visitas clínicas e assegurando melhor adesão do paciente ao tratamento (Steinberg & Friedman, 1988; Bromberg et al., 2001).

Rams & Slots (1996) afirmaram que os procedimentos terapêuticos atuais indicam que as doenças periodontais poderiam ser controladas pela supressão de algumas espécies de microrganismos do biofilme subgengival que são considerados patogênicos e pela interferência na recolonização destes sítios por estas bactérias. Observaram que o debridamento mecânico/cirúrgico na região radicular usualmente não erradica certos microrganismos como *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermédia* e *B. forsythus* do ecossistema subgengival devido ao seu potencial invasivo para as células epiteliais e tecido conjuntivo. Com o intuito de intensificar a ação da raspagem

e alisamento radicular no tratamento das periodontopatias, o emprego de agentes antimicrobianos tópicos como os bochechos bucais ou a irrigação do sulco gengival e a colocação de dispositivos que liberem lenta e gradualmente essas substâncias foram propostos.

De acordo com Ciancio, em 1999, algumas características deveriam ser consideradas na escolha de um antimicrobiano de liberação local na terapia periodontal como: alcançar o sítio da doença (base da bolsa), atingir concentração adequada, ser mantido no local por um período adequado de tempo durante o tratamento, ser efetivo contra patógenos periodontais, ser clinicamente efetivo como terapia coadjuvante, seguro para os dentes e tecidos moles, ter efeitos colaterais adversos mínimos, não causar resistência bacteriana, ser de fácil aplicação e biodegradável.

Rosling et al. (2001) realizaram estudo longitudinal em 223 indivíduos portadores de doença periodontal com o objetivo de avaliar os efeitos da aplicação tópica de PVP (Povidone-iodine) como adjunto no tratamento periodontal não cirúrgico e na terapia periodontal de suporte. Todos os pacientes foram submetidos à terapia não-cirúrgica, sendo que, no grupo teste foi aplicado PVP a 1%. Os pacientes foram novamente examinados 3, 6 e 12 meses após a terapia e foram submetidos a 3, 5 e 13 anos de terapia de periodontal de suporte. Embora tenha sido constatada melhora nos pacientes do grupo teste, muitos indivíduos apresentaram recorrência da doença. Para explicar tal recorrência os autores sugerem algumas razões como controle de placa não-adequado, neoformação de placa subgengival e incompleta remoção da microbiota subgengival durante a fase inicial de tratamento.

Wennstrom et al. (2001), em estudo multi-cêntrico, avaliaram a ação da terapia local com doxiciclina associada à raspagem e alisamento radicular ou associada ao debridamento mecânico por meio de ultra-som. Estes autores encontraram reduções nos parâmetros clínicos significativamente maiores para o grupo debridamento+doxiciclina aos 3 meses. Porém, aos 6 meses, foi encontrada somente maior redução em sangramento à sondagem para este mesmo grupo. Os autores concluíram que a forma simplificada de tratamento

mecânico (debridamento com ultra-som) associada à terapia local com doxiciclina pode ser considerada uma abordagem terapêutica mais prática, já que o tempo clínico para a conclusão da mesma é menor.

Salvi et al. (2002) realizaram estudo clínico, cego, randomizado com o objetivo de avaliar clínica e microbiologicamente o efeito de três dispositivos de liberação controlada após terapia periodontal inicial: Atridox®, Elyzol® e PerioChip® em 47 pacientes por 18 semanas. Os resultados indicaram ganho significativo do nível de inserção clínica para Atridox® e diminuição da profundidade de sondagem para os três dispositivos. Além disso, os sítios tratados com Atridox® quando comparados com os sítios tratados com Elyzol® apresentaram ganho de 0,3 mm de inserção clínica.

Os DLLs, cuja liberação do fármaco é prolongada, requerem administrações menos freqüente do medicamento em relação às formas convencionais, nas quais a concentração do fármaco apresenta um aumento na corrente sangüínea, atinge um pico máximo e então declina. Desde que cada fármaco possua uma faixa de ação terapêutica acima da qual ele é tóxico e abaixo da qual ele é ineficaz, os níveis plasmáticos são dependentes das dosagens administradas, isso se torna mais crítico se a dose efetiva estiver próxima à dose tóxica. Neste fato reside uma das grandes vantagens dos sistemas de liberação controlada sobre os métodos convencionais, com a manutenção da concentração terapeuticamente efetiva de fármacos no sistema circulatório por um extenso período de tempo (Lyra et al., 2007).

Em 2013, Matesanz-Pérez_ et. al., em uma revisão sistemática mostrou que a evidência científica suporta o uso coadjuvante de antimicrobianos locais ao debridamento em sítios periodontais profundos ou recorrentes, principalmente quando se utiliza dispositivos de liberação controlada do antimicribiano comprovada.

2.2. Acetato de celulose como biomaterial

A celulose constitui a fonte polimérica renovável mais abundante do planeta sendo ainda a maior constituinte das plantas e árvores. É um polímero linear consistindo em unidades de glicose que estão unidas por ligações glicosídicas $\beta(1,4)$ onde cada unidade de glicose contém três hidroxilas livres ligadas aos carbonos 2,3 e 6, respectivamente, (Kaplan, D. L 1998) como mostrado na Figura 1:

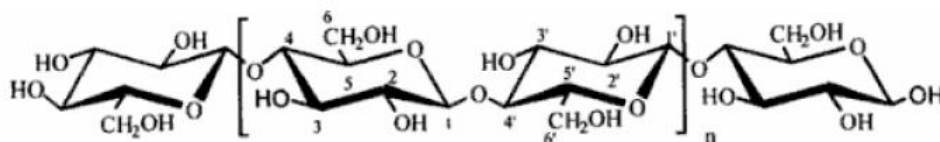


Figura 1 : Estrutura da Celulose

Devido à disponibilidade destes grupos hidroxilas, as macromoléculas de celulose tendem a formar ligações de hidrogênio intermoleculares e intramoleculares, as quais são extremamente importantes para as suas características físicas e químicas. As ligações intramoleculares conferem à celulose uma significativa rigidez, enquanto que as intermoleculares são responsáveis pela formação da fibra vegetal, ou seja, as moléculas de celulose se alinham, formando as microfibrilas, as quais formam as fibrilas que, por sua vez, se ordenam para formar as sucessivas paredes celulares da fibra. Na celulose existem duas fases distintas dentro das microfibrilas: uma fase com grande ordenamento das moléculas denominada fase cristalina e outra, com baixo ordenamento, denominada porção amorfa. Na região cristalina, a fibra tem maior resistência à tração, ao alongamento e à solvatação, o que limita as possibilidades de uso da celulose pelo fato de ser pouco acessível a solventes e reagentes mais comuns (Edgar et al. 2001).

O acetato de celulose, Figura 2, é um dos derivados da celulose de

grande importância comercial, devido a sua larga aplicação em fibras, plásticos, filmes fotográficos, filtros para cigarros e também utilizado para a produção de membranas para processo de separação (Sossna et al. 2007, Chou et al. 2007).

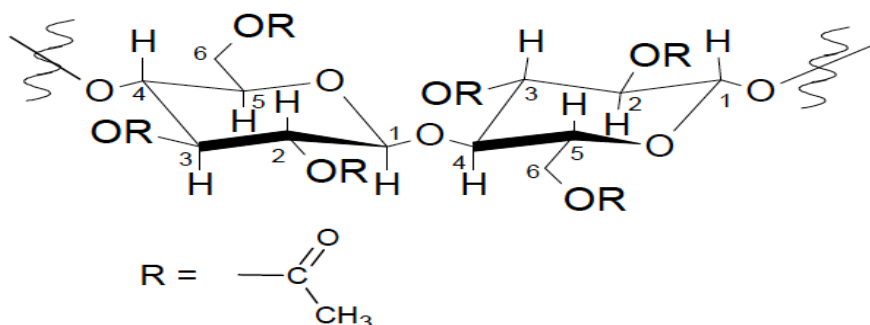


Figura 2: Estrutura do acetato de celulose

O acetato de celulose é produzido pela substituição dos grupos hidroxila das unidades de glicose por grupos acetila. Assim pode-se obter materiais com diferentes graus de substituição (sendo o grau de substituição o número médio de grupos acetila que substituem as hidroxilas por unidade glicosídica), podendo variar de 0 para a celulose a 3 para um material tri-substituído (Puleo et al. 1989)

O acetato de celulose pode ser obtido a partir de uma reação de acetilação da celulose pelo método homogêneo ou heterogêneo. Ambos os métodos se constituem na reação da celulose com uma mistura de ácido acético, como solvente da reação, anidrido acético, como agente acetilante, e ácido sulfúrico ou perclórico como catalisador. A principal diferença entre os dois métodos é que na acetilação heterogênea utiliza-se um agente não inchante, como o tolueno, que mantém a estrutura fibrosa da celulose. Na acetilação homogênea não se utiliza o tolueno e a celulose é solubilizada no meio reacional, o que causa mudanças na morfologia das fibras de celulose (Meireles et al. 2007).

A esterificação da celulose ocorre através de um ataque nucleofílico das hidroxilas da cadeia celulósica ao agente esterificante. A substituição pode

variar de 0 a 3, dependendo de fatores como a natureza da celulose utilizada e as condições da reação. O grau de substituição (GS) dos derivados de celulose refere-se ao número de grupos substituintes introduzidos em cada unidade de glicose, sendo que o valor obtido é um valor médio (Samios; Dart; Dawkins, 1997). Portanto, no caso dos acetatos de celulose, o GS refere-se ao número médio de grupos acetatos introduzidos nas unidades de glicose que constituem uma cadeia. Eles podem ser divididos em Monoacetato, Diacetato e Triacetato, dependendo do valor GS. O monoacetato é muito solúvel em meio aquoso, o triacetato é insolúvel e o diacetato é intermediário, sendo que quanto mais conseguir diminuir o GS do mesmo, mais solubilidade ele vai apresentar e mais rápido vai se degradar (Klemm et al., 1998b).

