



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Desenvolvimento de formulação líquida do tipo *spray* a base de pilocarpina e avaliação da atividade sialogoga

GIULIANO ANDRÉ SILVA SANTOS

Teresina – Piauí

2012

GIULIANO ANDRÉ SILVA SANTOS

Desenvolvimento de formulação líquida do tipo *spray* a base de pilocarpina e avaliação da atividade sialogoga

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Departamento de Bioquímica e Farmacologia da Universidade Federal do Piauí, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes

Co-Orientador: Prof. Dr. Rivelilson Mendes de Freitas

Teresina – Piauí

2012

GIULIANO ANDRÉ SILVA SANTOS

Desenvolvimento de formulação líquida do tipo *spray* a base de pilocarpina e avaliação da atividade sialogoga

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Departamento de Bioquímica e Farmacologia da Universidade Federal do Piauí, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovado em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes (Orientador)

Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas – CCS/UFPI

Prof^a. Dra. Maria das Graças Freire de Medeiros (Examinadora Interna)

Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas – CCS/UFPI

Prof^a. Dra. Cleide Maria da Silva Leite (Examinadora Interna)

Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas – CCS/UFPI

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ

REITOR

Prof. Dr. José Arimatéia Dantas Lopes

VICE-REITOR

Prof^a. Dr^a. Nadir do Nascimento Nogueira

PRO-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Saulo Cunha de Serpa Brandão

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Antonio dos Santos Rocha Filho

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

José Guilherme Ferre Pompeu

COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS

FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Rivelilson Mendes de Freitas

VICE-COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS

FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes

Dedico esta dissertação a minha família, Miguel, Benedita, Fabiano e Christiano por estarem sempre me dando forças para alcançar objetivos e superar quaisquer obstáculos.

Dedico também aos amigos e parentes, que assim são ao mesmo tempo queridos e responsáveis por mim, em especial Liszt Félix, Daniele Suzy, Milena Bizerra, Catarina e Rita, e a minha querida turma Eternos Calouros, na qual me formei Farmacêutico e ainda hoje se faz uma grande turma da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi iniciado e concluído graças a incentivadores que merecem meu apreço e que são desde muito tempo os motivadores de minha trajetória acadêmica, às vezes por me fornecer conhecimento, outras vezes por me amadurecer ideias, construindo a pessoa que me sinto hoje. Foram oportunidades oferecidas e gastas, sem dores de cabeça, e por isso hoje ainda me faço disponível para aceitar novos desafios.

Agradeço ao Professor e Doutor Lívio César Cunha Nunes e a toda a equipe do Grupo de Estudos sobre o Uso de Medicamentos – GEUM, criado como parte do meu trabalho de conclusão de curso de graduação em Farmácia, em especial a Laisa Lis e Thaísa Cardoso. Agradeço também a Vegeflora Extrações do Nordeste Ltda pelo fornecimento do Cloridrato de Pilocarpina e a aluna da pós-graduação em Ciências Farmacêuticas Mayara Ladeira que colaborou no desenvolvimento do *spray*.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	15
1.1 Objetivo Geral	15
1.2 Objetivos Específicos	15
3 REVISÃO DE LITERATURA	16
4 CAPÍTULO I: Pilocarpina para tratamento da xerostomia: estado da arte	19
Resumo	20
Abstract	20
Introdução	21
Material e Métodos	22
Resultados	23
Discussão	26
Conclusão	31
Referências	31
5 CAPÍTULO II: Desenvolvimento tecnológico de formulação líquida do tipo <i>spray</i> a base de pilocarpina e avaliação da atividade sialogoga	37
Resumo	38
Abstract	38
Introdução	39
Material e Métodos	40
Resultados e Discussão	42
Conclusão	47
Referências	48
6 CAPÍTULO III: Avaliação da sustentação do efeito sialogogo de uma formulação de <i>spray</i> de pilocarpina contendo polímero mucoadesivo	50

Resumo	51
Abstract	51
Introdução	52
Material e Métodos	53
Resultados e Discussão	54
Conclusão.....	58
Referências.....	58
7 CAPÍTULO IV: Patente: <i>Spray</i> oral contendo pilocarpina com atividade sialogoga	61
Resumo	62
Reivindicações	63
8 PERSPECTIVAS	64
REFERÊNCIAS	65
ANEXOS	68

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

®	Marca registrada
Inc.	<i>Incorporation</i>
EUA	Estados Unidos da América
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
Ltda.	Limitada
INPI	Instituto Nacional de Propriedade Industrial
INCA	Instituto Nacional do Câncer
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
ESPACENET	European Patent Office
WIPO	World Intellectual Property Organization
USPTO	United States Patent and Trademark Office
SCIELO	Scientific Eletronic Library Online
JCR2010	Journal Citations Reports® 2010
Univ.	Universidade
pH	Potencial de Hidrogênio
HPLC	<i>High-performance Liquid Chromatography</i>
UV	Ultravioleta
nm	Nanômetro
USP	United States Pharmacopoeia
UFPI	Universidade Federal do Piauí
P.A.	Princípio Ativo
i.p.	Via Intraperitoneal
Ag.	Agente
Visc.	Viscosidade
Qs	Quantidade suficiente
Qsp	Quantidade suficiente para
p/p	Peso/Peso
F1	Formulação 1
F2	Formulação 2
F3	Formulação 3

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

- Figura 1** Frequência de patentes depositadas com abordagem em pilocarpina para tratamento da xerostomia por ano e país de origem. Teresina, 2012 **25**
- Figura 2** Frequência das patentes depositadas com abordagem em pilocarpina para tratamento da xerostomia por forma farmacêutica. Teresina, 2012 **25**

Capítulo II

- Figura 1** Infravermelho para o cloridrato de pilocarpina; Pastilha de KBr e associação entre picos de absorção e as ligações químicas correspondentes **42**
- Figura 2** Teor de cloridrato de pilocarpina presente nas formulações: placebo, F1, F2 e F3 **45**
- Figura 3** Representação da análise estatística da atividade sialogoga dos placebos e das concentrações 2, 4 e 14 $\mu\text{mol/Kg}$ de cloridrato de pilocarpina nas apresentações de solução oral e *spray* bucal **46**

Capítulo III

- Figura 1** Representação dos resultados de sialometria em ratos machos *Wistar*, com medidas repetidas, com administração de água potável **55**
- Figura 2** Representação dos resultados de sialometria em ratos machos *Wistar*, com medidas repetidas após administração de 4 $\mu\text{mol/kg}$ cloridrato de pilocarpina em solução oral **56**
- Figura 3** Representação dos resultados de sialometria em ratos machos *Wistar*, com medidas repetidas após administração de 4 $\mu\text{mol/kg}$ cloridrato de pilocarpina por aspersão de *spray* via bucal **56**
- Figura 4** Representação ilustrada da interligação das cadeias do material bioadesivo nas cadeias poliméricas de muco seguido de passagem do fármaco transportado **57**

LISTA DE TABELAS**Capítulo I**

Tabela 1	Resultados da pesquisa por palavras-chave, isoladas e associadas, encontradas nos títulos e resumos em bancos de dados de patentes nacionais e internacionais. Teresina, 2012.....	23
Tabela 2	Apresentações farmacêuticas de interesse contendo pilocarpina. Teresina, 2012	24
Tabela 3	Empresas depositárias de produtos da pilocarpina e sua atividade por autor e patente de referência. Teresina, 2012	26
Tabela 4	Artigos publicados por autores depositários de produtos da pilocarpina e sua patente relacionada, ano de publicação dos artigos, objetivo e fator de impacto JCR 2010 da revista em que foi publicada. Teresina, 2012.....	27

Capítulo II

Tabela 1	Composição da formulação líquida desenvolvida para formulação de <i>spray</i> para xerostomia.....	43
-----------------	--	-----------

Desenvolvimento de formulação líquida do tipo *spray* a base de pilocarpina e avaliação da atividade sialogoga. GIULIANO ANDRÉ SILVA SANTOS. Orientador: Lívio César Cunha Nunes. Dissertação. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Centro de Ciências da Saúde. Departamento de Bioquímica e Farmacologia, UFPI, 2012.

RESUMO

A xerostomia tem diversas etiologias, dentre elas síndromes autoimunes, radioterapia e uso de fármacos anticolinérgicos, podendo ocasionar redução da qualidade de vida de muitos pacientes. A conhecida atividade agonista colinérgica da pilocarpina tem sido explorada de diversas formas ao longo dos anos e as pesquisas com o fármaco geraram patentes de produtos para uso no tratamento desse problema. Em pesquisa pelos produtos patenteados com o princípio ativo pilocarpina foram encontradas treze diferentes formulações inovadoras patenteadas, que vão desde comprimidos a formulações líquidas. A forma comercializada no mercado pela Eisai Inc. foi aprovada pelo FDA em 1994 e trata-se da única forma disponível no mercado para uso em xerostomia. Outras formas de aplicação como bioadesivos, chicletes e soluções para gargarejo, embora tenham se mostrado promissoras, não estão disponíveis no mercado. A inexistência da apresentação do tipo *spray* contendo a pilocarpina, nas buscas de patentes, além da necessidade de um tratamento de fácil adesão, aquisição e com redução de efeitos colaterais, nortearam o desenvolvimento do trabalho. Para tanto, foram realizados estudos de pré-formulação, desenvolvimento e controle de qualidade. A formulação desenvolvida foi avaliada quanto à capacidade de salivagem em ratos adultos, com metodologia de sialometria descrita por Takakura e colaboradores com modificações. Os resultados mostraram que houve aumento significativo ($p < 0,05$) na salivagem. O uso de um polímero (hidroxipropilcelulose) reconhecidamente bioadesivo, prevê uma liberação regular e lenta do princípio ativo, diminuindo a deglutição do princípio ativo e assim, os efeitos sistêmicos indesejáveis. Em ensaio comparando o tempo de sustentação do efeito sialogogo do *spray* por meio de repetidas medidas da salivagem ao longo do tempo, foi observado um efeito prolongado deste em relação a solução oral de pilocarpina, tendo havido aumento significativo ($p < 0,05$) da salivagem por até sessenta minutos em ratos. Dessa forma, conclui-se que a formulação desenvolvida constitui importante ferramenta para tratamento e auxílio de pacientes que sofrem de xerostomia.

Palavras-chave: Secura da boca, Síndrome de Sjögren, Agonistas colinérgicos, Radioterapia, Câncer de Cabeça e Pescoço, Saliva.

Development of a spray-like liquid dosage form containing pilocarpine and evaluation of sialogogue activity. GIULIANO ANDRÉ SILVA SANTOS. Advisor: Lívio César Cunha Nunes. Dissertation. Post-Graduate Program in Pharmaceutical Sciences. Center for Health Sciences. Department of Biochemistry and Pharmacology, UFPI, 2012.

ABSTRACT

Xerostomia has many causes, among them autoimmune syndromes, radiation therapy and use of anticholinergic drugs, which may cause reduced quality of life for many patients. The known activity of pilocarpine as a cholinergic agonist has been exploited in many ways over the years and the research led to the drug application patents for use in treating of this health problem. In pursuit of the patented products with the active principle pilocarpine, thirteen different innovative patented formulations were found, ranging from tablets to liquid formulations. The marketed Eisai Inc. tablet was approved by the FDA in 1994 and it is the only form available on the market for use in xerostomia. Other forms of application as bioadhesives, chewing gum and gargle solutions, but yet proved promising, they are not available. The lack of presentation of spray type containing pilocarpine in patent searches, beyond the need for an easy adhesion treatment, acquisition and reduction of side effects, guided the development of such work. To this end, pre-formulation studies were performed, with technological development and quality control. The formulation developed was evaluated regarding the ability of salivation in adult rats with modified sialometry methodology described by Takakura et al. The results showed a significant increase ($p < 0.05$) in salivation. The use of a polymer (hydroxypropylcellulose) known bioadhesive, provides a regular and slow release of active, reducing the swallowing of the drug and thus the undesirable systemic effects. In the test comparing the time of sustaining the sialogogue effect of the spray by repeated measures of the salivation over time, a prolonged effect in relation to a pilocarpine solution oral was observed, and there was a significant increase ($p < 0.05$) in salivation for up to sixty minutes in rats. Thus, it is concluded that the formulation is an important tool developed for the treatment and support of patients suffering from xerostomia.

Keywords: Mouth dryness, Sjogren's Syndrome, Colinergic agonists, Radiotherapy, Head and Neck Cancer, Saliva.

1 INTRODUÇÃO

O cloridrato de pilocarpina é um fármaco parassimpaticomimético com potencial uso para o tratamento da xerostomia, ou boca seca. A radioterapia de câncer na região da cabeça e do pescoço, a síndrome de Sjögren e o uso crônico de medicamentos com atividade anticolinérgica são as causas mais comuns da secura da boca, que pode reduzir a qualidade de vida dos pacientes a partir da redução prolongada da produção de saliva, essencial para deglutição de alimentos sólidos e proteção contra infecções na boca.

A forma farmacêutica de comprimido de liberação imediata de cloridrato de pilocarpina (Salagen[®], MGI Pharma Inc., Minnesota, EUA) foi registrada na agência americana Food and Drug Administration (FDA) em 1994, e é indicada para xerostomia. No entanto, no Brasil não existe um medicamento devidamente registrado para este fim, devendo ser importado para uso pelos pacientes.

A pilocarpina base e seus sais, nitrato e cloridrato, são extraídos principalmente das folhas da espécie *Pilocarpus microphyllus* Stapf pela empresa Vegeflora Extrações do Nordeste Ltda. do grupo Centroflora em Parnaíba (PI). Popularmente conhecida como Jaborandi essa espécie é encontrada principalmente no Brasil, nos estados do Piauí e Maranhão.

O sal nitrato de pilocarpina tem emprego na formulação de diversos colírios para glaucoma comercializados no Brasil, mas estes medicamentos não apresentam forma farmacêutica adequada para administração em pacientes xerostômicos. O cloridrato de pilocarpina em forma de comprimido para via oral é a única opção disponível no mercado, mas apresenta efeitos adversos devido à absorção sistêmica do fármaco.

Neste contexto, o trabalho “Desenvolvimento de formulação líquida do tipo *spray* a base de pilocarpina e avaliação da atividade sialogoga”, foi organizado em capítulos que deram origem a artigos científicos submetidos a revistas internacionais com ampla divulgação na comunidade científica. Primeiramente uma prospecção tecnológica definiu as diretrizes do estudo. Foram realizados testes de formulação tipo *spray* em modelos experimentais modificados para avaliação do efeito. Além disso, houve um depósito de pedido de patente no Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) no momento em que se percebe a inovação e a importância de contribuir para o enriquecimento científico do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Desenvolver medicamento *spray* de uso bucal contendo pilocarpina com atividade sialogoga e potencial uso em xerostomia.

2.2 Objetivos Específicos

- Realizar prospecção tecnológica para o uso de pilocarpina em pacientes com xerostomia;
- Preparar as formulações farmacêuticas líquidas, solução na forma de *spray*, contendo cloridrato de pilocarpina;
- Testar atividade sialogoga das formulações líquidas de pilocarpina em ratos;
- Avaliar a sustentação do efeito sialogogo da formulação de *spray* em ratos.

3 REVISÃO DE LITERATURA

A xerostomia é definida como uma sensação subjetiva de secura na boca. Ela ocorre tanto por causa de uma redução na quantidade de saliva produzida quanto por uma mudança em sua composição (BAPTISTA NETO & SUGAYA, 2004; VISVANATHAN & NIX, 2010). Trata-se de um conjunto de sinais e sintomas decorrente de certas doenças ou estímulos diversos, incluindo o efeito secundário de alguns medicamentos (FEIO & SAPETA, 2005; COIMBRA, 2009). A xerostomia crônica compromete a mastigação, deglutição, fala, predispõe a cavidade oral a uma variedade de processos destrutivos que incluem atrofia, ulceração da mucosa e infecções e conseqüentemente podem provocar deficiências nutricionais e dificuldades de comunicação e de sono, levando a um declínio geral na qualidade de vida (BERNARDI et al, 2002).

As causas mais comuns de secura na boca incluem radioterapia de câncer da cabeça e pescoço, Síndrome de Sjögren e medicações sistêmicas com efeito anticolinérgico (FAVARO, FERREIRA & MARTINS, 2006; VISVANATHAN & NIX, 2010). O câncer de cabeça e pescoço em nível mundial representa 10% dos tumores malignos. No Brasil, o Instituto Nacional do Câncer (INCA) estimou, para o ano de 2010, a ocorrência de 489.270 casos novos de câncer, dos quais 14.120 da cavidade oral (2,9%) (INCA, 2010). O principal efeito da radioterapia aplicada nesses pacientes é a redução no fluxo salivar, hipossalivação, pois o tecido das glândulas salivares é altamente sensível a radiação, havendo atrofia e degeneração acinar (BONAN et al, 2003; RUBIRA et al, 2007; VISSINK et al, 2010).

A síndrome de Sjögren é uma desordem multissistêmica crônica imunomediada caracterizada pela inflamação das glândulas exócrinas, levando a sintomas clínicos de secura, em particular dos olhos e da boca e ceratoconjuntivite seca (FREITAS et al, 2004; PORTER, SCULLY & HEGARTY, 2004). Embora pessoas de todas as idades possam ser afetadas, a doença tem maior incidência entre indivíduos na quarta e quinta décadas de vida, sendo as mulheres mais acometidas do que os homens (FELBERG & DANTAS, 2006).

A xerostomia também pode ser provocada por um grande número de drogas, especialmente agentes antimuscarínicos, alguns agentes simpaticomiméticos e agentes que afetam a captação de serotonina e noradrenalina, bem como outras drogas como inibidores da protease e inibidores de apetite. Os medicamentos com atividade anticolinérgica no receptor muscarínico M3 são a causa mais comum relatada de diminuição da salivação (SCULLY, 2003).

A saliva é composta de dois componentes que são secretados por mecanismos independentes: primeiro, um componente fluido que inclui íons, produzido principalmente pela estimulação parassimpática, e segundo, um componente protéico decorrente das vesículas secretoras em ácinos e liberado principalmente em resposta à estimulação simpática. A excitação de ambos os nervos simpáticos ou parassimpáticos para as glândulas salivares estimula a secreção salivar, mas os efeitos dos nervos parassimpáticos são mais fortes e duradouros (SCULLY, 2003; PORTER, SCULLY & HEGARTY, 2004).

A saliva é uma secreção exócrina que é produzida por células especializadas das glândulas salivares e liberada para o meio externo. Essas glândulas são divididas em dois grupos, o das glândulas salivares maiores e o das glândulas salivares menores. As glândulas salivares maiores estão em menor número constituindo-se nos pares de glândulas parótidas, submandibulares e a sublinguais. As glândulas salivares menores são estruturas presentes por toda cavidade oral e orofaringe, podendo também ser encontradas na laringe, traquéia e nasofaringe (CATALÁN, 2009; MIYOSHI, 2011).

De uma forma geral, as glândulas menores da cavidade oral secretam basicamente muco, enquanto as parótidas secretam saliva do tipo serosa e as submandibulares e sublinguais secretam uma mistura dos dois tipos. As parótidas possuem secreção muito mais rica em água do que a das outras glândulas, dessa forma, lesões nestas resultam numa saliva muito mais espessa e viscosa (FEIO, 2005; GUYTON, 2006; MIYOSHI, 2011).

Um fármaco parasimpaticomimético que apresenta potente propriedade estimulante muscarínica conhecida é o cloridrato de pilocarpina. Os efeitos farmacológicos deste agente são múltiplos e incluem: aumento do tônus da musculatura lisa e motilidade do trato gastrointestinal, urinário, vesícula biliar, ductos biliares e brônquios. Um aumento notável de saliva e secreção das glândulas sudoríparas é observado com o uso de pilocarpina e estas propriedades são conhecidas na medicina ocidental há mais de 100 anos (BERNARDI et al, 2002).

A introdução de folhas de jaborandi para a medicina ocidental remonta a 1873, quando Symphronio Coutinho foi para a Europa, levando consigo as amostras das folhas. O suor e salivagem abundante provocada pelas folhas atraiu a atenção de médicos franceses. Logo as folhas de jaborandi estavam sendo empregadas no tratamento de muitas doenças. Em 1875, Hardy e Gerrard independentemente descobriram o alcalóide pilocarpina (HOLMSTEDTA, WASSEN & SCHULTES, 1979).

A pilocarpina é um alcalóide imidazólico exclusivamente encontrado em plantas do gênero *Pilocarpus*. Este gênero inclui 17 espécies, das quais quatorze são distribuídas no

território brasileiro. Entretanto, apenas duas espécies são cultivadas para produção das folhas de onde se extrai o alcalóide: *P. microphyllus* e *P. jaborandi* (SAWAYA et al, 2011).

Os efeitos da pilocarpina são geralmente imediatos, entretanto, para pacientes com xerostomia induzida por radioterapia, pode levar até 12 semanas para haver efeito (VISVANATHAN & NIX, 2010). A administração de pilocarpina ou sialagogos colinérgicos puros para estimular qualquer função residual da glândula salivar após radioterapia tem sucesso, mas um efeito mais persistente pode ser observado quando pilocarpina é administrada antes da radioterapia, continuada durante a radioterapia e depois é interrompida (VISSINK et al, 2010).

Embora haja contraindicações, os ensaios clínicos apontam efeitos colaterais mínimos e quando estes ocorrem, geralmente caracteriza-se por rubor facial e aumento da atividade intestinal, nada mais severo. Desta forma, a dificuldade do uso da pilocarpina não reside nos efeitos colaterais ou na sua ineficácia, mas sim na adoção de um protocolo para estes pacientes e na aquisição do medicamento, que não é produzido no Brasil e, por isso, tem alto custo devido a importação (NETO & SUGAYA, 2004).

Diversos trabalhos utilizando ratos têm demonstrado possíveis mecanismos de ação pelos quais a pilocarpina age sobre a salivação, tendo resultados positivos tanto na avaliação de atividade central (CECANHO et al., 1999; MOREIRA et al., 2001; RENZI, DE LUCA JR & MENANI, 2002; TAKAKURA et al., 2003; ALMEIDA et al., 2006; BORELLA et al., 2008; SPRENGER et al., 2009; TAKAKURA et al., 2009) quanto da atividade local do fármaco, principalmente nas glândulas parótidas (MASUNAGA et al., 1997; OMORI et al., 2003; ASARI, MARUYAMA & KUSAMA, 2009).

Estudos utilizando pilocarpina como princípio ativo no combate a xerostomia têm demonstrado sua eficácia, mas o uso tópico, bucal, ainda não é bem explorado, de tal forma que não há produtos farmacêuticos para esta via disponíveis no mundo. O interesse por esta pesquisa parte da necessidade de se produzir um medicamento para xerostomia de fácil aplicação local contendo cloridrato de pilocarpina, que é um fármaco extraído das folhas de jaborandi a partir de uma técnica de produção já há bastante tempo explorada no Piauí.

4 CAPÍTULO I:

PILOCARPINA PARA TRATAMENTO DA XEROSTOMIA: ESTADO DA ARTE

(Artigo submetido à Archives of Oral Biology – Qualis: B2)

Pilocarpina para tratamento da xerostomia: estado da arte

SANTOS, G. A. S.^{1,2}; SÁ, L. L. F.^{1,2}; NUNES, L. C. C.²

¹ Núcleo de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Brasil.

² Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Brasil.

RESUMO

A xerostomia tem diversas etiologias, dentre elas síndromes autoimunes, radioterapia e uso de fármacos anticolinérgicos, podendo ocasionar redução da qualidade de vida de muitos pacientes. A conhecida atividade agonista colinérgica da pilocarpina tem sido explorada de diversas formas ao longo dos anos e as pesquisas com o fármaco geraram patentes de produtos para uso no tratamento desse problema. O objetivo deste trabalho foi identificar os produtos patenteados com o princípio ativo pilocarpina e discutir suas implicações para novas pesquisas na produção de medicamentos. Foram encontradas 13 diferentes formulações inovadoras patenteadas, que vão desde comprimidos a formulações líquidas. A forma comercializada no mercado pela Eisai Inc. foi aprovada pelo FDA em 1994 e trata-se da única forma disponível no mercado para uso em xerostomia. Outras formas de aplicação como bioadesivos, chicletes e soluções para gargarejo, embora tenham se mostrado promissoras, não estão disponíveis no mercado.

Palavras-chave: Secura da Boca, Síndrome de Sjögren, Agonistas Colinérgicos, Saliva.

ABSTRACT: Pilocarpine application on treatment of xerostomia: state of art

Xerostomia has various causes, among them autoimmune syndromes, radiation therapy and use of anticholinergic drugs, which may lead to reduced quality of life for many patients. The known agonist cholinergic activity in the pilocarpine hydrochloride has been exploited in many ways over the years and research with this drug led to patented products to be used on treatment of this disease. The objective of this study was to identify the patented products with the active ingredient pilocarpine and discuss their implications for further research in drug production. We found 13 different innovative patented formulations, ranging from tablets to liquid formulations. The way it is commercialized on the market by Eisai Inc. was approved by the FDA in 1994 and it is the only way commercially available for use in

xerostomia. Other forms of application as bioadhesives, chewing gum and gargling solutions, although they have proved promising, they are not available.

Keywords: Mouth Dryness, Sjogren's Syndrome, Cholinergic Agonists, Saliva.

INTRODUÇÃO

A saliva, além de importante papel no processo de mastigação, degradação e deglutição dos alimentos, é essencial para a manutenção da saúde bucal através de lubrificação, limpeza e proteção dos tecidos bucais contra microorganismos (BRAGA et al. 2009). Ela é composta de dois componentes secretados por mecanismos independentes: primeiro, um componente fluido que inclui íons, produzido principalmente pela estimulação parassimpática, em segundo lugar, um componente protéico decorrente das vesículas secretoras em ácinos e liberado principalmente em resposta à estimulação simpática. A excitação de ambos os nervos simpáticos e parassimpáticos para as glândulas salivares estimula a secreção salivar, mas os efeitos da estimulação dos nervos parassimpáticos são mais fortes e duradouros (SCULLY, 2003; PORTER et al, 2004)

O termo xerostomia é freqüentemente usado para referir alterações qualitativas ou quantitativas no fluxo salivar, o que pode afetar desfavoravelmente, não apenas a saúde bucal, com atrofia, ulcerações da mucosa, cáries e outras infecções, mas também a qualidade de vida dos indivíduos, sendo esta uma condição clínica de grande relevância médica (ZUMAËTA et al., 1999; MARIETTE, 2004; BRAGA et al., 2009).

As causas dessas alterações incluem principalmente as exocrinopatias autoimunes (ex. Síndrome de Sjögren) e o tratamento com radiações ionizantes de tumores da cabeça e pescoço. Outros fatores como o uso de fármacos com efeito anticolinérgico (antidepressivos tricíclicos, anti-histamínicos, anti-hipertensivos e diuréticos) e especificamente algumas doenças como infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), hepatite C, diabetes mellitus e hipertensão podem negativar o fluxo salivar (VISVANATHAN, 2010).

Os tratamentos hoje existentes incluem alternativas como saliva artificial, cujo efeito é passageiro e momentâneo e, portanto, com baixa adesão, e agonistas colinérgicos, como pilocarpina (Salagen[®]) e cevimelina (Evovac[®]) na forma de comprimido (MARIETTE, 2004).

Vários estudos têm demonstrado a atividade sialogoga do cloridrato de pilocarpina em pacientes com Síndrome de Sjögren e pacientes de radioterapia de câncer na cabeça e pescoço (RIEKE et al., 1995; VIVINO et al., 1999; WU et al., 2006; AFRAMIAN et al., 2007).

Em um estudo comparativo entre saliva artificial e comprimido de cloridrato de pilocarpina no manejo da xerostomia em pacientes com câncer avançado, realizado por Davies e colaboradores, a pilocarpina apresentou-se mais efetiva em relação à escala analógica visual e ao depoimento de cada paciente, no entanto, a pilocarpina esteve associada com uma série de efeitos colaterais colinérgicos o que fez 50% dos pacientes preferirem continuar com a saliva artificial. Estes justificaram ainda que a escolha a favor da saliva fora influenciada pela facilidade de manuseio da saliva artificial na forma de *spray* (DAVIES et al., 1999).

Diante da comprovada ação dos agonistas colinérgicos e da baixa adesão ao uso de comprimidos, além do surgimento de efeitos colaterais com o uso dos mesmos, surgiram diversos trabalhos e patentes com novas apresentações para os fármacos representantes da classe. O objetivo deste trabalho foi fazer uma prospecção tecnológica de formulações e apresentações para tratamento da xerostomia possuindo como princípio ativo o cloridrato de pilocarpina.

MATERIAL E MÉTODOS

A prospecção foi realizada tendo como base os pedidos de patente depositados nos bancos de dados do *European Patent Office* (ESPACENET, 2012), *World Intellectual Property Organization* (WIPO, 2012), *United States Patent and Trademark Office* (USPTO, 2012) e Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI, 2012) do Brasil. Foram analisadas todas as patentes referentes à pilocarpina, dando enfoque, entretanto, ao uso desta em preparações farmacêuticas desenvolvidas para tratamento da xerostomia. O estudo foi feito utilizando as palavras chaves Pilocarpin*, Xerostom*, Saliv* e Mouth* (boca), efetuando a busca exclusivamente em títulos e resumos. Foram descartadas as patentes de mesmo título e autor, em que o número referente à mesma encontrava-se apenas diferenciado, considerando apenas o primeiro depósito.

A avaliação dos dados incluiu também pesquisa por formulações nas bases de dados *Web of knowledge* (WEB OF KNOWLEDGE, 2012) e *Scientific Eletronic Library Online* (SCIELO, 2012). As revistas científicas em que se publicaram artigos dos pesquisadores depositantes de patentes foram classificadas de acordo com o fator de impacto do *Journal Citation Reports*[®] 2010 (JCR2010, 2012).

RESULTADOS

Foram pesquisados os termos pilocarpina, saliva, boca e xerostomia, nos respectivos idiomas exigidos pelos bancos de patentes pesquisados (Tabela 1).

As patentes encontradas na busca pelo termo pilocarpina referiam-se à ação agonista colinérgica da pilocarpina e seus sais, cloridrato e nitrato, para tratamento de fibromialgias, xerostomia, xeroftalmia, glaucoma, faringite, dentre outros distúrbios fisiológicos. Referiam-se ainda às metodologias de obtenção deste alcalóide a partir de plantas do gênero *Pilocarpus*. Trata-se da única fonte natural de pilocarpina, sendo as folhas da espécie *P. microphyllus* (jaborandi verdadeiro) as que acumulam o maior conteúdo deste alcalóide (SANDHU et al. 2006).

Tabela 1. Resultados da pesquisa por palavras-chave, isoladas e associadas, encontradas nos títulos e resumos em bancos de dados de patentes nacionais e internacionais. Teresina, 2012.

Palavras-chave	INPI	USPTO	WIPO	ESPACENET
Pilocarpine	6	44	97	305
Pilocarpine and salive	-	2	3	10
Pilocarpine and mouth	-	1	4	11
Pilocarpine and xerostomia	1	3	4	5

Fonte: Dados resultantes da busca no INPI, USPTO, WIPO e ESPACENET em janeiro de 2012.

Ao longo dos anos, a maior variedade de inovações se deu após a década de 1990 com o surgimento de formulações como chieletes e comprimidos e de inovações quanto ao prolongamento do tempo de ação da pilocarpina (Tabela 2). No entanto, seu uso para xerostomia já era conhecido e conteúdo de uma patente depositada em 1979. Duas patentes, Kissei (2007) e Univ. Qingdao (2008), tratam de comprimidos que não merecem destaque por não inovarem na forma farmacêutica reivindicada.