A introdução de substituintes ao longo da cadeia de celulose altera fundamentalmente as propriedades do polímero: rede das ligações hidrogênio, densidade, volume molar, capacidade específica, transição vítrea, estabilidade térmica, dentre outras propriedades (Bochek; Kalyuzhnaya, 2002).

No Brasil o acetato de celulose é produzido pela Rhodia de Santo André-SP a partir de pastas de celulose, da madeira (pinus), importadas dos EUA. Na literatura encontram-se diferentes metodologias para a obtenção do acetato de celulose a partir da celulose de madeira e de resíduos agroindustriais (Sato et al. 2003, Biswas et al., 2006, Shaikh, H. M, 2009).

O Grupo de Reciclagem de Polímeros da Universidade Federal de Uberlândia vem demonstrando a viabilidade de se produzir acetato de celulose a partir da celulose extraída do bagaço de cana-de-açúcar gerado nas usinas sucroalcooleiras (Rodrigues Filho et al. 2000, Cerqueira D.A, 2006, Rodrigues Filho 2005, Rodrigues Filho et al. 2007).

2.3. Tetraciclina

2.3.1 - Propriedades físico-químicas

A clortetraciclina (7-clortetraciclina) foi o primeiro antibiótico da família das tetraciclinas utilizado clinicamente, sendo descoberta em 1948 pelo micologista Benjamin M. Duggar, que observou atividade antimicrobiana incomum em organismos que formavam uma colônia amarelo-ouro. Tais organismos foram designados como *Streptomyces aureofaciens* e o produto aureomicina (Roberts, 1996). Em 1950, a oxitetraciclina foi isolada de *Streptomyces rimosus* e três anos depois, a tetraciclina foi produzida pela desalogenação catalítica da clortetraciclina (Chopra & Roberts, 2001).

A TET possui peso molecular de 444,45g e apresenta estrutura química que consiste em um núcleo hidronaftaceno com quatro anéis fundidos, sendo que o nome genérico dos análogos é determinado a partir de substituições na estrutura básica (Chopra & Roberts, 2001).

A absorção por via oral da TET varia entre 75% e 77% da dose ingerida e, sua distribuição ocorre facilmente pela maioria dos líquidos do organismo, inclusive bile e líquidos sinovial, ascítico e pleural. Apresenta, ainda, tendência a localizar-se nos ossos, fígado, baço, tumores e dentes (Morejon et al., 2003).

Sua absorção não é marcadamente influenciada pela ingestão simultânea de alimentos, mas pode ser prejudicada por antiácidos contendo alumínio, cálcio ou magnésio e ainda por preparações contendo ferro. Além disso, a ingestão de álcool, barbitúricos, carbamazepina e fenitoína diminuem a meia-vida da tetraciclina (Chopra & Roberts, 2001; Morejon et al., 2003)

A meia-vida normal da tetraciclina é de 6 a 11 horas, sendo que as concentrações terapêuticas podem ser alcançadas após 2 a 3 dias. Sua eliminação ocorre de forma inalterada por via renal e fecal, podendo ser excretada também pelo leite materno. Sua união às proteínas é baixa a moderada (Morejon et al., 2003).

Como a tetraciclina possui a capacidade de atravessar a placenta, seu uso não é recomendado durante a segunda metade da gravidez, pois pode causar descoloração permanente dos dentes, hipoplasia do esmalte e inibição do crescimento ósseo do feto. (Roberts, 1996; Morejon et al., 2003; Ribera, 2004).

A tetraciclina pode causar alguns efeitos adversos característicos das tetraciclinas como reações de hipersensibilidade (urticária, edema angioneurótico, anafilaxia, lesões eritematosas e maculopapulares); náusea, vômito, diarreia, enterocolite, esofagite, Trombocitopenia, neutropenia e eosinofilia, reações de fotossensibilidade (Roberts, 1996; Chopra & Roberts, 2001; Ribera, 2004).

2.3.2 - Aspectos clínicos e microbiológicos

A tetraciclina é um bacteriostático com amplo espectro de ação que atua por inibição específica do ribossoma procariótico (bacteriano), a partir do bloqueio do receptor na subunidade 30S que se liga ao t-RNA durante a tradução gênica. Como o ribossoma eucariota das células humanas é substancialmente diferente, não é afetado. A síntese de proteínas é, portanto, inibida na bactéria, impedindo a replicação e levando à morte celular (Cunha et al., 1982).

Apresentando um amplo espectro de ação, a tetraciclina é eficaz contra muitas espécies, tanto Gram-negativas quanto positivas, e até contra alguns protozoários. Os microorganismos podem ser considerados sensíveis se a C.I.M. (Concentração Inibitória Mínima) não for superior a 4,0 µg/ml, e intermediários se a C.I.M. estiver entre 4,0 e 12,5 µg/ml (Roberts, 1996).

Estudos como de Christersson & Zambon (1993) e Gordon & Walker (1993) tem demonstrado que a raspagem e alisamento radiculares por si só foram ineficientes para eliminar o *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e, coadjuvada com a tetraciclina e controles periódicos, apresenta resultados

clínicos e microbiológicos melhores.

MacNeill et al., (1997) avaliaram os efeitos da tetraciclina hidrocloreídica (TCN) e do gluconato de clorexedina (CHX) no crescimento e viabilidade de *Candida albicans*. Subculturas de *Candida albicans* foram divididas em cinco grupos: grupo T (controle), grupo 2 (tratamento com 0,12% de CHX), grupo 3 (tratamento com 3mg/ml de TCN com pH 4,5), grupos 4 e 5 (tratamento com solução tampão livre de NaN₃, com pH 4,5 e pH 7,4 respectivamente). Todos os grupos foram incubados por dez dias e amostras diárias eram colhidas para se determinar a viabilidade de cada grupo. As amostras foram avaliadas em microscópio eletrônico de transmissão e varredura ao final do período experimental. Os resultados mostraram que utilizado em altas concentrações TCN inibe o crescimento de *Candida albicans*, enquanto que CHX inibe a replicação e o crescimento celular dos microorganismos avaliados.

É sabido que as tetraciclinas possuem forte afinidade a cátions bivalentes e trivalentes, o que permite a formação de complexos com cálcio encontrado no tecido ósseo, esmalte e dentina durante o processo de calcificação destes tecidos. Sua união com o cálcio parece ser reversível, conferindo-lhe substantividade, ou seja, capacidade de ser liberada lentamente, exercendo sua atividade antimicrobiana (Roberts, 1996; Thomas et al., 2000).

Além do efeito anti-bacteriano, a tetraciclina possui propriedades anti-inflamatórias dos leucócitos polimorfonucleares e a quimiotaxia de neutrófilos e leucócitos (Thomas et al., 2000). Apresenta ainda, ação anti-colagenase e anti-lipase, favorecendo o reparo do tecido conjuntivo, que é clinicamente traduzido pelo aumento da resistência à sondagem (Ramamurthy et al., 2000). Estudos *in vitro* e *in vivo* têm relatado o potencial da tetraciclina e seus análogos na indução da produção de matriz óssea por osteoblastos (incluindo síntese de novo colágeno), inibição a função dos osteoclastos ou mesmo indução de apoptose em osteoclastos (Bettany et al., 2000).

2.3.3 - Administração local de Tetraciclina

O Actisite® foi um dos primeiros dispositivos de liberação local de tetraciclina utilizados em humanos. É um sistema constituído por fibras (copolímeros plásticos, não reabsorvíveis e biologicamente inertes) impregnadas com pó de tetraciclina hidrocloreídrica 25% (Goodson et al., 1983).

A fibra é introduzida subgengivalmente até ocupar completamente o interior da bolsa periodontal e mantida in situ com o auxílio de um adesivo a base de cianocrilato por 7 a 10 dias (Goodson et al., 1991). O antibiótico é, então, liberado através do mecanismo de difusão e osmose. Esse sistema de liberação controlada é capaz de manter concentrações de tetraciclina no fluido gengival excedendo 1.300 mg/mL por um período de sete dias, com concentrações médias de 43 mg/mL nas porções superficiais da parede de tecido mole da bolsa (Ciancio et al., 1999).

A fibra de tetraciclina combinada com raspagem dental e aplainamento radicular apresentou resultados significativamente melhores nos parâmetros de profundidade de sondagem e ganho clínico de inserção conjuntiva quando comparado ao tratamento convencional em pacientes incluídos na terapia periodontal de manutenção (Newman et al., 1994; Kinane & Radvar, 1999).

Em estudo avaliando a utilização da fibra de tetraciclina em lesões de furca classe II associada a sangramento persistente, Tonetti et al., (1998) observou redução significativa na profundidade de sondagem e sangramento à sondagem após 3 meses, entretanto esses resultados não se mostraram significativos após 6 meses.

Nos últimos anos, novos veículos para liberação local de tetraciclina tem sido desenvolvidos. Jones et al., (2000) publicaram estudo no qual descrevem as características e avaliações clínicas preliminares de um gel de tetraciclina hidrocloreídrica (5%) com capacidade de aderir aos tecidos gengivais e a superfície dental, permitindo a liberação lenta da droga no interior da bolsa periodontal. A pré-avaliação do desempenho clínico mostrou que o gel,

associado a raspagem e alisamento radicular, promove diminuição da profundidade de sondagem e reduz a o número de patógenos periodontais no interior da bolsa.

3. PROPOSIÇÃO

3.1. Objetivo geral

Caracterizar o diacetato de celulose modificado (DCM) e avaliar in vitro a desorção cinética de TET incorporada em dispositivos de diacetato de celulose modificado com tetraciclina (DDCMT) utilizados como dispositivos de liberação controlada no tratamento periodontal.

3.2. Objetivos específicos:

- Caracterizar o DCM por meio de espectroscopia de Absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR);
- Caracterizar o DCM por meio de determinação do grau de substituição;
- Caracterizar o DCM por determinação da Massa Molecular Viscosimétrica;
- Caracterizar o DDCMT por meio da análise termogravimétrica (TGA);
- Caracterizar qualitativamente o DDCMT por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura;
- Analisar a cinética de desorção da tetraciclina e o tempo de degradação do DDCMT por meio de medidas de absorbância.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Produção do Material Diacetato de Celulose Modificado (DCM)

4.1.2. Desacetilação do DCC

O DCC utilizado neste trabalho foi cedido pela empresa RHODIA.

O material foi desacetilado para a obtenção de um DCM quimicamente, sendo que o procedimento é descrito a seguir: a um balão de fundo chato de 250 mL contendo 100 mL de ácido acético adicionou-se 5,0 g de DCC. Em seguida foram adicionados 0,75 mL de ácido sulfúrico e 2,2 mL de água. O balão foi colocado rapidamente num banho a 55°C e acoplado a um condensador mantendo em refluxo por 30 min. Em seguida foram adicionados 3mL de ácido sulfúrico e 11 mL de água, deixado por 5 min. Logo após, a solução foi filtrada em um funil de placa porosa com o kitassato contendo uma certa quantidade de água destilada para que se formasse o precipitado. Filtrou-se a mistura a vácuo lavando com água destilada até a neutralização. O material foi seco em estufa por 90 min a 60° C.

4.2. Caracterização do Material (DCM)

4.2.1. Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) .

A espectroscopia no infravermelho se baseia no fato de que as ligações químicas das substâncias possuem frequências de vibração específica, as quais correspondem à níveis de energia da molécula (chamado

de níveis vibracionais). O mesmo foi preparado na forma de pastilhas de KBr, na proporção de 1:100 (m/m) e analisados em um equipamento de Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier Shimadzu IR Prestige-21. Foram feitas 64 varreduras com resolução de 4 cm⁻¹, na faixa de 400 a 4000 cm⁻¹.

4.2.2. Determinação do Grau de Substituição (GS)

Para determinar o grau de substituição do material produzido, seguiu-se o procedimento disponível em Cerqueira et. al., 2010. Adicionou-se 5,0 mL de hidróxido de sódio 0,25 mol L⁻¹ e 5,0 mL de etanol a 0,10 g de triacetato de celulose deixou-se a mistura em repouso. Após 24 horas adicionou-se 10,0 mL de ácido clorídrico 0,25 mol L⁻¹ e deixou-se em repouso por mais 30 minutos, em seguida a solução foi titulada com hidróxido de sódio, utilizando-se o indicador fenolftaleína. A determinação do grau de substituição (GS) por via química baseia-se na determinação da porcentagem (% m/m) de grupos acetila (%GA) que foram substituídos na cadeia celulósica. O GA é calculado a partir da equação 1:

Eq. 1

$$\%GA = \frac{[(Vb_i + Vb_t)\mu_b - (Va \cdot \mu_a)]M \cdot 100}{m_{ac}}$$

Onde,

%GA = porcentagem de grupos acetila; Vbi = volume de hidróxido de sódio adicionado; Vbt = Volume de hidróxido de sódio obtido na titulação; μ_b = molaridade do hidróxido de sódio; Va = volume de ácido clorídrico adicionado; μ_a = molaridade do ácido clorídrico; M = massa molar dos grupos acetila; m_{ac} = massa de acetato utilizada.

Com o resultado obtido pela Eq. 1, o GS pode ser calculado a partir da equação 2, de acordo com Cerqueira et al., 2010:

$$\text{Eq. 2} \quad \text{GS} = \frac{162.\%G.A.}{M.100 - 42.\%G.A.}$$

4.2.3. Determinação da Massa Molecular Média Viscosimétrica

As viscosidades intrínsecas das soluções de acetato de celulose foram obtidas através das medidas de fluxo do solvente e das soluções num viscosímetro de Ostwald (Figura 3). O sistema solvente usado para o diacetato de celulose foi o diclorometano/etanol (8/2 v/v) . O viscosímetro foi mergulhado e fixado em uma cuba de vidro, com água, acoplada a um banho termostatizado na temperatura de 25 °C (Figura 4). Adicionou-se 10 mL de diclorometano/etanol no viscosímetro e o nível do solvente foi elevado à marca superior do mesmo usando um pipetador, e então o tempo de fluxo do solvente foi medido. O mesmo procedimento foi utilizado usando as soluções de diacetato de celulose modificado.

Para o cálculo da massa molecular média viscosimétrica do diacetato de celulose foi utilizado o sistema solvente diclorometano/etanol (8/2 v/v) na concentração de 2,0 g/L (Knaus & Bauer-Heim, 2003).

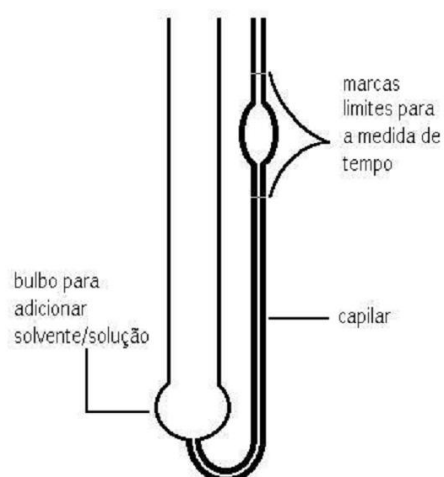


Figura 3 - Esquema do viscosímetro de Ostwald (Meireles, 2011).

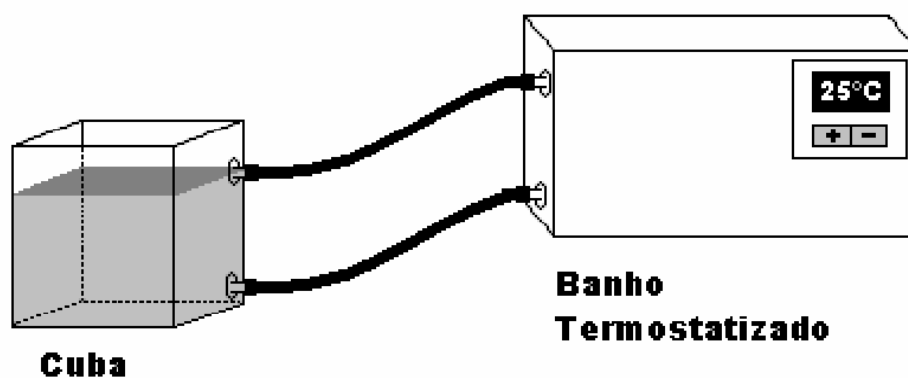


Figura 4: Esquema da aparelhagem montada para as medidas de viscosidade.

A partir dos tempos de escoamento do solvente e da solução pode-se calcular a viscosidade relativa da solução, pela equação 3, que é a viscosidade em relação ao solvente puro.

Eq. 3

$$\eta_r = \frac{t}{t_0}$$

Em que: t é tempo de escoamento da solução e t_0 é o tempo de escoamento do solvente. Utilizando os valores de η_r (η_{rel}) e a equação 4, é possível obter a viscosidade específica.

$$\text{Eq. 4} \quad \eta_{sp} = \eta_r - 1$$

A viscosidade intrínseca foi determinada pelo método do ponto único (Solomon e Ciutã, 1962), utilizando a equação 5:

$$\text{Eq. 5} \quad [\eta] = \frac{\sqrt{2(\eta_{sp} - \ln(\eta_{rel}))}}{C}$$

C é uma constante adimensional com valor igual a 0.005. A massa molecular da celulose é obtida pela equação 6 abaixo:

$$\text{Eq. 6} \quad M_v = 162 \times GP$$

Em que: 162 é a massa de uma unidade glicosídica e GP é o grau de polimerização calculado por $GP^{0,905} = 0,75 \times [\eta]$.

$$\text{Eq. 7} \quad [\eta] = K(\overline{M}_v)^a$$

Onde, $[\eta]$ é a viscosidade intrínseca; M_v é a massa molecular; K e a são constantes para um par polímero-solvente em particular a uma dada

temperatura (Sperling, 1992). As constantes do sistema solvente utilizado são $K=13,9 \times 10^{-3} \text{ mL g}^{-1}$ e $a = 0,834$ (Knaus & Bauer-Heim, 2003).

A viscosidade intrínseca, calculada pela equação 7, está diretamente relacionada com a massa molecular de modo que quanto maior a viscosidade maior será a massa molecular.

4.3. Confeção dos Dispositivos de Diacetato de Celulose Modificado com Tetraciclina

5,00 gramas de DCM foram dissolvidas em 10,00 mL de acetona e adicionado 0,05 gramas de TET e essa solução foi agitada por 24 horas e espalhada em uma placa de vidro utilizando um espalhador com abertura de 250 μm . O tempo de evaporação do solvente foi aproximadamente 30 minutos, tempo suficiente para que os dispositivos se destacassem das placas (Yilmaz & Mchugh, 1986). Então, foram recortados 3 pedaços e 2x2cm de medida, como mostrado na figura 5:



Figura 5: Característica clínica do DDCMT

4.4. Caracterização dos dispositivos:

4.4.1. Análise Termogravimétrica (TGA)

As análises foram feitas em um equipamento modelo TGA-50 da Shimadzu. Cerca de 7 mg da amostra foi aquecida, em cadinhos de alumínio, até 600°C na velocidade de aquecimento de 10°C.min⁻¹, sob atmosfera de nitrogênio a 50 cm³.min⁻¹.

4.4.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Foram feitas análises das superfícies dos dispositivos. Os equipamentos utilizados foram o Microscópio Eletrônico de Varredura modelo Shimadzu SSX-550 operando a 10 kV e o FEG-MEV JSM 6330F. A fratura foi obtida por quebra em nitrogênio líquido. As amostras foram metalizadas com uma fina camada de ouro.