Para o tratamento exclusivo de xerostomia e problemas decorrentes desta, entretanto, foram encontradas treze patentes depositadas entre 1979 e 2008 e publicadas até 2011, tendo como principais países depositários os EUA, Japão e França, com cinco, duas e duas patentes respectivamente (Figura 1). Dentre estas patentes foram encontradas algumas formulações inovadoras por sua forma farmacêutica.

Tabela 2. Apresentações farmacêuticas de interesse contendo pilocarpina. Teresina, 2012.

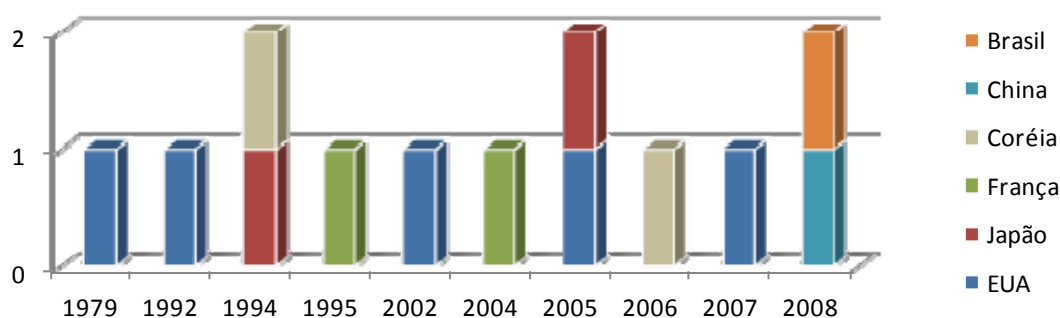
Apresentações contendo pilocarpina	Data depósito da patente	Patentes #	Inventor(es)
Solução para gargarejo	03/04/1979	US4209505-A	Mikhail, A. R.
Comprimido de liberação controlada	02/07/1992	WO9401108-A; EP659077-A; WO9401108-A1; EP659077-A1; US5661171-A; US5731338-A; US5741805-A; EP659077-A4; JP7126163-A	Acharya, R. N.
Adesivo de absorção percutânea	13/06/1994	JP7330602-A	Hori, M.; Sato, T.
Chiclete	30/06/1994	KR9606319-B1; US5571528-A	Ryu, H.; Lee, S.
Comprimido de liberação imediata (Salagen®)	08/08/1995	FR2737661-A; FR2737661-A1	Muscoplat, C. C.
Sistema Tampão (inclui chiclete como veículo)	01/04/2002	WO2003084515-A; US2003185884-A1; WO2003084515-A1; AU2003230785-A1	Singh, N. N.; Nikilesh, S. N.; Natasha, S. N.
Bioadesivo do tecido bucofaringeo	09/01/2004	FR2864901-A1; WO2005067924-A1; EP1701721-A1; US2008241120-A1; EP1701721-B1; DE602005018159-E	Perovitch, P.; Maury, M.; Deymes, J.
Comprimidos dispersíveis	14/10/2005	US2007087053-A1; WO2007046890-A1	Hayward, M. A.
Solução antisséptica para gargarejo	04/08/2006	KR2008012700-A; KR822647-B1	Su, D. K.; Yong, W. L.; Boo, H. C.; Mi, K. S.; Kyung, M. C.; Yi, H. J.
Comprimido bioadesivo	24/08/2007	EP2027852-A1; US2009053309-A1; IN200702747-I1; US2010247644-A1	Brama, B.; Domb, A.; Domb, A. J.; Mizrahi, B.
Gel oral mucoadesivo	01/12/2008	BR200805520-A2	Grégio, A. M. T.
Pró – fármaco*	17/09/1982	EP106541-A2; EP106541-A; AU8318494-A; DK8303699-A; PT77347-A; JP59130275-A; ES8502977-A; US4742073-A; CA1235416-A; IL69593-A	Bundgaard, H.; Falch, E.; Larsen, C. S.; Mikkelsen, T. J.
Pastilhas	1996	**	Hamlar et al.

Fonte: Dados resultantes da busca no INPI, USPTO, WIPO e ESPACENET em janeiro de 2012.

Legenda: *Não se trata de preparação para xerostomia; **Artigo de revista científica.

Um único artigo sem patente contendo forma farmacêutica inovadora, pastilhas (HAMLAR et al., 1996), foi localizado no banco de dados científicos *Web of Knowledge*.

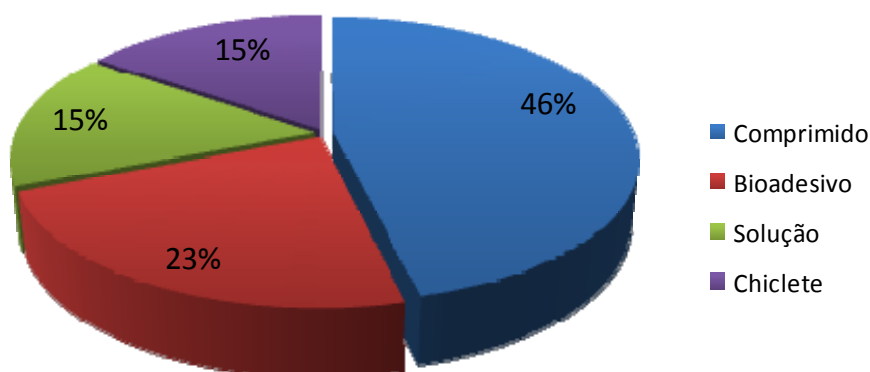
Figura 1. Frequência de patentes depositadas com abordagem em pilocarpina para tratamento da xerostomia por ano e país de origem. Teresina, 2012.



Fonte: Dados resultantes da busca no INPI, USPTO, WIPO e ESPACENET em janeiro de 2012.

As patentes foram classificadas quanto a forma farmacêutica demonstrando que o principal foco dos pesquisadores foram os comprimidos (Figura 2), dentre os quais os de liberação imediata, de liberação controlada, dispersíveis e bioadesivos.

Figura 2. Frequência das patentes depositadas com abordagem em pilocarpina para tratamento da xerostomia por forma farmacêutica. Teresina, 2012.



Fonte: Dados resultantes da busca no INPI, USPTO, WIPO e ESPACENET em janeiro de 2012.

As empresas envolvidas no depósito das patentes analisadas foram, em geral, indústrias farmacêuticas e universidades (Tabela 3). A MGI Pharma Inc., atualmente Eisai Inc., é a detentora do registro do medicamento Salagen[®] na agência norte-americana *Food and Drug Administration* (DRUGSatFDA, 2012). Nenhuma outra empresa possui medicamento registrado e nenhuma depositou mais de uma forma farmacêutica.

Foram encontrados dezesseis artigos de inventores das patentes pesquisadas nas bases científicas *Web of Knowledge* e *SciELO* (Tabela 4). Três destes não possuem o *abstract*

disponível, provavelmente por se tratarem de artigos de versão impressa, mas foram incluídos na tabela.

Tabela 3. Empresas depositárias de produtos da pilocarpina e sua atividade por inventor e patente de referência. Teresina, 2012.

Inventor principal	Patente#	Empresa/Sítio eletrônico	Atividade
Acharya, R. N.	WO9401108-A	Theratechnologies Inc http://www.theratech.com/	Farmacêutica – Endocrinologia e metabolismo
		Oramed Inc http://www.oramed.com/	Farmacêutica – Biotecnologia
Hori, M.	JP7330602-A	Nitto Denko Corp http://www.nitto.com/	Diversas – Especialmente Patches
		Lederle Japan Ltd http://www.wyeth.jp/	Farmacêutica – Diversas – Atualmente da Pfizer
Muscoplat, C. C.	FR2737661-A	Mgi Pharma Inc http://www.eisai.com/	Farmacêutica – Diversas – Atualmente da Eisai
Singh, N. N.	WO2003084515-A	TransOral Pharmaceuticals Inc http://www.transcept.com/	Farmacêutica – Neurociência
Hayward, M. A.	US2007087053-A1	EffRx Inc http://www.effrx.com/	Farmacêutica – Tecnologia para <i>Drug delivery</i>
Maruyama, K.	JP2007176906-A	Kissei Yakuhin Kogyo Co Ltd http://www.kissei.co.jp/	Farmacêutica – Diversas
Su, D. K.	KR2008012700-A	Sh Pharmaceuticals Ltd http://www.shpharma.in/	Farmacêutica – Diversas
Brama, B.	EP2027852-A1	Axiomedic Ltd http://www.axiomedic.com/	Farmacêutica – Diversas
Sun, Y.	CN101229155-A	Qingdao University http://www.at0086.com/QDU/	Universidade
Grégio, A. M. T.	BR200805520-A2	Assoc. Paranaense de Cultura http://www.pucpr.br/apc/	Universidade

Fonte: Dados resultantes da busca no INPI, USPTO, WIPO e ESPACENET em janeiro de 2012.

DISCUSSÃO

Furstenberg (1944 *apud* MIKHAIL, 1980) descreveu que a administração oral de cloridrato ou nitrato de pilocarpina em 10 miligramas repetidas 3 vezes ao dia resultava temporariamente em restabelecimento da salivação em pacientes que sofriam de “boca seca”. Observou também que a administração de pilocarpina tinha um efeito passageiro, mas o preparo do paciente com uma dieta regular e específica para induzir acidose era capaz de

prolongar o efeito de salivacão, resultando, no entanto, em efeitos colaterais sustentados por mais tempo.

Tabela 4. Artigos publicados por autores depositários de produtos da pilocarpina e sua patente relacionada, ano de publicação dos artigos, objetivo e fator de impacto JCR 2010 da revista em que foi publicada. Teresina, 2012.

Ano	Autor(es)	Objetivo	JCR 2010	Patente#
1993	Johnson, J. T. et al.	Estudo prospectivo, randomizado, duplo-cego e placebo-controlado para xerostomia induzida por radiação.	53,486	FR2737661
1993	Leveque, F. G. et al.	Estudo randomizado, duplo-cego, controlado com placebo e multicêntrico com pacientes de radioterapia de câncer de cabeça e pescoço.	18,970	FR2737661
1996	Lockhart, P. B. et al.	Avaliação da segurança, eficácia, duração da ação, tolerância a doses múltiplas e efeitos colaterais de formulação de liberação controlada de pilocarpina.	1,417	WO9401108
1998	Chambers, M. S. et al.	Avaliação do efeito da pilocarpina sobre pacientes de câncer com xerostomia induzida por analgesia.	3,773	FR2737661
1999	Vivino, F. B. et al.	Estudo randomizado com pacientes de Síndrome de Sjögren.	10,639	FR2737661
2001	Asari, T. et al.	Investigação dos efeitos do uso profilático de pilocarpina em pacientes que recebem radioterapia.	1,960	JP2007176906
2002	Asari, T. et al.	Determinação do mecanismo de ação.	-	JP2007176906
2003	Omori, Y. et al.	Avaliação do efeito da pilocarpina e cevimelina na secreção salivar das glândulas submandibular/sublingual em ratos.	53,486	JP2007176906
2003	Takagi, K. et al.	Investigação do mecanismo de ação da pilocarpina.	2,578	JP2007176906
2006	Li, J. C. et al.	Determinação do mecanismo de ação.	2,451	KR9606319

2006	Inoue, T. et al.	Avaliação do efeito da pilocarpina em modelo de Síndrome de Sjögren em ratos.	2,260	JP2007176906
2009	Asari, T. et al.	Determinação do mecanismo de ação.	1,960	JP2007176906
2009	Silva, S. D. et al.	Investigação do efeito da pilocarpina em modelo de indução de xerostomia com fármacos.	1,603	BR200805520
2009	Zaclikevis, M. V. et al.	Investigação do efeito da pilocarpina em ratos com xerostomia induzida por benzodiazepínicos.	1,603	BR200805520
2010	Aframian, D. J. et al.	Avaliação do efeito do comprimido de pilocarpina bioadesivo.	0,643	EP2027852
2011	Mattioli, T. M. F. et al.	Avaliação do efeito da pilocarpina nas glândulas parótidas.	1,422	BR200805520

Fonte: Dados resultantes da busca no INPI, USPTO, WIPO e ESPACENET em janeiro de 2012.

Para Mikhail (1980), na patente de número US4209505-A, a prática de Furstenberg sofria desvantagens justamente quanto aos possíveis e indesejáveis efeitos adversos sistêmicos ocasionados pela via oral. A patente de enxaguatório bucal contendo cloridrato de pilocarpina diluído teve o objetivo de produzir alívio da secura na boca por período prolongado sem o inconveniente dos efeitos colaterais sistêmicos, pois não há absorção suficiente do fármaco.

Além da aplicação tópica, Mikhail (1980) inovou ao utilizar dosagens que variam de 0,025% a 1% do peso da formulação, uma solução para gargarejo mantida em contato com a mucosa bucal por no mínimo 30 segundos. A posologia, por sua vez, dependia da necessidade de cada paciente. Para o inventor, a solução era especialmente efetiva em pacientes que sofriam de xerostomia induzida por fármacos, como antidepressivos, antipsicóticos, antihipertensivos e antialérgicos.

Em um estudo de Bernadi e colaboradores (2002), essas soluções contendo pilocarpina foram avaliadas quanto ao estímulo do fluxo salivar em pacientes saudáveis, onde foram preparadas soluções com concentrações de 1 a 2 %. Ambas apresentaram bons resultados com baixos efeitos colaterais, entretanto, avaliando esse estímulo detalhadamente, perceberam que a intensidade na produção de saliva não era expressiva, pois o fármaco, administrado topicamente, atuava com maior veemência nas glândulas salivares menores, tornando a saliva mais viscosa (rica em mucina).

O pró-fármaco de pilocarpina, patente EP106541-A2, não tem uso para xerostomia, mas trata-se de uma substância derivada do ácido pilocárpico capaz de ser convertido no tecido ocular para pilocarpina, desenvolvendo ação agonista colinérgica no tratamento de glaucoma (BUNDGAARD et al., 1984). O pró-fármaco é capaz de elevar a estabilidade em solução de pilocarpina (BUNDGAARD et al., 1986).

Com a data de publicação 1998, mas data de depósito e prioridade 1995, tendo abandonado a original depositada em 1992, a patente do comprimido de liberação prolongada WO9401108-A estabeleceu que a concentração sérica de pilocarpina deve ser mantida entre 4 e 40 ng/mL por um período de 6 horas para ação eficaz contra xerostomia, xerolftalmia e pressão intraocular excessiva, com redução dos efeitos colaterais (ACHARYA, 1994). Oito pacientes foram monitorados enquanto no uso da formulação de liberação controlada e não apresentaram efeitos adversos (LOCKHART et al., 1996). As farmacêuticas Theratechnologies Inc. (2012) ou Oramed Inc. (2012), codepositárias, não possuem produto no mercado.

O adesivo de absorção percutânea elaborado na patente JP7330602-A é composto por filme suporte, pilocarpina na forma livre e substâncias que absorvem a umidade (NITTO DENKO CORP et al., 1995). A empresa Pfizer detém a patente como produto da aquisição da Lederle Japan Ltd. (2012), codepositária, sem, no entanto, ter produto no mercado ou estudos publicados envolvendo pesquisas com essa forma farmacêutica. Pela ação sistêmica desenvolvida após a absorção, seria necessário avaliar a concentração sérica atingida e a possibilidade de substituição da via nos casos em que o paciente possui limitações para a via oral.

Uma formulação de pilocarpina a base de chicletes aromatizados e adoçados com concentração de 0,13 a 0,20% do ativo, patente KR9606319-B1, proporciona melhoria do odor bucal de pacientes que sofrem com xerostomia, além de melhoria na fala decorrente do estímulo da salivagem (LEE et al., 1996). Não existem formulações comerciais do produto patenteado.