4.4.3. Imersão dos dispositivos em solução tampão de fosfato

Sabendo que as condições ambientais, como pH e temperatura, podem interferir na liberação local dos fármacos e, com o intuito de simular tais variáveis no organismo humano, DDCMT foram imersos em solução tampão de fosfato, cujo pH=7,2 é semelhante ao do sangue (pH=7,35) à temperatura constante de 36,5°C (temperatura do corpo humano).

A solução tampão de fosfato foi preparada a partir da diluição de 2,00g de hidróxido de sódio (NaOH) e 19,8g de dihidrogeno fosfato de sódio (NaH₂PO₄.H₂O) em 1L de água destilada.

Cada um dos dispositivos de liberação local foi introduzido em um erlenmeyer contendo 25ml de solução tampão de fosfato, permanecendo em banho termostatzado a 36,5°C durante todo o período experimental. O experimento de liberação do fármaco foi feito em triplicata.

4.4.4. Construção de curvas de calibração para tetraciclina em solução tampão de fosfato.

Para de se determinar a quantidade de fármaco liberada nas soluções tampão contendo TET, utilizou-se o espectrofotômetro (Shimadzu, modelo UV 2501 PC) (figura 6).

Neste aparelho uma amostra das soluções é inserida no caminho óptico e um feixe de luz ultravioleta e/ou visível em determinado comprimento de onda (ou uma faixa de comprimentos de ondas) atravessa a solução. O espectrofotômetro determina, então, o quanto de luz foi absorvida pela amostra, ou seja, a absorbância desta.



Figura 6- Espectrofotômetro.

Como a correlação entre a absorbância e a concentração das soluções tampão contendo TET não era conhecida inicialmente foi necessário determiná-la a partir da construção de curvas de calibração em concentrações que variaram de 8 a 32mg/L para a tetraciclina (figura 7).

Para tanto, foi confeccionada uma solução com concentrações conhecidas de tetraciclina (ST), onde 0,020g de tetraciclina hidrocloreídrica em pó foram diluídos em 100,00 ml de solução tampão de fosfato.

ST foi, então, diluída em diversas concentrações e levadas ao espectrofotômetro com o objetivo de medir suas absorbâncias dentro da validade da lei de Lambert-Beer. Segundo tal lei, a absorbância é proporcional a concentração da solução.

O conhecimento das concentrações e da absorbância das soluções tornou possível a construção de uma reta: $y = ax + b$, onde y é a absorbância medida, x a concentração da solução a ser quantificada e a e b os coeficientes angular e linear da reta, respectivamente. Tais retas são conhecidas como curvas de calibração (figura 7) e a partir dela foi possível quantificar a tetraciclina liberada em tampão fosfato.

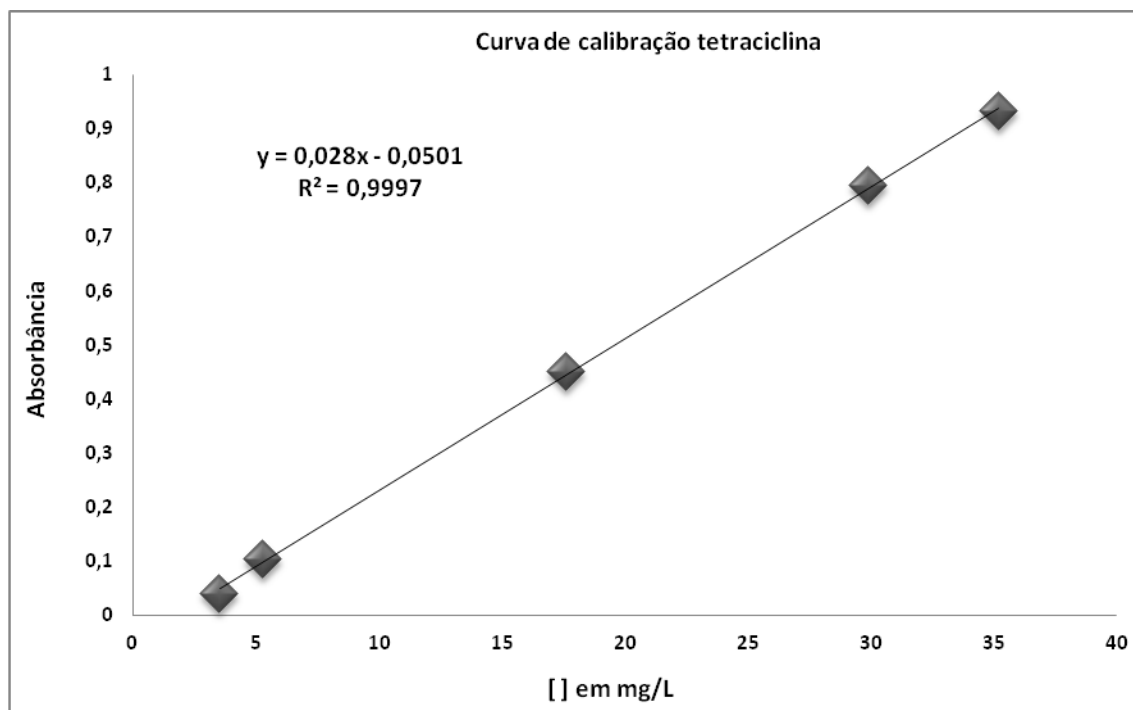


Figura 7- Curva de calibração da tetraciclina em tampão fosfato

4.4.5. Medidas das absorbâncias (Abs) das soluções tampão contendo TET e determinação de parâmetros da cinética de desorção de TET.

A absorbância das soluções tampão contendo TET foi determinada pelo espectrofotômetro em um comprimento de onda fixado anteriormente ao se obter o espectro completo das duas amostras desde 190nm até 800nm (região do ultravioleta e do visível). O comprimento de onda específico comum foi de 355nm e a solução tampão fosfato foi utilizada como referência. A absorbância foi determinada em tempos de 30 minutos a 168 horas após o início do experimento, em processos em que se evitava o estabelecimento de equilíbrio, ou seja, trocando a cada medida o solvente em contato com o dispositivo. Desta forma supõe-se liberação contínua do fármaco na solução. Cuidados especiais com parâmetros como concentração, posição da leitura no espectro e ruídos instrumentais foram tomados para que não ocorressem desvios significativos da Lei de Lambert-Beer. Neste caso a absorbância é

proporcional a concentração da solução, sendo possível determinar a quantidade de doxiciclina ou tetraciclina liberadas no tampão fosfato a partir da confecção de curvas de calibração.

1.4.6. Modelo Cinético e de Equilíbrio

A cinética de absorção foi avaliada usando os seguinte modelo cinético:

Pseudo-segunda ordem, equação 8:

$$Q_t = \frac{Q_e^2 kt}{1 + Q_e kt}$$

onde Q_t é a quantidade de tetraciclina liberada por grama do dispositivo no tempo (mg.g^{-1}); Q_e é a quantidade liberada de tetraciclina em equilíbrio por grama de membrana (mg.g^{-1}); t é o tempo de liberação (min) e k é a constante de velocidade de pseudo-segunda ordem ($\text{g.mg}^{-1} \text{min}^{-1}$).

As formas linearizadas do modelo cinético de pseudo-segunda ordem, são mostradas a seguir:

$$\frac{t}{Q_t} = \frac{1}{kQ_e^2} + \frac{1}{Q_e} t$$

Equação 9

ou

$$\frac{t}{Q_t} = \frac{1}{h} + \frac{1}{Q_e} t$$

Equação 10

onde h é a constante de desorção inicial ($\text{mg.g}^{-1} \text{min}^{-1}$), quando Q_t/t se aproxima de zero.

4.4.7. Degradação dos Dispositivos de Liberação Local

Para monitorar a degradação DDCMT, após a liberação completa de tetraciclina em solução tampão, UV-Vis espectros foram feitas em tempos pré-determinados. Para estimar o tempo de degradação total de uma relação estabelecida entre o número de dias e os valores de absorvância a um comprimento de onda de 265 nm para cada dia monitorizada. Com a relação estabelecida, plotou-se um gráfico onde obteve-se uma relação linear entre os dias observados e os valores de absorção relacionados com a tenses dias foi obtido. Para obter o valor máximo de absorção após degradação DDCMT, o processo foi acelerado com uma agitação constante durante 72 h a 65 ° C, e que o espectro de absorção de UV-Vis foi obtido. Com o auxílio da equação de linha reta obtida, determinou-se o número de dias em que a membrana se degrada completamente.

5. RESULTADOS

O resultado obtido por o grau de substituição (GS) é apresentada na tabela 1 e foi realizada de acordo com as equações 1 e 2.

Tabela 1: G.S do acetato de celulose

Material	% do grupo acetila (GA)	GS
DCM	34,56± 0,11	1,973± 0,001

Uma das maneiras de verificar a modificação do acetato de celulose é usar a técnica FTIR. A figura 8 apresenta o espectro de material produzido, e na tabela 2 as atribuições principais bandas observadas.

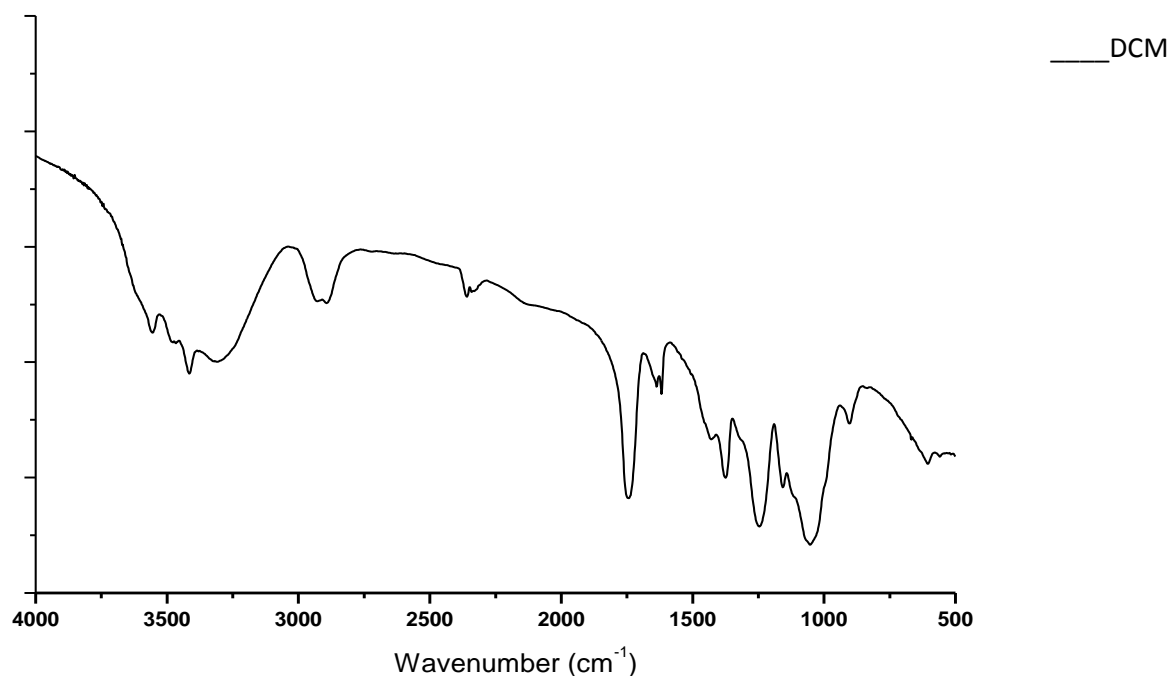


Figura 8- Espectro de FTIR típico de DCM

Tabela 2: Atribuições das principais bandas no espectro de FTIR do diacetato de celulose.

Frequência das bandas (cm^{-1})	Atribuições
3498	Estiramento O-H celulósico
2958	Estiramento assimétrico CH_3
2890	Estiramento simétrico CH_3
1756	Estiramento de carbonila de éster
1436	Deformação assimétrica CH_2
1377	Deformação simétrica CH_3
1237	Estiramento C-C-O de acetato
1047	Estiramento C-O

O peso molecular viscosimétrico do material foi determinado por viscosimetria. O Mv para acetato de celulose foi determinado pelas equações (3-7) e apresentaram o resultado de $26.310 \text{ g.mol}^{-1}$ para diacetato de celulose modificada (DCM).

O DCM apresenta três eventos de degradação, sendo a primeira de 180 a 280°C , o segundo de $280\text{-}380^\circ \text{C}$ e a terceira acima de 380°C .

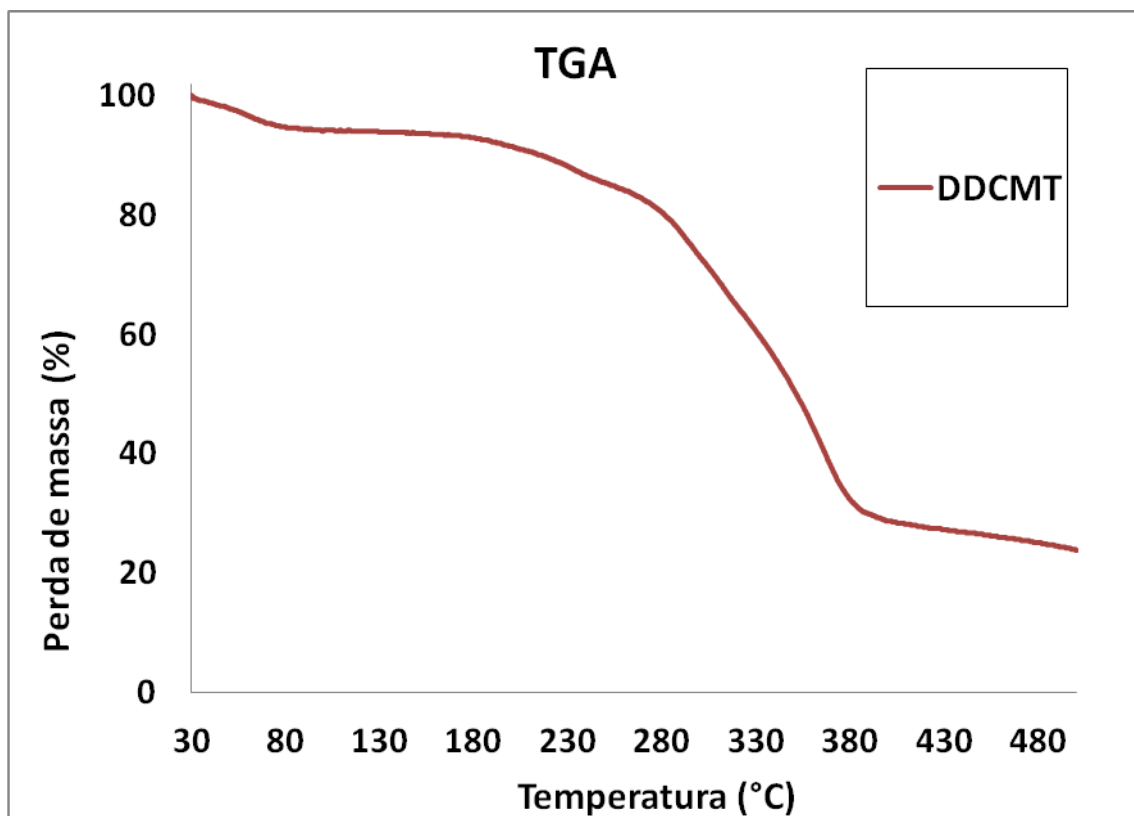


Figura 9 - TGA do Dispositivo Diacetato de Celulose Modificado

Faz-se notar que há uma liberação contínua de tetraciclina em solução tampão de fosfato, durante as primeiras 48 horas da experiência, atingindo máxima de 0,266 g, de acordo com a figura 10.

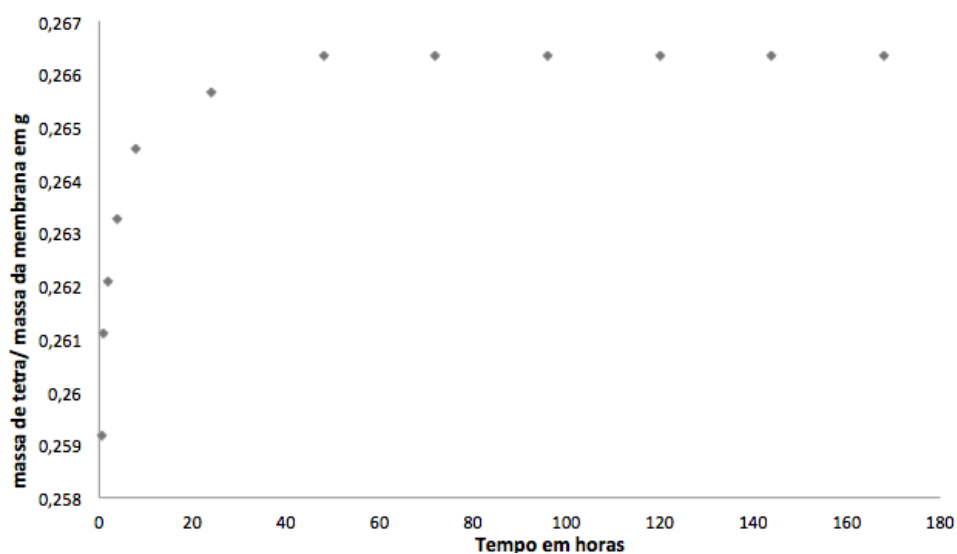


Figura 10 - Massa de tetraciclina liberada na solução tampão fosfato

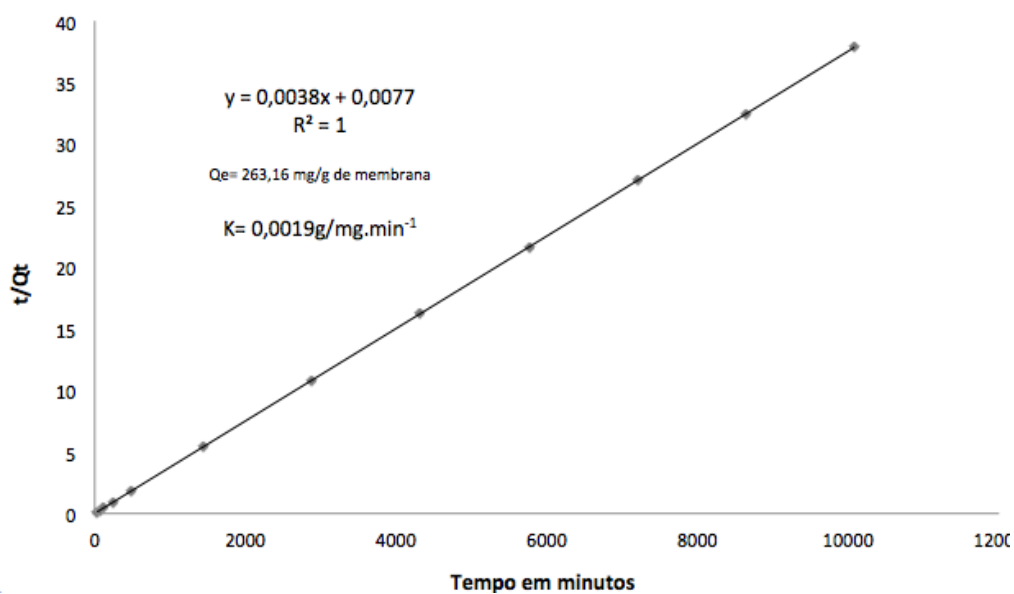


Figura 11- Cinética de desorção tetraciclina (pseudo segunda ordem) em solução tampão fosfato.

A Figura 11 mostra a correlação resultante da aplicação do modelo cinético de pseudo-segunda ordem para massas cumulativas de fármacos liberados pelo dispositivo em solução tampão fosfato de acordo com a equação 8.