A administração sistêmica de cloridrato de pilocarpina deu origem aos comprimidos, cuja referência no mercado é a marca Salagen[®] aprovada pela Food And Drug Administration (FDA) para tratamento da xerostomia em 1994 (ROCHA et al., 2006; BRAGA et al., 2009). A dosagem recomendada, entretanto, é de 5 mg repetidas de 3 a 4 vezes no dia, uma tentativa de reduzir os efeitos colaterais percebidos com o uso (LOCKHART et al., 1996). A empresa MGI Pharma Inc. (2012), atualmente Eisai, é codepositária da patente FR2737661-A, que reivindica a forma de comprimido de pilocarpina para uso na xerostomia (MGI PHARMA

INC, 1997). Estudos randomizados realizados pela empresa sustentam as indicações terapêuticas do comprimido para Síndrome de Sjögren e pacientes de radioterapia de câncer da cabeça e pescoço (JOHNSON et al., 1993; LEVEQUE et al., 1993; CHAMBERS, M. S. et al., 1998; VIVINO et al., 1999).

Embora a dosagem máxima de 20 mg diários seja bem tolerada pela maioria dos pacientes que utilizam esse tratamento, as doses repetidas e a concentração sérica podem, em alguns casos, levar ao desconforto causado pelo paladar desagradável e predisposição a efeitos colaterais no decorrer do tratamento, como rubor, hipotensão, bradicardia, sudorese, aumento da micção e diarreia (SANTANA, 2009).

Dessa forma, outras apresentações cujos princípios baseiam-se numa aplicação tópica na mucosa oral foram surgindo no decorrer dos anos (ver Tabela 2) podendo vir a serem comercializadas em curto prazo. Exemplo disso é o “Pilobuc™ Buccal Insert” um polímero de hidrogel que libera pilocarpina na mucosa oral, cujos direitos foram comprados pela Marillion Pharmaceuticals, para ser comercializado num futuro próximo, porém ainda não determinado (CYTOKINE, 2011).

Além da concorrência das empresas por estarem no mercado com fármaco tão promissor, novas tecnologias de *drug delivery* podem beneficiar os pacientes que não obtém sucesso no tratamento da xerostomia.

Hamlar et al. (1996) conduziram um trabalho utilizando pastilhas de pilocarpina para promover topicamente o aumento do fluxo salivar. Houve melhora subjetiva da xerostomia embora o mecanismo não tenha ficado bem compreendido se por influencia do medicamento ou do simples estímulo mecânico da pastilha. Como esperado, não houve queixas significativas quanto à efeitos colaterais.

O gel-oral base cuja composição geral é baseada em proporções definidas de pilocarpina, carboximetilcelulose-CMC, pectina, óleo mineral, menta, nipagim e água, trata-se de uma proposta simples que além de proporcionar facilidade na aplicação tópica obteve uma ótima espalhabilidade em tecidos bucais de ratos, inclusive com bons resultados sob as glândulas parótidas. Nesses estudos, em aplicações de somente duas vezes por dia, não foram observados efeitos colaterais (AFRAMIAN et al., 2010; GRÉGIO, 2010).

Dentre os diversos produtos patenteados o Salagen® é a única formulação comercial disponível. Apesar da predisposição aos efeitos colaterais e do inconveniente das várias tomadas diárias, de uma forma geral, a dosagem recomendada para o Salagen®, não ultrapassando 20mg diários, é bem tolerada pela maioria dos pacientes (SANTANA, 2009).

Assim, o cloridrato de pilocarpina ainda é a melhor forma de se prevenir os efeitos indesejáveis da xerostomia, abrangendo todos os problemas decorrentes desta.

CONCLUSÃO

O uso de pilocarpina em pacientes com xerostomia têm ocorrido e gerado patentes com foco nas formas de administração, uma vez que o uso sistêmico do comprimido Salagen[®] tem ocorrido apenas para pacientes que toleram os efeitos colaterais colinérgicos desse fármaco. No entanto, a forma farmacêutica de comprimido é a única atualmente explorada no mercado e seu uso se sustenta no complemento do tratamento de doenças que causam a secura na boca por tempo prolongado levando a seqüelas graves ao paciente. Outras formas de aplicação do fármaco, embora patenteadas, não estão disponíveis no mercado.

REFERÊNCIAS

ACHARYA, R. N.; THERATECH INC; ORAMED INC. **Controlled release delivery of pilocarpine - used to treat xerostomia, xerophthalmia or excessive intra-ocular pressure.** WO n. 9401108, 02 jul. 1993, 20 jan. 1994.

AFRAMIAN, D. J.; MIZRAHI, B.; GRANOT, I.; DOMB, A. J. Evaluation of a mucoadhesive lipid-based bioerodable tablet compared with Biotene mouthwash for dry mouth relief-A pilot study. **Quintessence International**, v. 41, n. 3, p. E36-E42, 2010.

AFRAMIAN, D. J.; HELCER, M.; LIVNI, D.; ROBINSON, S. D. M.; MARKITZIU, A.; NADLER, C. Pilocarpine treatment in a mixed cohort of xerostomic patients. **Oral Diseases**, v. 13, n. 1, p. 88-92, 2007.

ASARI, T.; KOMATSU, Y.; MISAWA, K.; HARA, K.; AKAHANE, M. Prophylactic effects of pilocarpine hydrochloride on xerostomia models induced by X-ray irradiation in rats. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 28, n. 7, p. 545-550, 2001.

ASARI, T.; ISHIKAWA, K.; MARUYAMA, K.; KUSAMA, H.; KOJIMA, M. Sialogogic mechanism triggered by KSS-694, pilocarpine hydrochloride, in X-ray irradiation-induced rat xerostomia model dose not require aquaporin-5 (AQP5). **Japanese Journal of Pharmacology**, v. 88, p. 229P-229P, 2002.

ASARI, T.; MARUYAMA, K.; KUSAMA, H. Salivation triggered by pilocarpine involves aquaporin-5 in normal rats but not in irradiated rats. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 36, n. 5-6, p. 531-538, 2009.

ASSOCIAÇÃO Paranaense de Cultura. Disponível em: < <http://www.pucpr.br/apc/> >. Acesso em: 20 jan 2012.

_____. **Gel composition used for treating xerostomia caused by psychotropic drugs and other hyposalivation treating drugs, comprises pilocarpine, carboxymethyl cellulose, pectin, mineral oil, mentha, water and Nipagin.** BR n. PI 0805520, 01 dez. 2008, 24 ago. 2010.

AXIOMEDIC LTD. **Bioadhesive sticker tablet for treating or ameliorating effects of xerostomia in patient, comprises sialogogic agent and specified weight percentage of lipid, and bioadhesive carrier.** EP n. 2027852, 28 dez. 2007, 25 fev. 2009.

_____. Disponível em: < <http://www.axiomedic.com/> >. Acesso em: 20 jan 2012.

BERNARDI, R.; PERIN, C.; BECKER, F. Z.; RAMOS, G. Z.; LOPES, L. R.; PIRES, M. Effect of pilocarpine mouthwash on salivary flow. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.35, n.1, p. 105-110, 2002.

BRAGA, M. A.; TARZIA, O.; BERGAMASCHI, C. C.; SANTOS, F. A.; ANDRADE, E. D.; GROppo, F. C. Comparison of the effects of pilocarpine and cevimeline on salivary flow. **International Journal of Dental Hygiene**, v. 7, p. 126–130, 2009.

BUNDGAARD, H.; FALCH, E.; LARSEN, C.; MOSHER, G. L.; MIKKELSON, T. J. Pilocarpine prodrugs .2. synthesis, stability, bioconversion, and physicochemical properties of sequentially labile pilocarpine acid diesters. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 75, n. 8, p. 775-783, 1986.

BUNDGAARD, H.; MIKKELSON, T. J.; UNIV KANSAS. **Pilocarpic acid ester derivs. - useful as prodrug forms of pilocarpine with improved lipophilicity for glaucoma treatment.** EP n. 106541, 16 abr. 1983, 25 abr. 1984.

CHAMBERS, M. S.; TOOTH, B. B.; KEENE, H. J.; MARTIN, C. G.; PAYNE, R.; MUSCOPLAT, C. C.; GALLAGHER, S. C.; HANNA, J. K.; KING, G. E. Assessment of salivary flow and functional improvement in cancer patients with oral pilocarpine as treatment for analgesia-induced Xerostomia. **Journal of Dental Research**, v. 77, p. 290, 1998.

CYTOKINE Pharma Sciences Inc. Disponível em: <<http://www.cytokinepharmasciences.com>>. Acesso em: 28 ago 2011.

DAVIES, A. N., DANIELS, C., PUGH, R., SHARMA, K. A comparison of artificial saliva and pilocarpine in the management of xerostomia in patients with advanced cancer. **Palliative Medicine**, v. 13, n. 1, p. 81-83, 1999.

DRUGSAtFDA. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Drugs/default.htm>>. Acesso em: 13 fev 2012.

EFFRX Inc. Disponível em: < <http://www.efrx.com/> >. Acesso em: 20 jan 2012.

EUROPEAN PATENT OFFICE – ESPACENET. Disponível em: < <http://www.epo.org/> >. Acesso em: Jan 2012.

FURSTENBERG, **Transactions of the American Laryngological, Rhinological and Otolological Society**, jun 1944, pp. 48-54 *apud* MIKHAIL, A. R. Relief of dry mouth conditions - with mouth-wash contg. pilocarpine or its nitrate or hydrochloride. US n. 4209505, 03 abr. 1979, 24 jun 1980.

HAMLAR, D. D.; SCHULLER, D. E.; GAHBAUER, R. A.; STAUBUS, A. E.; HALL, J.; ALTMAN, J.S.; ELZINGA, D. J.; MARTIN, M. R. Determination of the efficacy of topical oral pilocarpine for postirradiation xerostomia in patients with head and neck carcinoma. **Laryngoscope**, v. 106, n. 8, p. 972-976, 1996.

HAYWARD, M. A.; EFFRX INC. **Multi-component composition for the treatment of dry mouth, comprises first part that releases sialogogic compound in combination with effervescent organic acid-based buffering system, and second part that releases demulcent compound**. US n. 2007087053, 14 out. 2005, 19 abr. 2007.

INOUE, T.; ASARI, T.; MARUYAMA, K.; YAMAZAKI, Y.; SHIBATA, N. Effects of single and repeated administrations of KSS-694 (pilocarpine hydrochloride) on salivary secretion in MRL/lpr mice, a model for Sjogren's syndrome. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 100, p. 160P-160P, 2006.

INSTITUTO NACIONAL DE PROPRIEDADE INDUSTRIAL - INPI. Disponível em: < <http://www.inpi.gov.br/> >. Acesso em: Jan 2012.

JOHNSON, J. T.; FERRETTI, G. A.; NETHERY, W. J.; VALDEZ, I. H.; FOX, P. C.; NG, D.; MUSCOPLAT, C. C.; GALLAGHER, S. C. Oral pilocarpine for postirradiation xerostomia in patients with head and neck-cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 329, n. 6, p. 390-395, 1993.

KISSEI YAKUHIN KOGYO CO LTD. Disponível em: < <http://www.kissei.co.jp/> >. Acesso em: 20 jan 2012.

KISSEI YAKUHIN KOGYO KK. **Pharmaceutical useful for treating salivary gland disorder such as Sjogren's syndrome, chronic salivary glanditis, viral illness or type I or II diabetes, comprises pilocarpine or its salt as active ingredient**. JP n. 2007176906, 28 dez. 2005, 12 jul. 2007.

LEDERLE Japan Ltd. Disponível em: < <http://www.wyeth.jp/> >. Acesso em: 20 jan 2012.

LEE, S; RYU, H. **Chewing gums contg., pilocarpine - can improve salivation, digestion and speaking ability, esp. in old people**. US n. 5571528, 30 jun. 1994, 05 nov 1996.

LEVEQUE, F. G.; MONTGOMERY, M.; POTTER, D.; ZIMMER, M. B.; RIEKE, J. W.; STEIGER, B. W.; GALLAGHER, S. C.; MUSCOPLAT, C. C. A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-titration study of oral pilocarpine for treatment of

radiation-induced xerostomia in head and neck-cancer patients. **Journal of Clinical Oncology**, v. 11, n. 6, p. 1124-1131, 1993.

LI, J. C.; LEE, S.; CHOI, S. Y.; LEE, S. J.; OH, S. B.; LEE, J. H.; CHUNG, S. C.; KIM, J. S.; PARK, K. Effects of pilocarpine on the secretory acinar cells in human submandibular glands. **Life Sciences**, v. 79, n. 26, p. 2441-2447, 2006.

LOCKHART, P. B.; FOX, P. C.; GENTRY, A. C.; ACHARYA, R.; NORTON, H. J. Pilot study of controlled-release pilocarpine in normal subjects. **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics**, v. 82, n. 5, p. 517-524, 1996.

MARIETTE, X.; Treatment of oral dryness in Sjögren's syndrome. **La revue de médecine interne**, v. 25, p. 287-293, 2004.

MATTIOLI, T. M. F.; SILVA, S.; GREGIO, A. M. T.; MACHADO, M. A. N.; LIMA, A. A. S.; AZEVEDO-ALANIS, L. R. The effects of antidepressants and pilocarpine on rat parotid glands: an immunohistochemical study. **Clinics**, v. 66, n. 9, p. 1605-1610, 2011.

MGI Pharma Inc. Disponível em: < <http://www.eisai.com/> >. Acesso em: 20 jan 2012.

_____. **Pilocarpine hydrochloride tablets for treating dry mouth - contg. stearic acid and microcrystalline cellulose**. FR n. 2737661, 08 ago. 1995, 14 fev 1997.

MIKHAIL, A. R. **Relief of dry mouth conditions - with mouth-wash contg. pilocarpine or its nitrate or hydrochloride**. US n. 4209505, 03 abr. 1979, 24 jun 1980.

NITTO DENKO CORP. Disponível em: < <http://www.nitto.com/> >. Acesso em: 20 jan 2012.

NITTO DENKO CORP; LEDERLE JAPAN LTD. **Percutaneous absorption pilocarpine preparations, useful for treating dry mouth treatment - contains pilocarpine free base medicine and moisture-absorbing substance(s) opt. with poly:basic metal salts**. JP n. 7330602, 13 jun. 1994, 19 dez. 1995.

OMORI, Y.; ASARI, T.; MARUYAMA, K.; KUSAMA, H.; KOJIMA, M.; SHIBATA, N. Effects of pilocarpine hydrochloride and cevimeline on submandibular/sublingual salivation in rat xerostomia model produced by x-ray irradiation. **Arzneimittel-Forschung-Drug Research**, v. 53, n. 5, p. 342-350, 2003.

ORAMED Inc. Disponível em: < <http://www.oramed.com/> >. Acesso em: 20 jan 2012.

PEROVITCH, P.; MAURY, M.; DEYMES, J. **Composition used for treating hyposalivation comprises pilocarpine and bioadhesive polymer**. FR n. 2864901, 09 jan 2004, 15 jul. 2005.

PORTER, S. R.; SCULLY, C.; HEGARTY, A. M. An update of the etiology and management of xerostomia. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology & Endodontics**, v. 97, p. 28-46, 2004.

QINGDAO University. Disponível em: < <http://www.at0086.com/QDU/> >. Acesso em: 20 jan 2012.

RIEKE, J. W.; HAFERMANN, M. D.; JOHNSON, J. T.; LEVEQUE, F. G.; IWAMOTO, R.; STEIGER, B. W.; MUSCOPLAT, C.; GALLAGHER, S. C. Oral pilocarpine for radiation-induced xerostomia - integrated efficacy and safety results from 2 prospective randomized clinical-trials. **International Journal of Radiation Oncology Biology Physics**, v. 31, n. 3, p. 661-669, 1995.

ROCHA, G. M.; ROCHA, M. E. N. Popular use of medicinal plants. **Saúde & Ambiente em Revista**, v. 1, n. 2, p. 76-85, 2006.

SANDHU, S. S.; ABREU, I. N. A.; COLOMBO, C. A.; MAZZAFERA, P. Pilocarpine content and molecular diversity in jaborandi. **Scientia Agricola**, v. 63, n. 5, p. 478-482, 2006.

SANTANA, H. A. L. **Efeito de duas formulações de pilocarpina, solução para bochecho e sublingual, no tratamento da Xerostomia induzida por radiação** / Effect of two formulations of pilocarpine, mouthwashing and sublingual solutions, for the treatment of radiation induced xerostomia. 2009. 78 f. (Tese de Mestrado em Farmacologia Clínica). Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

SCIENTIFIC ELECTRONIC LIBRARY ONLINE – SCIELO. Disponível em: < <http://www.scielo.org/> >. Acesso em: Jan 2012.