O perfil de liberação do fármaco foi a mesma em todos os intervalos de tempo e uma correlação linear foi gerado (equação 9) após linearização da equação 8. Os pontos entre 0 e 10.080 horas foram incluídas, uma vez que após este período, a liberação do fármaco não é observada, indicando o final do processo de dessorção. Inicialmente, entre 0 e 1800 minutos, a liberação do fármaco é mais rápido, e depois desse tempo, entre 1800 e 10080 min, o processo é muito mais lenta.

Na microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram observadas figura 12A, onde a análise de fratura foi feita, a presença tetraciclina. Na Figura 12B, em que se tem uma superfície, que é o aparecimento da topografia da superfície, em que pode-se observar que a estrutura do material tem uma constituição superficial compacta e com microporos e trama interna densa.

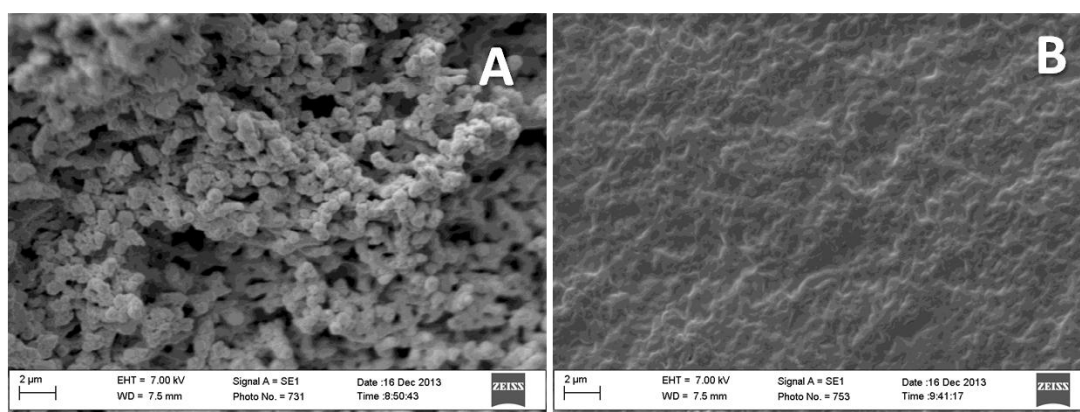


Figura 12- A - MEV em MCD de fratura (10.000x). B - MEV da superfície da MCD (10.000x)

A estimativa de degradação da DDCMT foi calculada e sua degradação ocorre em 9 meses, de acordo com as figuras 13 e 14.

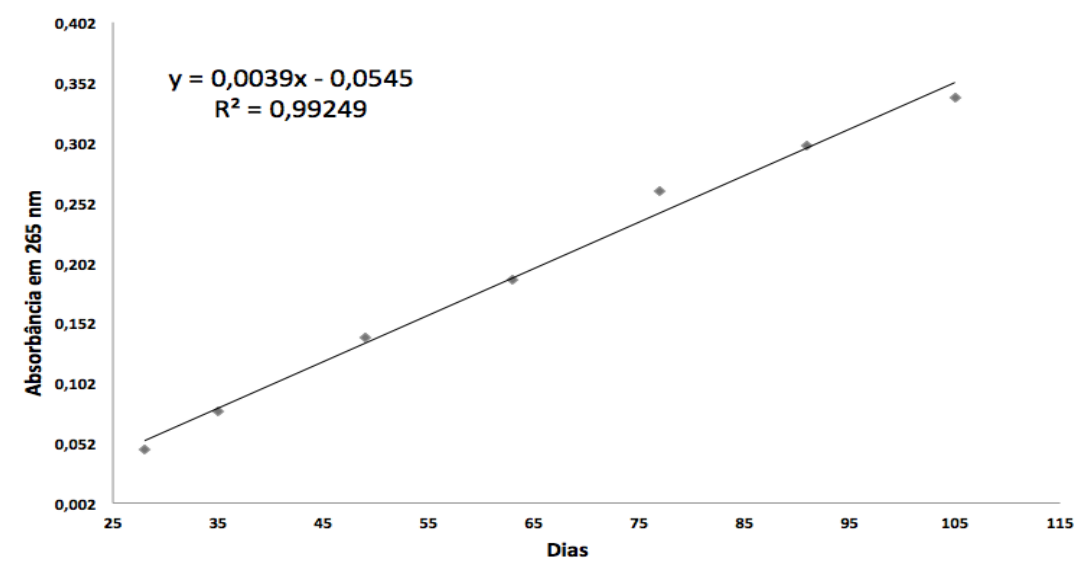


Figura13 - Cinética da estimativa de degradação do DDCMT

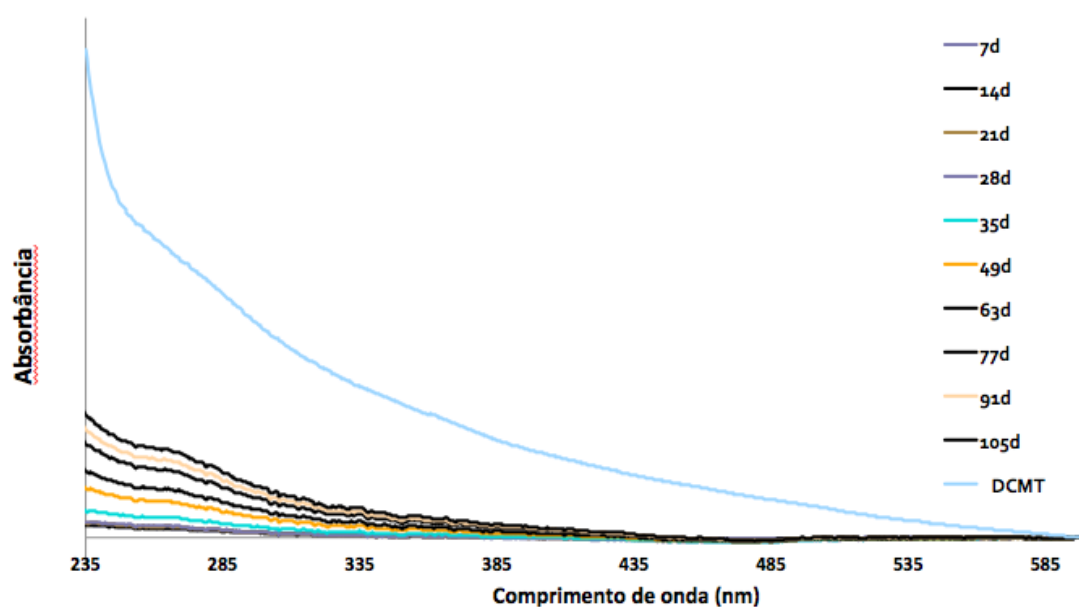


Figura 14- Estimativa de degradação do DDCMT

6. DISCUSSÃO

Embora o uso de agentes antibacterianos sejam comumente empregados no tratamento periodontal, estes requerem agentes carreadores que viabilizem sua presença por tempo e concentração adequados no interior da bolsa (Addy & Langeroudi, 1984). Dentre os dispositivos destacam-se: géis, microesferas, de tiras, de metacrilato de metilo, de colágeno e de acetato de celulose são realçados. (Jeffcoat et al 1998, Denepitiya et al 1992, Soskolne WA et al, 1997; Soskolne et al 1998). Mais recentemente tem sido proposto o acetato de celulose e seus derivados (Chou et. al. 2007).

O crescente interesse em explorar derivados celulósicos, assim como novas aplicações, é decorrente principalmente do fato da celulose ser proveniente de fonte renovável (Heinze & Liebert, 2001). Além do mais, o acetato de celulose é um dos derivados de celulose mais importantes (Chou WL et. al. 2007). Assim, é possível dizer que o DCM também é mais viável e é um material com menor custo do que alguns materiais descritos na literatura, tais como os dispositivos de colágeno, como no estudo de Horbylon et al., 2013.

Dentre os derivados do acetato destaca-se o monoacetato, diacetato e triacetato, sendo o primeiro de rápida degradação, enquanto que o terceiro é não degradável, características essas que podem inviabilizar o seu uso como um carreador quimioterápico. Por sua vez, verifica-se que modificações estruturais no diacetato poderão contribuir de modo a tornar esse material um carreador biodegradável de modo a atender as necessidades periodontais. Portanto, a caracterização deste produto torna-se relevante e objetivo do nosso trabalho.

Visando uma caracterização detalhada do material, a dissolução cinética tetraciclina foi avaliada neste estudo por um experimento in vitro.

A massa molecular do material foi determinada por viscosimetria. A viscosidade intrínseca está diretamente relacionada com o peso molecular, de modo que quanto maior a viscosidade maior é o peso molecular. A massa molecular viscosimétrica para diacetato de celulose foi determinada por equações 3-7 e o resultado obtido foi de $26.310 \text{ g.mol}^{-1}$ para DCM . A massa molecular viscosimétrica do AC foi determinado por Ferreira Júnior et. al. 2010, $46,000 \text{ g.mol}^{-1}$. Portanto, esta diminuição de massa contribui para um tempo de degradação menor do material .

A degradação térmica do acetato de celulose é descrito na literatura como ocorrendo em três fases . O primeiro passo é iniciado com medida da temperatura inicial , a temperatura ambiente , e a temperatura de cerca de 100°C , que ocorre a evaporação de água absorvida no material . O segundo passo ocorre entre 330° e 500°C , principal faixa de degradação térmica do material onde ocorre a degradação das cadeias do acetato de celulose e saída de matéria volátil. Próximo de 500°C e em temperaturas superiores ocorre a carbonização dos produtos degradados a cinzas, que corresponde à terceira etapa da degradação térmica dos acetatos de celulose (Ren, et al, 2007). DCM mostra também três eventos de degradação, e a degradação do primeiro evento ocorre $180\text{-}280^{\circ}\text{C}$, a segunda $280\text{-}380^{\circ}\text{C}$, e a terceira acima de 380°C . Portanto, o processo acompanhado por uma desacetilação do DCC e introdução TET na cadeia, rompe o polímero causando degradação, e esta a temperaturas mais baixas do que o apresentado na literatura, como o DCC, ou seja, sem modificação. Assim, o diacetato de celulose modificado associado com tetraciclina pode representar um material alternativo do local de liberação da droga no controle da doença periodontal.