SCULLY, C. B. E. Drug effects on salivary glands: dry mouth. **Oral Diseases**, v. 9, p. 165-76, 2003.

SH Pharmaceuticals Ltd. Disponível em: < <http://www.shpharma.in/> >. Acesso em: 20 jan 2012.

SILVA, S. D.; AZEVEDO, L. R.; LIMA, A. A. S.; INGNACIO, S. A.; NAVAL MACHADO, M. A.; ZACLIKEVIS, M. V.; GREGIO, A. M. T. Effects of Fluoxetine and Venlafaxine and Pilocarpine on Rat Parotid Glands. **Medicinal Chemistry**, v. 5, n. 5, p. 483-490, 2009.

SINGH, N. N.; TRANSORAL PHARM INC. **Composition useful for treating e.g. orofacial complication and pain comprises pilocarpine constituent, carrier agent and functional buffer system**. WO n. 2003084515, 01 abr. 2002, 02 out. 2003.

SU, D. K.; SH PHARMA LTD. **Bubble gargler composition for tooth cleaning, deodorizing mouth, and preventing gingival diseases, and tooth decay, comprises phytoncide, pilocarpine, bubbler, surfactant, tooth preventive agent, peppermint and pure water**. KR n. 2008012700, 04 ago. 2006, 12 Feb 2008.

TAKAGI, K.; YAMAGUCHI, K.; SAKURAI, T.; ASARI, T.; HASHIMOTO, K.; TERAKAWA, S. Secretion of saliva in X-irradiated rat submandibular glands. **Radiation Research**, v. 159, n. 3, p. 351-360, 2003.

THERATECHNOLOGIES Inc. Disponível em: < <http://www.theratech.com/> >. Acesso em: 20 jan 2012.

TRANSORAL Pharmaceuticals Inc. Disponível em: < <http://www.transcept.com/> >. Acesso em: 20 jan 2012.

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE – USPTO. Disponível em: < <http://www.uspto.gov/> >. Acesso em: Jan 2012.

UNIV QINGDAO. **Pharmaceutical combination for treating ;pharyngitis sicca comprises pilocarpine and lidocaine or tetracaine**. CN n. 101229155, 22 fev. 2008, 30 jul 2008.

VISVANATHAN, V.; NIX, P. Managing the patient presenting with xerostomia: a review. **International Journal of Clinical Practice**, v. 64, n. 3, p. 404-407, 2010.

VIVINO, F. B.; AL-HASHIMI, I.; KHAN, Z.; LEVEQUE, F. G.; SALISBURY, P. L.; TRAN-JOHNSON, T. K.; MUSCOPLAT, C. C.; TRIVEDI, M.; GOLDLUST, B.; GALLAGHER, S. C. Pilocarpine tablets for the treatment of dry mouth and dry eye symptoms in patients with Sjogren syndrome - A randomized, placebo-controlled, fixed-dose, multicenter trial. **Archives of Internal Medicine**, v. 159, n. 2, p. 174-181, 1999.

WEB OF KNOWLEDGE. Disponível em: < <http://www.webofknowledge.com/> >. Acesso em: Jan 2012.

WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION – WIPO. Disponível em: < <http://www.wipo.int/> >. Acesso em: Jan 2012.

WU, C.H.; HSIEH, S. C.; LEE, K. L.; LI, K. J.; LU, M. C.; YU, C. L. Pilocarpine hydrochloride for the treatment of xerostomia in patients with Sjogren's syndrome in Taiwan - a double-blind, placebo-controlled trial. **Journal of the Formosan Medical Association**, v. 105, n. 10, p. 796-803, 2006.

ZACLIKEVIS, M. V.; D'AGULHAM, A. C.; BERTASSONI, L. E.; MACHADO, M. A. N.; LIMA, A. A. S.; GREGIO, A. M. T.; AZEVEDO-ALANIS, L. R. Effects of benzodiazepine and pilocarpine on rat parotid glands: histomorphometric and sialometric study. **Medicinal Chemistry**, v. 5, n. 1, p. 74-78, 2009.

ZUMAÊTA, G. M. O.; MARTINS, G. B.; CAMPOS, E. J.; SOUZA, M. M. Evaluation of salivary flow rate and buffering capacity of children in chemotherapy treatment of cancer. **Revista da faculdade de odontologia da Universidade Federal da Bahia**, v. 19, p. 6-10, 1999.

5 CAPÍTULO II:

DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE FORMULAÇÃO LÍQUIDA DO TIPO *SPRAY* A BASE DE PILOCARPINA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE SIALOGOGA

(Artigo submetido a BMC Pharmacology – Qualis: B2)

Desenvolvimento tecnológico de formulação líquida do tipo *spray* a base de pilocarpina e avaliação da atividade sialogoga

SÁ, L. L. F.^{1,2}; SANTOS, G. A. S.^{1,2}; LEITE, J. R. S.³; FREITAS, R. M.^{1,2}; NUNES, L. C. C.^{1,2}

¹ Núcleo de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Brasil.

² Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Brasil.

³ Núcleo de Pesquisa de Biodiversidade e Biotecnologia, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Brasil.

RESUMO

A conhecida atividade colinérgica do cloridrato de pilocarpina tem sido explorada na xerostomia ao longo dos anos gerando patentes para diversos produtos, dentre eles, a única forma comercializada no mercado, o comprimido Salagen[®], ainda não está disponível no Brasil. O cloridrato de pilocarpina, de custo elevado e pouco acessível, é frequentemente relacionado a efeitos adversos. A inexistência da apresentação do tipo *spray* contendo a pilocarpina, nas buscas de patentes, além da necessidade de um tratamento de fácil adesão, aquisição e com redução de efeitos colaterais, nortearam o desenvolvimento do trabalho. Para tanto, foram realizados estudos de pré-formulação, desenvolvimento e controle de qualidade. Após isto, a formulação desenvolvida foi avaliada quanto à capacidade de salivagem em ratos adultos Wistar, com metodologia de sialometria descrita por Takakura e colaboradores (2009), resultando em aumento significativo ($p < 0,05$) na salivagem comparada à solução oral de mesma concentração. O uso de um polímero (hidroxipropilcelulose) reconhecidamente bioadesivo, prevê uma liberação regular e lenta do princípio ativo, diminuindo a deglutição e assim, os efeitos sistêmicos indesejáveis. Dessa forma, a formulação desenvolvida constitui uma importante ferramenta para tratamento e auxílio de pacientes que sofrem de xerostomia, e a otimização desses resultados deverá ser realizada.

Palavras-chave: Xerostomia, Agonistas colinérgicos, Secura da boca.

ABSTRACT: Technological development and evaluation on sialogogue activity of a spray-like liquid formulation of pilocarpine

The known cholinergic activity of pilocarpine hydrochloride useful on xerostomia has been exploited over the years giving rise to patents for many products, among them, the only marketed product, the tablet Salagen[®], is not yet available in Brazil. The pilocarpine

hydrochloride, expensive and hardly accessible, is often associated with adverse effects. The lack of spray-like pharmaceutical form containing pilocarpine in patent searches, beyond the need for an easy adhesion treatment, acquisition and reduction of side effects, guided the development of such work. To this end, pre-formulation, development and quality control studies were performed. The formulation developed was evaluated regarding the ability to rise salivation in adult Wistar rats using sialometry methodology described by Takakura et al (2009), resulting in a significant increase ($p < 0.05$) in salivation compared to oral solution with same concentration. The use of a polymer (hydroxypropylcellulose) known as bioadhesive, provides a regular and slow release of active, reducing swallowing and thus the undesirable systemic effects. Thus, the formulation is an important tool developed for the treatment and support of patients suffering from xerostomia, and optimization of these results should be performed.

Keywords: Xerostomia, Cholinergic agonists, Mouth dryness.

INTRODUÇÃO

A xerostomia é a sensação subjetiva de boca seca, consequente ou não da diminuição ou interrupção da função das glândulas salivares, com alterações na quantidade e/ou na qualidade da saliva. Caracteriza-se por sensação de boca seca devido a uma diminuição quantitativa do Fluxo Salivar em Repouso, quando este baixa para menos da metade, ou ainda por uma alteração da composição da saliva com perda de mucina e, consequente, diminuição da capacidade de lubrificação, sem a diminuição do fluxo (FEIO & SAPETA, 2005; COIMBRA, 2009).

Trata-se de um conjunto de sinais e sintomas decorrente de certas doenças ou estímulos diversos, representados principalmente pela irradiação da cabeça e pescoço em tratamentos oncológicos, além da Síndrome de Sjögren e efeitos adversos a determinadas terapias medicamentosas. Algumas doenças sistêmicas também causam disfunção salivartais como diabetes, infecção por HIV, doenças de Parkinson, Alzheimer e fibrose cística (FÁVARO, FERREIRA & MARTINS, 2006).

A xerostomia tem implicações não só físicas como, também, psicológicas com os doentes referindo desconforto pela sensação de secura da boca e também com maior número de infecções da mucosa bucal e cáries dentárias (FEIO & SAPETA, 2005). Essas mucosites causam dor, o que provoca maior dificuldade na deglutição e articulação de palavras,

diminuição geral da capacidade de comer, falar e dormir (TOLENTINO et al., 2011). Como tratamento dessa sintomatologia primeiramente deve-se manter a hidratação, com abstenção de tabaco e álcool, manter uma boa higiene oral (escovação, clorexidina e flúor para evitar cáries e placas), além da estimulação do arco reflexo como, por exemplo, chicletes com sabores ácidos e sem açúcar, indicado para indução da salivagem, e ainda, o uso de salivas artificiais duas a três vezes ao dia (COIMBRA, 2009).

Por fim, a possibilidade de uso de agentes colinérgicos para estimular a salivagem sempre foi atrativa. No passado, a pilocarpina sistêmica foi pesquisada como meio de manejo da xerostomia secundária à irradiação da cabeça e pescoço. Atualmente, a pilocarpina sistêmica é indicada para o manejo de xerostomia secundária a dano glandular por irradiação e por ataque autoimune dado pela Síndrome de Sjogren (FÁVARO, FERREIRA & MARTINS, 2006). Alguns estudos mostram que os ensaios clínicos referenciam efeitos colaterais em pequena parcela da amostra, caracterizados geralmente por rubor facial, sudorese e aumento da micção (NAKAMURA et al., 2009). Uma alternativa a esses efeitos seria uma aplicação local e não sistêmica do fármaco, entretanto, sabe-se que a dificuldade no uso da pilocarpina não reside principalmente nos seus efeitos colaterais, mas sim na adoção de um protocolo para estes pacientes e na aquisição do fármaco, já que o comprimido Salagen[®], única formulação existente no mercado, é importado e de custo elevado (NETO & SUGAYA, 2004).

No Brasil não existem medicamentos a base de estimulantes da salivagem, nem mesmo com a pilocarpina, que além de possuir efeitos conhecidamente eficazes, possui vasta produção no país, inclusive com exportação de pilocarpina pela empresa Vegeflora Extrações do Nordeste Ltda. do grupo Centroflora, localizada no município de Parnaíba, litoral do Piauí. Dessa forma, o desenvolvimento de produtos nacionais baseados nesse Princípio Ativo (P.A.), permitiria menores custos na aquisição, conseqüentemente maior adesão e melhoria da qualidade de vida dos pacientes que sofrem com essa sintomatologia, além de agregar valor a cadeia produtiva de pilocarpina do estado do Piauí.

MATERIAIS E MÉTODOS

Desenvolvimento da formulação *spray*

Foram escolhidos inicialmente os excipientes, determinando-se a capacidade destes em promover maior tempo de ação para o fármaco e melhorar a viscosidade, o sabor e aroma

da formulação. O princípio ativo (P.A.), cloridrato de pilocarpina, foi obtido da empresa Vegeflora Extrações do Nordeste Ltda., e, para ensaio de identificação deste, foi utilizado infravermelho com o uso de aparelho do tipo Spectrum 100 da marca PerkinElmer, em célula de KBr, com faixa de 4000 a 450 cm^{-1} .

Foram avaliados os seguintes parâmetros para o *spray*: características organolépticas; pH (em equipamento da marca “Hanna Instruments”, modelo PH21); densidade (segundo métodos gerais da Farmacopéia Brasileira, com auxílio de picnômetro com capacidade de 5 mL); volume de aspersão (50 pressionadas na válvula do frasco, direcionado para proveta graduada, com medição do volume correspondente); e doseamento (*High-performance Liquid Chromatography* (HPLC) ou Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, que envolve detector do tipo Ultravioleta (UV), comprimento de onda de 215 nm e coluna 125-4 LichroCART Superspher 100 RP-18 endcapped, 4 μm), segundo metodologia descrita pela Farmacopeia Americana (USP, 1999).

Sialometria

Ensaio pré-clínicos foram realizados utilizando ratos machos *Wistar*, provenientes do Biotério do Centro de Ciências Agrárias da UFPI, com três meses de idade e peso variando entre 270 e 290 g. Esses ensaios envolveram a metodologia de sialometria descrita por Takakura e colaboradores (2009), em que concentrações correspondentes as doses de 2, 4 e 14 $\mu\text{mol/kg}$ da pilocarpina foi inserida em uma formulação em *spray* (teste) e numa formulação oral (padrão), mimetizando a comparação entre a formulação desenvolvida e a formulação atualmente disponível no mercado (Salagen[®]).

Foram utilizados 56 ratos, divididos em oito grupos. Em dois grupos administrou-se placebo com apenas os veículos das formulações padrão (água) e teste (*spray* base sem pilocarpina), respectivamente. Em três grupos administrou-se a formulação de solução oral padrão e, em outros três, a formulação de *spray* teste, em que, para cada tipo de formulação, foram adaptadas as concentrações de pilocarpina para aplicação de doses equivalentes a 2, 4 e 14 $\mu\text{mol/Kg}$.

O rato foi anestesiado com pentobarbital sódico (40 mg/Kg) i.p. As formulações foram administradas via bucal e após trinta minutos da administração da solução oral padrão ou após dez minutos da administração do *spray*, introduziu-se na cavidade oral do rato bolas de algodão previamente taradas. As bolas de algodão foram removidas 7 minutos depois e pesadas novamente.

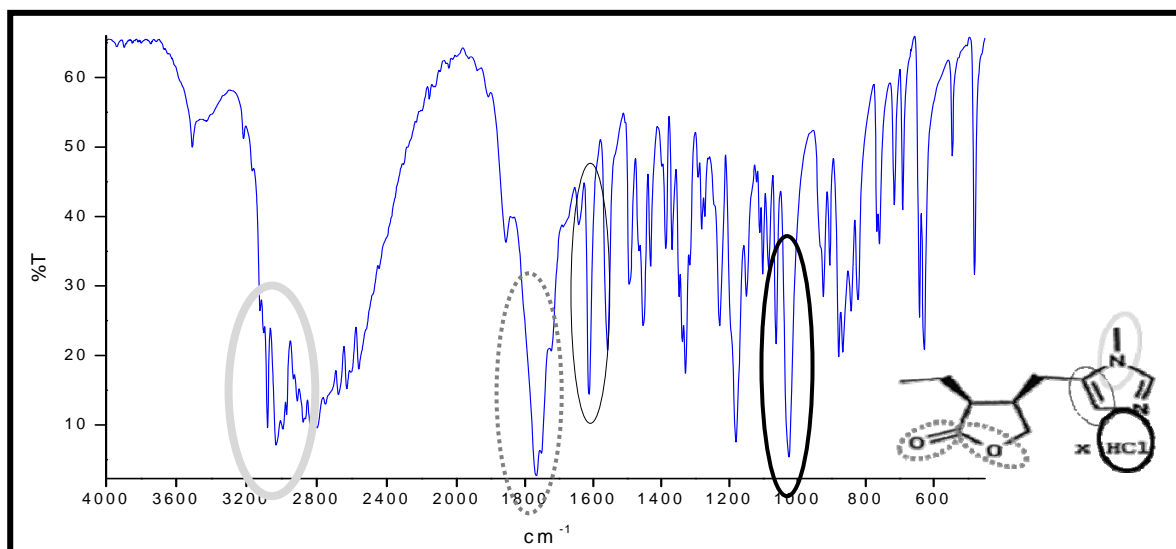
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Desenvolvimento da formulação spray

O P.A. foi avaliado através de infravermelho. O resultado da análise de identificação é apresentado na Figura 1, onde podem ser visualizadas bandas de absorção intensa entre 2800 e 3200 cm^{-1} para as frequências de estiramento de amina ligada a carbono aromático, representante do anel imidazólico substituído. Outra banda observada encontra-se entre 1600 e 1800, com pico bem definido em 1770, típico de ligação dupla entre carbono e oxigênio ($\text{C}=\text{O}$), presente em anéis lactônicos, e em 1620, estiramento da ligação carbono-carbono ($\text{C}=\text{C}$) do tipo aromático, ambas indicando a presença do segundo anel constituinte da molécula de cloridrato de pilocarpina (SILVEIRA, 2010).

A pilocarpina utilizada está na forma de seu sal cloridrato, o que é evidenciado pela presença do pico entre 1100 e 1035 cm^{-1} , representante de ligação entre carbono e cloro, presente em anel aromático (PAVIA, LAMPMAN & KRIZ, 1996).

Figura 1. Infravermelho para o cloridrato de pilocarpina; Pastilha de KBr e associação entre picos de absorção e as ligações químicas correspondentes.



Fonte: Laboratório de Química experimental - UFPI, Teresina, 2010.

Após a confirmação do P.A. de interesse, o estudo prosseguiu com o desenvolvimento da formulação base para este ser incorporado através da produção dos pilotos 1, 2 e 3, como mostrado na Tabela 1. A formulação idealizada deveria conter ingredientes que promovessem estímulos à sua utilização, dessa forma, o primeiro piloto desenvolvido envolvia a

participação de conservantes, edulcorantes e o veículo, deixando a formulação aquosa, incolor e de gosto adocicado.

Tabela 1. Composição da formulação líquida desenvolvida para formulação de spray para xerostomia.

Composição	Função	Piloto 1 (%)	Piloto 2 (%)	Piloto 3 (%)
Mel	Ag. Visc., Edulcorante	-	30	30
Metilparabeno	Conservante	0,1	0,1	0,1
Propilparabeno	Conservante	0,02	0,02	0,02
Alcool	Ag. Solubilidade	Qs	Qs	Qs
Glicerina	Edulcorante/ Ag. Visc.	6	6	6
Sacarina	Edulcorante	0,06	0,06	0,06
Ciclamato de sódio	Edulcorante	-	0,05	0,05
Mentol	Aromatizante	-	-	0,06
Hidroxipropilcelulose	Ag. Visc., Mucoadesivo	0,3	0,3	0,3
Água purificada qsp.	Veículo	100	100	100

Legenda: Ag. Visc. (agente de viscosidade); qsp.: quantidade suficiente para.

A hidroxipropilcelulose é um polímero bioadesivo que pode ser utilizado como matriz para liberação controlada de fármacos. Dessa forma, suas propriedades mucoadesiva e viscosificante chamaram a atenção para os benefícios da formação de um filme na mucosa oral, prolongando os efeitos locais do fármaco sobre as glândulas salivares (ROWE, SHESKEY & QUINN, 2009).

O edulcorante sacarina é conhecido por seu intenso poder adoçante, 300 – 600 vezes maior que o da sacarose, sendo frequentemente utilizado em preparações alimentares, revestimento de comprimidos, produtos para higiene bucal e em formulações farmacêuticas orais, em concentrações de 0,02 – 0,5% p/p, para mascarar sabores desagradáveis de outros constituintes da formulação. Entretanto, em aproximadamente 25% da população, a sacarina leva a sensação de gostos metálicos ou amargos, mesmo em doses usuais, o que pode ser mascarado com a adição de outros agentes edulcorantes em concentrações reduzidas. Além disso, há observações não constatadas de que esses agentes, quando ingeridos em grandes proporções, podem aumentar a probabilidade do surgimento de câncer. Dessa forma, escolheu-se como segundo edulcorante, a glicerina, um líquido claro, sem cheiro, que além de conferir sabor adocicado, aproximadamente 0,6 vezes maior que a sacarose, é agente viscoso e higroscópico, conferindo também, maior viscosidade a formulação (ROWE, SHESKEY & QUINN, 2009).

O Piloto 1, entretanto, não possuía cheiro nem sabor agradáveis, tornando a apresentação pouco atrativa, comprometendo assim, o objetivo de estimular a adesão. Dessa forma, foi produzida uma nova formulação (Piloto 2), com a introdução de mel e ciclamato de sódio, também edulcorante.

A escolha do mel foi influenciada por seu aroma e sabor agradáveis, e ainda, suas propriedades medicinais, há muito conhecidas. Quando aplicado na mucosa oral de pacientes submetidos à radioterapia, por exemplo, parecem oferecer um benefício extra, limitando a gravidade da mucosite, frequentemente apresentada por estes pacientes. No estudo desenvolvido por Bardy e colaboradores, pacientes com cancer de cabeça e pescoço foram tratados com mel, exclusivamente, com significativa redução dos sintomas desconfortantes de mucosites (BARDY et al., 2008).

O mel foi acrescentado, portanto, por suas propriedades cicatrizantes, estimulantes do crescimento tecidual, anti-inflamatórias e antibacterianas, reduzindo o desconforto e o surgimento de infecções (cáries, gengivites, etc.), principalmente em pacientes irradiados (KHANAL, BALIGA & UPPAL, 2010).

O Piloto 2 encontrava-se com boa aparência, sabor agradável e leve aroma de mel, entretanto, como o aroma influencia diretamente na resposta reflexa de aumento na salivação, para deixá-la ainda mais agradável e atrativa, optou-se pela introdução do mentol (Piloto 3), um agente flavorizante, ou seja, que doa cheiro agradável à formulação, exercendo ainda, sensação de frescor, provavelmente pela interação direta com receptores de frio do corpo, fato explorado na maioria das apresentações tópicas comerciais, principalmente orais (ROWE, SHESKEY & QUINN, 2009).

A formulação denominada Piloto 3 foi escolhida para desenvolvimento do spray, então, partiu-se para análises de controle de qualidade, ferramenta utilizada para avaliar parâmetros da formulação, como por exemplo, eventuais interações entre o fármaco e os excipientes, além de características organolépticas, pH e sua compatibilidade com a via de administração, viscosidade, doseamento, etc. (JAGER, 1997). Portanto, no desenvolvimento do spray para xerostomia, esses parâmetros foram avaliados, ajustados às necessidades da via a ser aplicada e, por fim, padronizados, objetivando a criação das especificações do produto desenvolvido.

A formulação apresentou parâmetros organolépticos de cheiro agradável de mentol e mel, sabor adocicado e sensação refrescante, além de viscosidade ideal para manter-se por mais tempo na mucosa oral, em comparação com formulações líquidas, que por terem baixa viscosidade, tendem a ser deglutidas mais rapidamente.

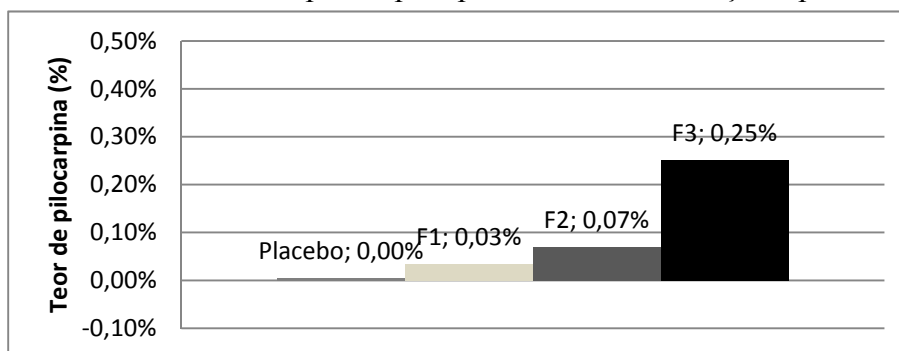
O pH da formulação foi de $3,45 \pm 0,12$, abaixo do pH normal da mucosa oral, o que foi determinado pela presença de agentes acidificantes como a sacarina (pH = 2.0 em 0.35% p/v em soluções aquosas), hidroxipropilcelulose (pH = 5.0–8.5 para solução aquosa à 1% p/p) e ciclamato de sódio (pH = 5.5–7.5 em uma solução à 10% p/v) (ROWE, SHESKEY & QUINN, 2009). Quando o paciente não sofre de mucosites, os odontólogos prescrevem o uso do suco de limão ou 2% de ácido cítrico no dorso da língua para estimular a salivacão (TOLENTINO et al., 2011). Como a mucosa sofre constantes variações ao longo do dia, o que induz rápida regulação reflexa, representada por variação no fluxo salivar (aumento ou diminuição) e nos constituintes do sistema de tamponamento, o próprio pH da formulação, funcionaria como agente indutor salivar, complementar aos excipientes e princípio ativo.

A densidade de massa obtida foi de 1,1022 g/mL, um pouco acima da densidade da água. O volume por aspersão, metodologia importante para se determinar a dosagem terapêutica e posologia do novo medicamento, resultou em 5 mL para 50 aspersões, dessa forma, 0,1 mL/aspersão.

O resultado do doseamento é mostrado na Figura 2, e a concentração teórica das três formulações preparadas F1, F2 e F3, equivalentes às doses de 2, 4 e 14 $\mu\text{mol/Kg}$ de pilocarpina, foram ajustadas ao peso médio dos ratos adultos (280g) e ao volume administrado a cada rato, determinado como três aspersões (0,3 mL), resultando em 0,45; 0,91 e 3,2 mg/ml de formulação, respectivamente.

Como esperado, o resultado do doseamento das formulações, realizado em metodologia analítica em HPLC, mostra que F2 apresenta aproximadamente duas vezes mais ativo que F1, e F3 apresenta 3,5 vezes a dose de F2. Dessa forma, como não houve diferença entre concentração teórica e a obtida experimentalmente, portanto, não houve interações entre o ativo e os excipientes, tornando a formulação adequada para o fármaco em uso.

Figura 2. Teor de cloridrato de pilocarpina presente nas formulações: placebo, F1, F2 e F3.



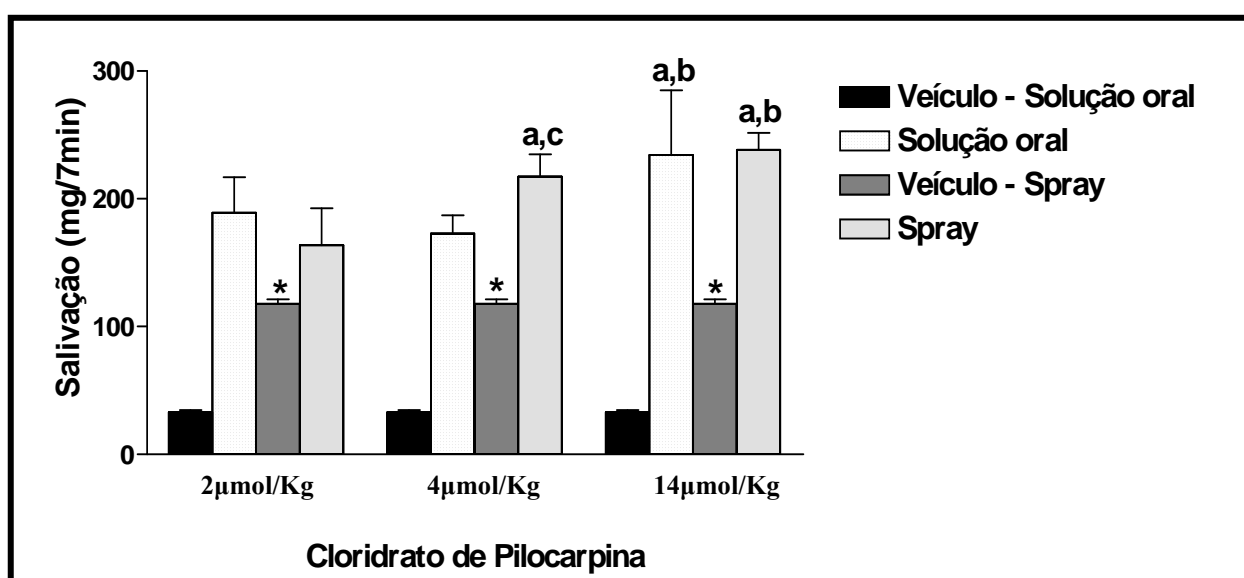
Legenda: F1 – Formulação 1; F2 – Formulação 2; F3 – Formulação 3.

Fonte: Laboratório de controle de qualidade – VegeFlora, Parnaíba, 2011.

Sialometria

Por fim, o teste de sialometria foi realizado e representado no histograma da Figura 3. Primeiramente, a análise estatística entre os placebos da solução oral padrão e do spray teste mostraram um aumento de significativo ($p < 0,05$) do spray em relação a solução, justificável pelas vantagens dadas pelos excipientes da formulação desenvolvida, que funcionam como coadjuvantes no estímulo salivar. Esses excipientes são representados, principalmente, pelo mel e pelo mentol, além de que, o conjunto de todos eles conferem pH adequado para o estímulo salivar reflexo.

Figura 3. Representação da análise estatística da atividade sialogoga dos placebos e das concentrações 2, 4 e 14 $\mu\text{mol/Kg}$ de cloridrato de pilocarpina nas apresentações de solução oral e spray bucal.



Legenda: ^a $p < 0,05$, quando comparado a menor concentração da formulação; ^b $p < 0,05$, quando comparado a concentração intermediária da formulação; ^c $p < 0,05$, quando comparado as concentrações nas duas formulações; * $p < 0,05$, quando comparado os veículos das duas formulações: (ANOVA e t-Student-Newmn-Keuls como *post hoc* teste).

O aroma atrativo e o alimento adocicado (mel), presentes na formulação, induzem a memória gustativa, com surgimento do reflexo de respostas primitivas como o lambr dos lábios e da salivagem (GUYTON & HALL, 2006), o que foi observado nos ratos, pois se tratavam de animais saudáveis, sem danos às glândulas salivares.

A escolha de solução oral para comparação com o spray, deu-se, uma vez que o medicamento disponível no mercado, terapeuticamente consolidado para xerostomia, é um comprimido, ou seja, sua administração oral é seguida de desintegração, dissolução, absorção

sistêmica e por fim alcance às glândulas salivares, assim como a solução oral escolhida. A vantagem do spray frente a esta pode ser observada com os dados obtidos com a concentração de 4 $\mu\text{mol/Kg}$ para ambas, em que houve aumento significativo ($p < 0,05$) do grupo oral para o grupo spray.

Quando comparamos o grupo spray de 14 $\mu\text{mol/Kg}$ com os de menor dose, vimos crescimento de 102, 46 e 10% em relação aos grupos placebo, spray de 2 e de 4 $\mu\text{mol/Kg}$, respectivamente. A variação entre as respostas das doses de 4 e de 14 $\mu\text{mol/Kg}$ foi muito pequena, pois quando se fala em dosagem terapêutica, deve-se levar em consideração a janela terapêutica em que os fármacos estão inseridos. Dessa forma, quando se extrapola o limite de concentração eficaz, não se consegue obter um aumento significativo no fluxo salivar, e sim, no surgimento dos efeitos colaterais (SANTANA, 2009).

Da mesma forma, foram avaliadas as alterações entre o grupo oral de maior dose e os de menor dose, com aumento de 610, 24 e 35% em relação aos grupos placebo, solução oral de 2 e de 4 $\mu\text{mol/Kg}$, respectivamente. Como podemos perceber essa variação não foi linear, entretanto, o grupo oral com 14 $\mu\text{mol/Kg}$ apresentou variação maior que o aceitável dentro de sua população amostral, com desvio padrão de $\pm 45\text{mg}$. O devido erro nesse grupo sugere o aumento exagerado no efeito estimulante (excitatório) que a concentração sistêmica de 14 $\mu\text{mol/Kg}$ de pilocarpina, produz no SNC. Entre os efeitos colaterais típicos, houve surgimento de diarreia, aumento da frequência urinária, alterações cardíacas, e em alguns ratos, contrações da musculatura, as quais já foram citadas na literatura (SANTANA, 2009).