O método de espectroscopia de UV / Vis usado neste estudo , mostrou como sendo apropriados para quantificar a quantidade de tetraciclina liberada em solução tampão fosfato no dispositivo avaliado. O pico de absorbância obtido para a tetraciclina era 355 nm , que é o comprimento de onda utilizado no presente estudo .

O método de FTIR revelou ser eficaz para a caracterização de materiais, por causa da diminuição da intensidade da banda a 3498 cm^{-1} e o aparecimento das bandas em 1756 cm^{-1} (Estiramento carbonila de éster), 1237 cm^{-1} (estiramento C-C-O de acetato), 1047 cm^{-1} (estiramento C-O), o que é uma característica evidente que o material é um diacetato de celulose, e principalmente, que não houve mudanças em sua estrutura.

Após a observação da liberação de tetraciclina contínua sobre esta experiência, o dispositivo pode ser caracterizado como um dispositivo de liberação controlada, em outras palavras, o dispositivo cuja dissorção de drogas ocorre por um período superior a 24 horas (Langer & Peppas, 1981). As imagens MEV confirmam a presença de tetraciclina neste estudo .

O grau de substituição, que é o valor médio de grupos de acetila (GS), que substituem os grupos hidroxila das unidades glicosil foi determinada, sendo ao passo que o diacetato de celulose comercial foi usado como material de referência, tendo um GS de 2,45 de acordo com o fabricante. De acordo com Samios et al., 1997 o valor do GS de $1,97 \pm 0,01$ caracteriza o material, como o diacetato de celulose (Cerqueira et. al, 2010). Assim, todas as outras metodologias utilizadas para a caracterização do material foram eficazes .

Com base nos resultados deste estudo realizado com DDCMT pode-se observar que o material utilizado para fabricar o dispositivo influenciar a velocidade de liberação do fármaco, uma vez que, em um estudo de dispositivo de colágeno (Horbylon et. al., 2013), o valor de K era menor do que o valor encontrado neste estudo .

Sugere-se que mais pesquisas sejam realizadas para avaliar o uso de MCD para outros fins terapêuticos em periodontia , como fazer membranas seletivas.

7. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos pelo método FTIR demonstraram que apesar das alterações propostas o material modificado apresenta uma constituição molecular semelhante a um diacetato de celulose.

Considerando o grau de substituição foram obtidos valores menores que 1,97, o que caracteriza o mesmo como sendo um material solúvel.

As modificações na Massa Molecular Viscosimétricas permitiram obter um produto com massa viscosimétrica menor, o que facilitaria a solubilidade do mesmo.

Segundo a análise termogravimétrica foi obtido a solubilização com temperaturas menores que as descritas na literatura, facilitando a degradação.

A análise por meio do MEV demonstra a estrutura do material ser de constituição superficial compacta e com microporos e trama interna densa.

A cinética de desorção da Tetraciclina proporcionou a liberação do produto com pico de 0,266g durante as primeiras 48hrs e o tempo de degradação foi de aproximadamente 9 meses, o que sugere a remoção do material assim que for liberada a droga.

Dadas as características apresentadas neste estudo pode-se concluir que o DCMT pode ser um material alternativo viável para a utilização como dispositivo de liberação local em bolsas periodontais.

REFERÊNCIAS

Addy M, Hassan H, Moran J, Wade W, Newcombe R. Use of antimicrobial containing acrylic strips in the treatment of chronic periodontal disease. A three month follow-up study. **J Periodontol**. 1988 Sep; 59(9):557-64.

Addy M, Langeroudi M. Comparison of the immediate effects on the subgingival microbiota of acrylic strips containing 40% chlorhexidine, metronidazole or tetracycline. **J Clin Periodontol**. 1984 Jul; 11(6); 379-86.

Addy M, Martin MV. Systemic antimicrobials in the treatment of chronic periodontal diseases: a dilemma. **Oral Dis**. 2003; 9 Suppl 1:38-44.

American Academy of Periodontology. Glossary of Periodontal Terms, 4th ed. Chicago: **American Academy of Periodontology**; 2001. p. 40.

Bettany JT, Peet NM, Wolowacz RG, Skerry TM, Grabowski PS. Tetracyclines induce apoptosis in osteoclasts. **Bone**. 2000 Jul; 27(1):75-80.

Biswas, A., Saha, B. C., Lawton, J. W., Shogren, R. L., Willett, J. L. Process for obtaining cellulose acetate from agricultural by-products. **Carbohydrate Polymers** 2006, 64,(1),134-137.

Bochek, A. M.; Kalyuzhnaya, L.M. Interaction of water with cellulose and cellulose acetates as influenced the hydrogen bond system and hydrophilic-hydrophobic balance of macromolecules. **Russian Journal of Applied Chemistry**, v.75, n.6, p. 989-993, 2002.

Bromberg, L. E.; Buxton, D. K.; Friden, P. M. Novel periodontal drug delivery system for treatment of periodontitis. **J. Control. Rel.** **2001**. v.71, p.251-259, 2001.

Cerqueira, D. A.; Rodrigues Filho, G.; Assuncao, R. M. N. Use of DSC and WAXD for Determining a New Value for the Heat of Fusion of a Perfect Crystal of Cellulose Acetate. **Polymer Bulletin**. 2006;56,(4-5),475-484.

Chopra I, Roberts M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications,

molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. **Microbiol Mol Biol Rev.** 2001;65:232-60.

Chou WL, Yu DG, Yang MC, Jou CH. Effect of molecular weight and concentration of PEG additives on morphology and permeation performance of cellulose acetate hollow fibers. **Sep Purif Technol.** 2007;57(2):209–219.

Ciancio SG. Site specific delivery of antimicrobial agents for periodontal disease. **Gen Dent.** 1999 Mar-Apr; 47(2):172-8, 181.

Cunha BA, Sibley CM, Ristuccia AM. Doxycycline. **Ther Drug Monit.** 1982; 4(2);115-35.

Christersson LA, Zambon JJ. Suppression of subgingival *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in localized juvenile periodontitis by systemic tetracycline. **J Clin Periodontol.** 1993;Jul;20(6):395-401.

Deilassé JM, Engsig MT, Everts V, Ovejero MC. Proteinases in bone resorption: obvious and less obvious roles. *Clin. Chim. Acta.* 2000;291:223-234

Denepitiya JL, Fine DH, Singh S, DeVizio W, Volpe AR, Person P. Effect upon plaque formation and gingivitis of a triclosan/copolymer/fluoride dentifrice: a 6-month clinical study. **Am J Dent;** 1992;5:307–311

Edgar, K. J., Buchanan, C. M., Debenham, J. S., Rundquist, P. A., Seiler, B. D., Shelton, M. C., et al. Advances in cellulose ester performance and application. **Prog Polym Sci.**; 2001;26,(9),1605-1688.

Eickholz P, Kim TS, Schacher B, Reitmeir P, Burklin T, Ratka-Kruger P. Subgingival topical doxycycline versus mechanical debridement for supportive periodontal therapy: a single blind randomized controlled two-center study. **Am. J. Dent.** 2005;18:341-346

Fischer, S., Thummler, K., Volkert, B., Hettrich, K., Schmidt, I., Flischer, K., Properties and Applications of Cellulose Acetate. *Macromolecular. Symposia*, 262, 89–96, 2008.

Goodson JM, Holborow D, Dunn RL, Hogan P, Dunham S. Monolithic Tetracycline-containing fibers for controlled delivery to periodontal pockets. **J Periodontol.** 1983; 54(10):575-79.

Goodson, J.M., Offenbacher, S., Farr, D.H., Hogan, P.E. Periodontal Disease treatment by Local Drug Delivery. **J. Periodontol** May, 1985

Goodson JM, Tanner A, McArdle S, Dix K, Watanabe SM. Multicenter evaluation of tetracycline fiber therapy. III. Microbiological response. **J Periodontal Res.** 1991 Sep;26(5):440-51

Gordon, J. M., Walker, C. B., Goodson, J. M., and Socransky, S. S.: Sensitive assay for measuring tetracycline levels in gingival crevice fluid. **Antimicrob Agents Chemother.** 1980;17: 193.

Gordon MJ, Walker BC. Current status of systemic antibiotic usage in destructive periodontal disease. **J Periodontol.** 1993; 64:760-71.

Greenstein G, Polson A. The role of local drug delivery in the management of periodontal diseases: a comprehensive review. **J Periodontol.** 1998 May; 69(5):507-20.

Haffajee AD, Dibart S, Kent RL Jr, Socransky SS. Clinical and microbiological changes associated with the use of 4 adjunctive systemically administered agents in the treatment of periodontal infections. **J Clin Periodontol.** 1995 Aug;22(8):618-27.

Heinze T, Liebert T, 2001. Unconventional methods in cellulose functionalization. *Progress in Polymer Science.* 26, 1689-1762.

Horbylon B.H., da Silva L.G., Neves Martins J.F., Guerra W., Magalhães D., Menezes H.H.M., et al. In vitro study of the desorption kinetic of doxycycline and tetracycline incorporated into collagen controlled released device (CRDs). **African Journal of Pharmacy and Pharmacology.** 2013

Jeffcoat M, Bray KS, Cianico SG, Dentino AR, Fine DH, Gordon JM, et al. Adjunctive use of a subgingival controlled-release chlorhexidine chip reduces probing depth and improves attachment level compared with scaling and root planing alone. **J Periodontol** 1998; 69: 989–997.