Com a formulação de spray desenvolvida, além da maior dosagem não ter induzido ao aparecimento de efeitos colaterais, foi possível perceber que a melhora entre o grupo spray de 4 e de 14 $\mu\text{mol/Kg}$ não é significativa, dessa forma, a dosagem de 4 $\mu\text{mol/Kg}$ é ideal para a avaliação da atividade sialogoga da pilocarpina.

Por fim, quando comparados a solução oral e o spray de 4 $\mu\text{mol/Kg}$ percebemos um aumento da salivagem do primeiro para o segundo, demonstrando a eficácia da ação da formulação tópica.

CONCLUSÃO

A formulação spray de cloridrato de pilocarpina apresentou resultados promissores como indutor de salivagem em estudos pré-clínicos, constituindo-se como uma forma farmacêutica eficaz em pacientes que sofrem de xerostomia.

REFERÊNCIAS

- BARDY, J.; SLEVIN, N. J.; MAIS, K. L.; MOLASSIOTIS, A. A systematic review of honey uses and its potential value within oncology care. **Journal of Clinical Nursing**. v. 17, n. 19, p. 2604-23, 2008.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopéia brasileira**. 5ª Ed. Vol. 1, Brasília, 2010.
- COIMBRA, F. Xerostomia: etiologia e tratamento. **Revista Portuguesa de Estomatologia e Cirurgia Maxilo-facial**. v. 50, p. 159-164, 2009.
- FÁVARO, R. A. A.; FERREIRA, T. N. R.; MARTINS, W. D.; Xerostomia: etiologia, diagnóstico e tratamento. Revisão. **Clínica e Pesquisa em Odontologia**, Curitiba, v. 2, n. 4, p. 303-317, 2006.
- FEIO, M.; SAPETA, P.; Xerostomia em cuidados paliativos. **Acta Medica Portuguesa**. v. 18, p. 459-466, 2005.
- GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 11ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.
- JÂGER, W. Quality assurance in the view of a commercial analytical laboratory. **Accreditation and Quality Assurance**. v 2, n. 4, p.199-202, 1997.
- KHANAL, B.; BALIGA, M.; UPPAL, N. Effect of topical honey on limitation of radiation-induced oral mucositis: an intervention study. **International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery**. v. 39, p. 1181–1185, 2010.
- NAKAMURA, N., SASANO, N., YAMASHITA, H., IGAKI, H., SHIRAISHI, K., TERAHARA, A., et al. Oral pilocarpine (5 mg t.i.d.) used for xerostomia causes adverse effects in Japanese. **Auris Nasus Larynx**, v. 36, n. 3, p. 310-3, 2009.
- NETO, C. B.; SUGAYA, N. N. Tratamento da xerostomia em pacientes irradiados na região da cabeça e do pescoço. **Revista Biociências**. v. 10, n. 3, p. 147-51, 2004.
- PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; **Introduction to spectroscopy**. 2. ed. Saunders college publishing, 1996.
- ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. **Handbook of pharmaceutical excipients**. 6ª ed. London: Royal Pharm. Society of Great Britain, 2009.
- SANTANA, H. A. L. **Efeito de duas formulações de pilocarpina, solução para bochecho e sublingual, no tratamento da xerostomia induzida por radiação**. [Dissertação – Mestrado]. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2009.

SILVEIRA, A. J. A. Espectroscopia na região infravermelho. In: **Química orgânica teórica**. Belém: Editora Universitária UFPA, 2010.

TAKAKURA, A. C.; MOREIRA, T. S.; DÉBORA, S.A.; COLOMBARI, L. A.; DE LUCA JR.; MENANI, J. V. ; Activation of α_2 -adrenoceptors in the lateral hypothalamus reduces pilocarpine induced salivation in rats. **Neuroscience Letters**, v. 450, p. 225–228, 2009.

TOLENTINO, E. S., CENTURION, B. S., FERREIRA, L. H. C., SOUZA, A. P., DAMANTE, J. H., RUBIRA-BULLEN, I. R. F. Oral adverse effects of head and neck radiotherapy: care guideline for irradiated patients. **Journal of Applied Oral Science**, v. 19, n. 5, p. 448-54, 2011.

USP: United States Pharmacopeia. 24. ed. Rockville: Aspirin tablets monograph, 1999.

6 CAPÍTULO III:**AVALIAÇÃO DA SUSTENTAÇÃO DO EFEITO SIALOGOGO DE UMA
FORMULAÇÃO DE SPRAY DE PILOCARPINA**

Avaliação da sustentação do efeito sialogogo de uma formulação de spray de pilocarpina contendo polímero mucoadesivo

SANTOS, G. A. S.^{1,2}; SÁ, L. L. F.^{1,2}; FREITAS, R. M.^{1,2}; NUNES, L. C. C.^{1,2}.

¹ Núcleo de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Brasil.

² Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Brasil.

RESUMO

O cloridrato de pilocarpina é uma das principais alternativas para pacientes com redução ou interrupção da secreção das glândulas salivares, que tem consequências graves na qualidade de vida, como a perda do paladar, dificuldade de engolir e de falar, aumento da formação de placas bacterianas e cáries nos dentes. Uma formulação spray contendo pilocarpina para aplicação tópica na via bucal através de aspersão foi desenvolvida, a fim de melhorar a segurança e qualidade do tratamento com este fármaco, pela redução da dose e do efeito sistêmico apresentado pela via oral. Por meio da comparação entre a apresentação de spray e a solução de pilocarpina para uso oral em ratos machos *Wistar*, verificou-se que na dose de 4 $\mu\text{mol/Kg}$, o spray apresenta atividade por tempo prolongado em relação a solução ($p < 0,05$), demonstrando também um nível moderado de incremento da salivação, o que indica a redução do pico de concentração sérica da pilocarpina durante o uso. O polímero (hidroxipropilcelulose) reconhecidamente bioadesivo promoveu efeito adjuvante para liberação regular e lenta do princípio ativo, diminuindo a deglutição do princípio ativo e assim, os efeitos sistêmicos indesejáveis.

Palavras-chave: Secura da Boca, Saliva, Preparações de Ação Prolongada.

ABSTRACT: Evaluation of the sustained sialogogue effect of a spray-like liquid formulation of pilocarpine

Pilocarpine hydrochloride is one of the main alternatives for patients with reduction or interruption of salivary glands secretion, which has serious consequences on quality of life, such as loss of taste, difficulty swallowing and speaking, and increased formation of bacterial plaque and caries in teeth. A spray formulation containing pilocarpine for topical application via oromucosal spraying was developed in order to improve the safety and quality of the treatment with pilocarpine, decreasing the dose and the systemic effects shown in other vias. Through the comparison between the presentation of spray solution and pilocarpine for use in

oral male Wistar rats, it was found that at a dose of 4 $\mu\text{mol/Kg}$, the spray has activity for a longer time than the solution ($p < 0.05$), also demonstrating a moderate degree of salivation increase, indicating a reduction in peak plasma concentration of pilocarpine during its use. A polymer (hydroxypropylcellulose) known as bioadhesive provided regular and slow release of the active, reducing the swallowing of the drug and thus the undesirable systemic effects.

Keywords: Mouth Dryness, Saliva, Delayed-Action Preparations.

INTRODUÇÃO

O cloridrato de pilocarpina, agonista dos receptores muscarínicos, é uma alternativa eficaz no alívio da xerostomia em pacientes de síndrome de Sjögren e de radioterapia de câncer da cabeça e pescoço. (BERK, 2008; MARGAIX-MUNOZ et al., 2009; TOMIITA et al., 2010; BOOKMAN et al., 2011). Embora haja contraindicações, os ensaios clínicos apontam efeitos colaterais mínimos quando estes ocorrem, geralmente caracteriza-se por rubor facial e aumento da atividade intestinal, nada mais severo (NETO & SUGAYA, 2004). No entanto, o uso oral da pilocarpina por tempo prolongado provoca efeitos adversos que acabam por diminuir a adesão ao tratamento, principalmente quando a secura da boca não é tão severa (TOLENTINO et al., 2011).

O uso sistêmico da pilocarpina reproduz efeitos parassimpaticomiméticos como o aumento do tônus da musculatura lisa e motilidade do trato gastrointestinal, urinário, vesícula biliar, ductos biliares e brônquios, aumento notável da salivação e secreção das glândulas sudoríparas, além de efeito colateral sobre o Sistema Nervoso Central no núcleo central relacionado à sede (BERNARDI et al., 2002; ONO et al., 2012).

Diversos trabalhos utilizando ratos têm demonstrado possíveis mecanismos de ação pelos quais a pilocarpina age sobre a salivação, tendo resultados positivos tanto na avaliação de atividade central (SPRENGER et al., 2009; TAKAKURA et al., 2009; BORELLA et al., 2008; ALMEIDA et al., 2006; TAKAKURA et al., 2003; RENZI, DE LUCA JR & MENANI, 2002; MOREIRA et al., 2001; CECANHO et al., 1999) quanto da atividade local do fármaco, principalmente nas glândulas parótidas (ASARI, MARUYAMA & KUSAMA, 2009; OMORI et al., 2003; MASUNAGA et al., 1997).

Este trabalho teve por objetivo avaliar a sustentação do efeito sialogogo da formulação de spray bucal em ratos em comparação ao efeito da solução de pilocarpina aplicada via oral.

O spray bucal utilizado contém hidroxipropilcelulose com o objetivo de promover a bioadesividade da formulação na mucosa oral.

Bioadesão é a denominação dada para a ligação entre sistemas transportadores de fármacos e a superfície de uma membrana biológica. Quando essa membrana biológica é revestida por muco, caso da mucosa oral, o fenômeno passa a ser chamado de “mucoadesão”. Essa propriedade é definida como um sistema de controle de liberação de fármacos, em que estes estão dispersos, por exemplo, numa matriz hidrofílica polimérica, e cuja ação relaciona-se diretamente com a capacidade e velocidade com que este se desprende ou libera desta matriz (LYRA et al., 2007).

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparo da formulação spray

Foram mantidos os excipientes e suas proporções do veículo do spray de pilocarpina com pedido de depósito no Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), considerando os parâmetros de melhor viscosidade, sabor e aroma obtido. Contém mel, metilparabeno, propilparabeno, glicerina, sacarina, ciclamato de sódio, mentol, hidroxipropilcelulose (mucoadesivo), água qsp. e álcool qs. O cloridrato de pilocarpina foi obtido da empresa Vegeflora Extrações do Nordeste Ltda.

Foram avaliados os seguintes parâmetros: características organolépticas; pH (em equipamento da marca “Hanna Instruments”, modelo PH21); densidade (segundo métodos gerais da Farmacopéia Brasileira, com auxílio de picnômetro com capacidade de 5 mL) e volume de aspersão (50 pressionadas na válvula do frasco, direcionado para proveta graduada, com medição do volume correspondente).

Atividade Sialogoga Sustentada

Ensaio foram realizados utilizando ratos machos albinos (*Rattus norvegicus*) raça *Wistar*, provenientes do Biotério do Centro de Ciências Agrárias da UFPI, com três meses de idade e peso variando entre 160 e 230 g. Esses ensaios envolveram metodologia de sialometria descrita por Takakura e colaboradores (2009) com modificações, em que concentrações correspondentes a dose de 4 µmol/kg da pilocarpina foi inserida em uma formulação em spray bucal e numa solução oral.

Foram utilizados 10 ratos, divididos em três grupos. No grupo Placebo (Grupo P), com dois ratos, administrou-se apenas 0,3 mL de água potável via cânula. No grupo Solução Oral (Grupo SO), com quatro ratos, administrou-se, utilizando cânula, a dose correspondente a 4 $\mu\text{mol/kg}$ de solução de pilocarpina a cada indivíduo. No grupo Spray Bucal (Grupo Spray), com quatro ratos de massa 180 g, administrou-se a formulação preparada de spray em três aspersões homogêneas contendo ao todo 4 $\mu\text{mol/kg}$ de pilocarpina. Para aplicação do spray utilizou-se pinça metálica no momento da abertura da cavidade oral.

Cada rato foi anestesiado com cloridrato de cetamina (100 mg/Kg) i. p. Antes da primeira medida da salivação, o excesso de saliva na boca do rato foi limpo com algodão, somente então foi realizada a inserção na cavidade oral de uma ou mais bolas de algodão de 40 mg previamente taradas. Após 7 minutos as bolas de algodão foram retiradas e pesadas. A água, solução ou spray de pilocarpina foi administrado em seguida e foram repetidas as medidas da salivação em vários tempos: Grupo P, após 3, 20 e 40 minutos da administração da água; Grupo SO, após 3, 20 e 40 minutos da administração da solução de pilocarpina; Grupo Spray, após 3, 20, 40, 60 e 80 minutos da administração do spray.

Este estudo está de acordo com os princípios éticos em experimentação animal adotados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Piauí (CEEAA/UFPI), conforme protocolo no. 030/12 aprovado em junho de 2012.

Análise Estatística

Os resultados foram analisados utilizando o programa GraphPad Prism Versão 3.00. Os resultados foram apresentados em miligramas de saliva por 7 minutos ($\text{mg}/7\text{min}$) \pm Erro padrão das médias. Para as comparações foi utilizado t-Student e ANOVA de medidas repetidas seguido do teste Newman-Keuls. A significância foi determinada em $p < 0.05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Preparo da formulação spray

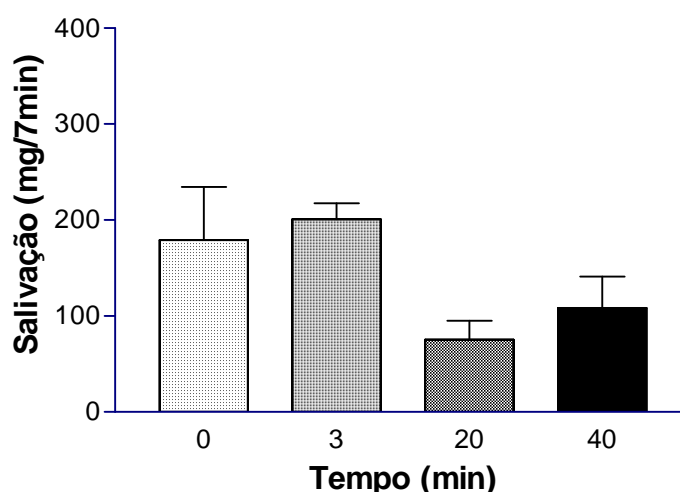
O veículo do spray apresentou características organolépticas de cheiro agradável de mentol e mel, sabor adocicado e sensação refrescante. O spray bucal contendo pilocarpina apresentou pH de $3,83 \pm 0,22$. A densidade de massa obtida foi de 1,1030 g/mL. O volume por aspersão resultou em 5 mL para 50 aspersões, dessa forma, 0,1 mL/aspersão. Estes

resultados estão dentro do esperado quando comparado a outros trabalhos envolvendo o uso da formulação com pedido de depósito no INPI.

Atividade Sialogoga Sustentada

Os resultados para o Grupo P (Figura 1) apontaram para uma oscilação da medida de salivação ao longo do tempo em um mesmo indivíduo, mas que não obedeceu a padrão e não é significativa ($p > 0,05$). A menor e maior medida de salivação obtidas foram respectivamente 55,6 e 234,4 mg/7min e média $141,0 \pm 23,3$ mg/7min.

Figura 1 – Representação dos resultados de sialometria em ratos machos *Wistar*, com medidas repetidas, com administração de água potável.



Nota: $p > 0,05$ na comparação entre os resultados para cada tempo (ANOVA de medidas repetidas e t-Student-Newmn-Keuls como *post hoc* teste).