Jones DS, Woolfson AD, Brown AF, Coulter WA, McClelland C, Irwin CR. Design, characterisation and preliminary clinical evaluation of a novel mucoadhesive topical formulation containing tetracycline for the treatment of periodontal disease. **J Control Release**. 2000 Jul 3;67(2-3):357-68.

Kaplan, D. L., Biopolymers from renewable resources. **Springer: Medford, USA**, 1998.

Kho, J, G, L. & Newman, H, N, Subgingival plaque control by a simplified oral hygiene regime plus local chlorhexidine or metronidazole. **Journal of Periodontal Research**. 1983 18, 607-619.

Killooy WJ, Polson AM. Controlled local delivery of antimicrobials in the treatment of periodontitis. **Dent. Clin. North Am**. 1998 42:263-283.

Kinane DF, Radvar M. A six-month comparison of three periodontal local antimicrobial therapies in persistent periodontal pockets. **J Periodontol**. 1999 Jan;70(1):1-7.

Klemm, D.; Philipp, B.; Heinze, T.; Heinze, U.; Wagenknecht, W. **Comprehensive Cellulose Chemistry: Functionalization of cellulose**. New York: Wiley-VCH, 389p., 1998b. v.2.

Knaus S, Bauer-Heim B. Synthesis and properties of anionic cellulose ethers: influence of functional groups and molecular weight on flowability of concrete. **Carbohydr Polym**. 2003; 53(4): 383–3.

Langer RS, Peppas NA. Present and future applications of biomaterials in controlled drug delivery systems. **Biomaterials**. 1981;2:201-214.

Lyra, M. A. M, Sobrinho, J. L. S., Brasilier, M. T., La Roca, M. F., Barraza, J.

A., Viana, O. S. Sistemas Matriciais Hidrofílicos e Mucoadesivos para Liberação Controlada de Fármacos. **Latin American Journal of Pharmacy**. 2007;26, 784-93, 2007.

MacNeill S, Rindler E, Walker A, Brown AR, Cobb CM. Effects of tetracycline hydrochloride and chlorhexidine gluconate on *Candida albicans* . **An in vitro study, J Clin Periodontol**. 1997; 24:753-60.

Matesanz-Pérez P, García-Gargallo M, Figuero E, Bascones-Martínez A, Sanz M, Herrera D. A systematic review on the effects of local antimicrobials as adjuncts to subgingival debridement, compared with subgingival debridement alone, in the treatment of chronic periodontitis. **J Clin Periodontol**. 2013 Mar; 40(3):227-41. doi: 10.1111/jcpe.12026. Epub 2013 Jan 16.

Medlicott, N. J., Rathbone, M. J., Tucker, I. G., Holborow, D. W. Delivery systems for the administration of drugs to the periodontal pocket. **Adv. Drug Deliv**. 1994. Rev., v. 13, p. 181-203, 1994

Minabe, M, et al. Therapeutic effect of the combined therapy using tetracycline immobilized collagen film and root planning in single root teeth. **Journal of Periodontal Research Submitted**, 1990.

Morejon MG, Salup RD, Cue MB. Actualización en tetraciclinas. **Rev Cubana Farm**. 2003; 37(3):1.

Newman MG, Kornman KS, Doherty FM. A 6-month multi-center evaluation of adjunctive tetracycline fiber therapy used in conjunction with scaling and root planing in maintenance patients: clinical results. **J Periodontol**. 1994 Jul;65(7):685-91.

Puleo, A. C.; Paul, D. R.; Kelley, S. S., The Effect of Degree of Acetylation on Gas Sorption and Transport Behavior in Cellulose-Acetate. **Journal of Membrane Science**.1989, 47, (3), 301-332.

Ramamurthy NS, Liu Y, Turner G, Rifkin BR, Goulb LM. Therapeutic inhibition of experimental periodontal breakdown in rates: comparison of different

chemically-modified tetracyclines (CMTs). **J Dent Res.** 2000;79:403.

Ren, J. L., Sun, R. C., Liu, C. F., Cao, Z. N., & Luo, W. Acetylation Of Wheat Straw Hemicelluloses In Ionic Liquid Using Iodine As A Catalyst. **Carbohydrate Polymers.** 2007;70(4), 406–414.

Ribera A. Tetracyclines. **Treballs de la SCB.** 2004;55:121-134.

Roberts MC. Tetracycline resistance determinants: mechanisms of action, regulation of expression, genetic mobility, and distribution. **FEMS Microbiol Rev** 1996; 19:1-24.

Roberts MC. Antibiotic toxicity, interactions and resistance development. **Periodontol.** 2002; 28:280-297

Rodrigues Filho, G.; da Silva, R. C.; Meireles, C. D.; da Assuncao, R. M. N.; Otaguro, H., Water flux through blends from waste materials: Cellulose acetate (from sugar cane bagasse) with polystyrene (from plastic cups). **Journal of Applied Polymer Science.** 2005, 96, (2), 516-522.

Rodrigues Filho, G.; Toledo, L. C.; Cerqueira, D. A.; de Assuncao, R. M. N.; Meireles, C. D.; Otaguro, H.; Rogero, S. O.; et al. Water flux, DSC, and cytotoxicity characterization of membranes of cellulose acetate produced from sugar cane bagasse, using PEG 600. **Polymer Bulletin** 2007, 59, (1), 73-81.

Rodrigues Filho, G.; da Cruz, S. F.; Pasquini, D.; Cerqueira, D. A.; Prado, V. D.; de Assuncao, R. M. N., Water flux through cellulose triacetate films produced from heterogeneous acetylation of sugar cane bagasse. **Journal of Membrane Science.** 2000, 177, (1-2), 225-231.

Samios, E.; Dart, R. K.; Dawkins, J. V., Preparation, characterization and biodegradation studies on cellulose acetates with varying degrees of substitution. **Polymer.** 1997;38, (12), 3045-3054.

Salvi GE, Mombelli A, Mayfield L, Rutar A, Suvan J, Garrett S, et al. Local antimicrobial therapy after initial periodontal treatment. A randomized clinical

trial comparing three biodegradable sustained release polymers. **J Clin Periodontol.** 2002; 29:540-50.

Samios, E.; Dart, R.K.; Dawkins, J.V. Preparation, characterization and biodegradation studies on cellulose acetates with varying degrees of substitution. **Polymer**, v.38, n.12, p.3045-3054, 1997.

Sato, H.; Uraki, Y.; Kishimoto, T.; Sano, Y., New process for producing cellulose acetate from wood in concentrated acetic acid. **Cellulose.** 2003, 10, (4), 397-404.

Shaikh, H. M.; Pandare, K. V.; Nair, G.; Varma, A. J., Utilization of sugarcane bagasse cellulose for producing cellulose acetates: Novel use of residual hemicelluloses as plasticizer **Carbohydrate Polymers.** 2009, in press.

Slots J, Jorgensen MG. Effective, safe, practical and affordable periodontal antimicrobial therapy: where are we going, and are we there yet? **J. Periodontol.** 2002;28:298-312.

Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal diseases: Current concepts. **J Periodontol** 1992; 63: 322-31.

Solomon OF, Ciuta IZ. **J Appl Polym Sci.** 1962;6:683–686.

Soskolne WA, Chajek T, Flashner M, Landau I, Stabholtz A, Koolatch B, Lerner EI. An in vivo study of the chlorhex- idine release profile of the PerioChip in the gingival crevicular fluid, plasma and urine. **J Clin Periodontol.** 1998;25:1017–1021

Soskolne, W.A.; Freidman, M.F. Intra-periodontal pocket drug delivery systems. In: RATHBONE, M. J. (Ed.). **Oral mucosal drug delivery.** New York: Marcel Dekker, 1996.v. 74, p. 359-379.

Soskolne WA, Heasman PA, Stabholz A, Smart GJ, Palmer M, Flashner M, et al. Sustained local delivery of chlorhexidine in the treatment of periodontitis: a multi-center study. **J Periodontol** 1997;68: 32–38. 106.

Sossna, M.; Hollas, M.; Schaper, J.; Scheper, T., Structural development of asymmetric cellulose acetate microfiltration membranes prepared by a single-layer dry-casting method. **Journal of Membrane Science** 2007, 289, (1-2), 7-14.

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

Thomas J, Karakiozis J, Powala C, Dawson-Ahdoh D, Van Kyke L. Establishing the non-antimicrobial activity of chemically modified tetracyclines (CMTs) versus doxycycline. **J Dent Res.** 2000; 79:403.

Tonetti MS, Cortellini P, Carnevale G, Cattabriga M, de Sanctis M, Pini Prato GP. A controlled multicenter study of adjunctive use of tetracycline periodontal fibers in mandibular class II furcations with persistent bleeding. **J Clin Periodontol.** 1998 Sep; 25(9): 728-36.

Tonetti, M.; Cugini, M. A.; Goodson, J. M. Zeroorder delivery with periodontal placement of tetracycline-loaded ethylene vinyl acetate fibres. **J. Periodont. Res.** 1990;v. 25, p. 243-249.

Walter, C. B., Gordon, J. M., Cornwall, H. A. et al.: Gingival crevicular fluid levels of Clindamycin compared with its minimal inhibitory concentrations for periodontal bacteria. **Antimicrob Agents Chemother.** 1981;19: 867.

Wennstrom, J. L., Newman, H. N., MacNeill, S. R., Killoy, W. J., Griffiths, G. S., Gillam, D. G., et al. Utilisation of locally delivered doxycycline in non-surgical treatment of chronic periodontitis. A comparative multicenter trial of 2 treatment approaches. **J Clin Periodontol.** 2001 Aug;28(8):753-61.

Xajigeorgiou C, Sakellari D, Slini T, Baka A, Konstantinidis A. Clinical and microbiological effects of different antimicrobials on generalized aggressive periodontitis. **J. Clin. Periodontol.** 2006;33 : 254-264.

Yilmaz, L. E Mchugh, A.J., Modelling of asymmetric membrane formation.

I.critique of evaporation models and development of a diffusion equation formalism for the quench period. **Journal of Membrane Science**. 1986;28, 287-310.