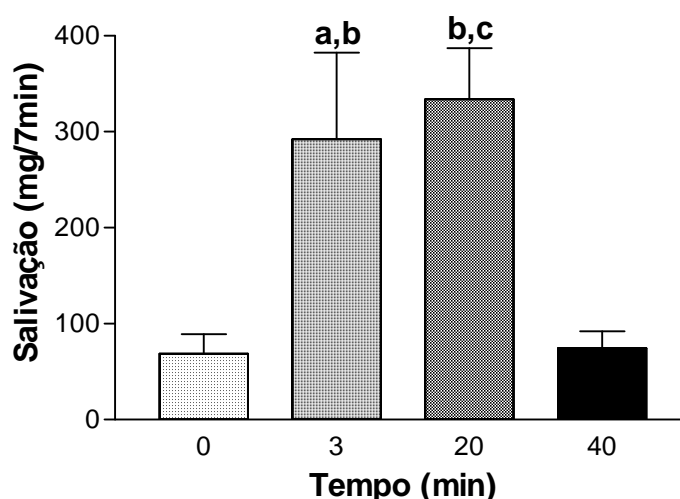
Não houve variação significativa da salivação antes e após a ingestão de água potável. Os resultados do Grupo P demonstraram a importância de se fazer o uso da repetição de medidas no mesmo indivíduo e medir a salivação basal deste antes de administrar o fármaco para comparação e, também, verificação da sustentação do efeito sialogogo em função do tempo.

Com a administração de cloridrato de pilocarpina 4 $\mu\text{mol/kg}$ em solução oral houve após três minutos um aumento significativo ($p < 0,05$) da salivação. Isto que indica um rápido início de ação do fármaco para a via oral quando dissolvido em solução (Figura 2).

Após 20 minutos da administração houve ainda uma sustentação do efeito, no entanto, aos 40 minutos o efeito sialogogo já não se observava e a medida de salivacão foi equivalente ao obtido antes da administração do cloridrato de pilocarpina.

Nos ratos foi observado o pico de salivacão em cada indivíduo entre 274 e 473 mg/7min. Os estudos de Moreira e colaboradores (2001), Borella e colaboradores (2008) e Takakura e colaboradores (2009) obtiveram entre 433 e 480 mg/7min de salivacão produzida por cloridrato de pilocarpina i. p. nas concentrações de 4 $\mu\text{mol/Kg}$ ou 1 mg/Kg, tendo sido utilizado ratos machos da raça *Holtzman* pesando entre 280 e 350 g e anestesia de cloridrato de cetamina (100 mg/Kg) i.p. Assim, a relação entre a administração de pilocarpina pelas vias intraperitoneal e oral pode ser considerada boa, mas não foram idênticas.

Figura 2 – Representação dos resultados de sialometria em ratos machos *Wistar*, com medidas repetidas após administração de 4 $\mu\text{mol/kg}$ cloridrato de pilocarpina em solução oral.

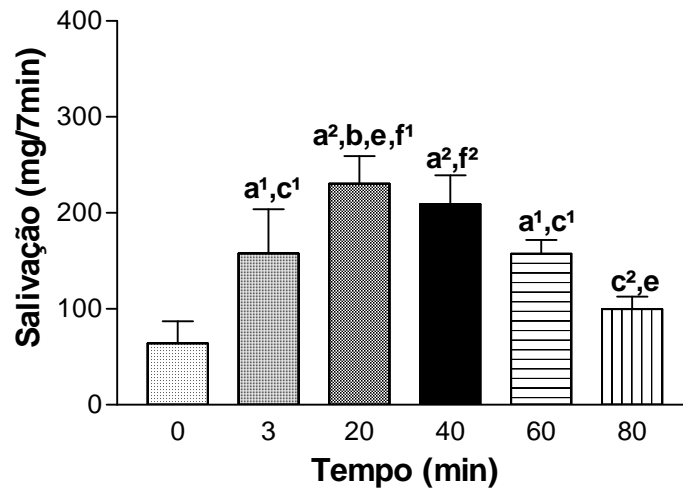


Legenda: a) $p < 0,05$ quando comparado a medida no tempo zero; b) $p < 0,01$ quando comparado a medida em 40 minutos; c) $p < 0,01$ quando comparado a medida no tempo zero. (ANOVA de medidas repetidas e t-Student-Newmn-Keuls como *post hoc* teste).

Após a administração da formulação preparada de spray de cloridrato de pilocarpina 4 $\mu\text{mol/kg}$ por aspersão houve um aumento significativo ($p < 0,05$) da salivacão, o que indica um início rápido da ação do fármaco para a aplicação tópica via bucal (Figura 3). Foi observado que se comparados exclusivamente os resultados para solução oral e para o spray no tempo de 3 minutos, não há diferença significativa ($p < 0,05$).

Comparando os resultados obtidos nos tempos de 3, 20, 40 e 60 minutos, houve uma sustentação do efeito sialogogo por 60 minutos, sendo reestabelecida a salivacão basal após 80 minutos da administração do spray.

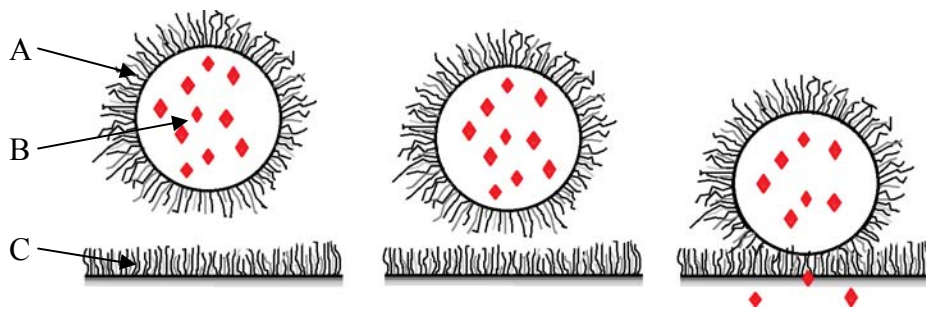
Figura 3 – Representação dos resultados de sialometria em ratos machos *Wistar*, com medidas repetidas após administração de 4 $\mu\text{mol/kg}$ cloridrato de pilocarpina por aspersão de spray via bucal.



Legenda: a1) $p < 0,01$ quando comparado a medida no tempo zero; a2) $p < 0,001$ quando comparado a medida no tempo zero; b) $p < 0,05$ quando comparado a medida em 3 minutos; c1) $p < 0,05$ quando comparado a medida em 20 minutos; c2) $p < 0,001$ quando comparado a medida em 20 minutos; d) $p < 0,01$ quando comparado a medida em 40 minutos; e) $p < 0,05$ quando comparado a medida em 60 minutos; f1) $p < 0,001$ quando comparado a medida em 80 minutos; f2) $p < 0,01$ quando comparado a medida em 80 minutos. (ANOVA de medidas repetidas e t-Student-Newmn-Keuls como *post hoc* teste).

A hidroxipropilcelulose é um polímero bioadesivo que pode ser utilizado como matriz para liberação controlada de fármacos. Dessa forma, suas propriedades mucoadesiva e viscosificante chamam a atenção para os benefícios da formação de um filme na mucosa oral, prolongando os efeitos locais do fármaco sobre as glândulas salivares e prolongando o tempo de absorção (ROWE, SHESKEY & QUINN, 2009). Este foi notadamente a principal propriedade da formulação responsável pela sustentação do efeito sialogogo observado para o spray e ilustrada na Figura 4.

Figura 4 – Representação ilustrada da interligação das cadeias do material bioadesivo nas cadeias poliméricas de muco seguido de passagem do fármaco transportado. Adaptado de Figueiras e colaboradores (2007).



Legenda: A) Cadeias poliméricas do bioadesivo (hidroxipropilcelulose); B) Moléculas do fármaco (cloridrato de pilocarpina); C) Cadeias poliméricas do muco (mucina).

CONCLUSÃO

A formulação de spray bucal de pilocarpina 4 $\mu\text{mol/kg}$ promoveu o aumento de salivação esperado além de ter este efeito sustentado por pelo menos 60 minutos, se mostrando eficiente na redução de doses necessárias para o efeito sialogogo em ratos, se comparado a solução de pilocarpina na mesma dose. Além disso, foi observado que o uso local de pilocarpina reduz o risco do uso sistêmico, em que, acompanhada da cessação mais rápida do efeito, pode haver um pico no nível sérico do fármaco e conseqüentemente mais efeitos colaterais agudos.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, R. L.; DE LUCA JR, L. A.; COLOMBARI, D. S. A.; MENANI, J. V.; RENZI, A. Damage of the medial preoptic area impairs peripheral pilocarpine-induced salivary secretion. **Brain Research**, v. 1085, p. 144-8, 2006.

ASARI, T.; MARUYAMA, K.; KUSAMA, H. Salivation triggered by pilocarpine involves aquaporin-5 in normal rats but not in irradiated rats. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 36, p. 531-8, 2009.

BERK, L. Systemic pilocarpine for treatment of xerostomia. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, v. 4, n. 10, 1333-40, 2008.

BERNARDI, R.; PERIN, C.; BECKER, F. Z.; RAMOS, G. Z.; LOPES, L. R.; PIRES, M. Effect of pilocarpine mouthwash on salivary flow. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, p. 105-10, 2002.

BOOKMAN, A. A. M.; SHEN, H.; COOK, R. J.; BALLEY, D.; MCCOMB, R. J.; RUTKA, J. A.; SLOMOVIC, A. R.; CAFFERY, B. Whole stimulated salivary flow correlation With the pathology of inflammation and damage in minor salivary gland biopsy specimens from patients with primary Sjogren's Syndrome but not patients with sicca. **Arthritis and Rheumatism**, v. 63, n. 7, p. 2014-20, 2011.

BORELLA, T. L.; DE LUCA JR, L. A.; COLOMBARI, D. S. A.; MENANI, J. V. Central muscarinic receptor subtypes involved in pilocarpine-induced salivation, hypertension and water intake. **British Journal of Pharmacology**, v. 155, p. 1256-63, 2008.

CECANHO, R.; ANAYA, M.; RENZI, A.; MENANI, J. V.; DE LUCA JR, L. A. Sympathetic mediation of salivation induced by intracerebroventricular pilocarpine in rats. **Journal of the Autonomic Nervous System**, v. 76, p. 9-14, 1999.

FIGUEIRAS, A.; CARVALHO, R.; VEIGA, F. Sistemas mucoadesivos de administração de fármacos na cavidade oral: mecanismo de mucoadesão e polímeros mucoadesivos. **Revista Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde**, v. 4, n. 2, p. 216-33, 2007.

LYRA, M. A. M.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; BRASILEIRO, M. T.; Sistemas Matriciais Hidrofílicos e Mucoadesivos para Liberação Controlada de Fármacos. **Latin American Journal of Pharmacology**, v. 5, n. 26, p. 784-93, 2007.

MARGAIX-MUNOZ, M.; BAGAN, J. V.; POVEDA, R.; JIMENEZ, Y.; SARRION, G. Sjogren's syndrome of the oral cavity: Review and update. **Medicina Oral Patologia Oral y Cirurgia Bucal**, v. 14, n. 7, p. E325-30, 2009.

MASUNAGA, H.; OGAWA, H.; UEMATSU, Y.; TOMIZUKA, T.; YASUDA, H.; TAKESHITA, Y. Long-lasting salivation induced by a novel muscarinic receptor agonist SNI-2011 in rats and dogs. **European Journal of Pharmacology**, v. 339, p. 1-9, 1997.

MOREIRA, T. S.; TAKAKURA, A. C. T.; DE LUCA JR, L. A.; RENZI, A.; MENANI, J. V. Moxonidine reduces pilocarpine-induced salivation in rats. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 91, p. 32-6, 2001.

NETO, C. B.; SUGAYA, N. N. Tratamento da xerostomia em pacientes irradiados na região da cabeça e do pescoço. **Revista Biociências**, v. 10, n. 3, p. 147-51, 2004.

OMORI, Y.; ASARI, T.; MARUYAMA, K.; KUSAMA, H.; KOJIMA, M.; SHIBATA, N. Effects of pilocarpine hydrochloride and cevimeline on submandibular/sublingual salivation in rat xerostomia model produced by X-ray irradiation. **Arzneimittelforschung**, v. 53, n. 5, p. 342-50, 2003.

ONO K.; INAGAKI, T.; IIDA, T.; WAKASUGI-SATO, N.; HOSOKAWA, R.; INENAGA, K. Distinct effects of cevimeline and pilocarpine on salivary mechanisms, cardiovascular response and thirst sensation in rats. **Archives of Oral Biology**, v. 57, p. 421-8, 2012.

RENZI, A.; DE LUCA JR, L. A.; MENANI, J. V. Lesions of the lateral hypothalamus impair pilocarpine-induced salivation in rats. **Brain Research Bulletin**, v. 58, n. 5, p. 455-9, 2002.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. **Handbook of pharmaceutical excipients**. 6^a ed. London: Royal Pharm. Society of Great Britain, 2009.

SPRENGER, N.; JULITA, M.; DONNICOLA, D.; JANN, A. Sialic acid feeding aged rats rejuvenates stimulated salivation and colon enteric neuron chemotypes. **Glycobiology**, v. 19, n. 12, p. 1492-502, 2009.

TAKAKURA, A. C. T.; MOREIRA, T. S.; COLOMBARI, D. S. A.; DE LUCA JR, L. A.; MENANI, J. V. Activation of α 2-adrenoceptors in the lateral hypothalamus reduces pilocarpine-induced salivation in rats. **Neuroscience Letters**, v. 450, p. 225-8, 2009.

TAKAKURA, A. C. T.; MOREIRA, T. S.; DE LUCA JR, L. A.; RENZI, A.; MENANI, J. V. Central α_2 adrenergic receptors and cholinergic-induced salivation in rats. **Brain Research Bulletin**, v. 59, n. 5, p. 383–6, 2003.

TOLENTINO, E. S.; CENTURION, B. S.; FERREIRA, L. H. C.; SOUZA, A. P.; DAMANTE, J. H.; RUBIRA-BULLEN, I. R. F. Oral adverse effects of head and neck radiotherapy: literature review and suggestion of a clinical oral care guideline for irradiated patients. **Journal of Applied Oral Science**, v. 19, n. 5, p. 448-54, 2011.

TOMIITA, M.; TAKEI, S.; KUWADA, N.; NONAKA, Y.; SAITO, K.; SHIMOJO, N. KOHNO, Y. Efficacy and safety of orally administered pilocarpine hydrochloride for patients with juvenile-onset Sjogren's syndrome. **Modern Rheumatology**, v. 20, n. 5, p. 486-90, 2010.

7 CAPÍTULO IV:

SPRAY ORAL CONTENDO PILOCARPINA COM ATIVIDADE SIALOGOGA

(Pedido de Depósito de Patente submetido ao Instituto Nacional de Propriedade Industrial por meio do Núcleo de Inovação e Transferência de Tecnológica da Universidade Federal do Piauí)

RESUMO

“SPRAY ORAL CONTENDO PILOCARPINA COM ATIVIDADE SIALOGOGA”

A presente patente de privilégio de invenção caracteriza-se por uma nova modalidade de formulação contendo pilocarpina, que é, em suma, um produto sialogogo, com base de água, sendo de baixa toxicidade, portanto apresentando alto nível de segurança, podendo ter vários usos, sobretudo na xerostomia. A presente patente de privilégio de Invenção trata ainda do processo segundo o qual o produto é obtido.

O termo xerostomia é frequentemente usado para referir alterações qualitativas ou quantitativas no fluxo salivar, o que pode afetar desfavoravelmente, não apenas a saúde bucal, com atrofias, ulcerações da mucosa, cáries e outras infecções, mas também a qualidade de vida dos indivíduos, sendo esta uma condição clínica de grande relevância médica.

Os tratamentos hoje existentes incluem alternativas como salivas artificiais, cujo efeito é passageiro e momentâneo e, portanto, com baixa adesão, e agonistas colinérgicos, pilocarpina (Salagen[®]) e cevimelina (Evoxac[®]) em comprimidos.

Diante da comprovada ação dos agonistas colinérgicos e da baixa adesão ao uso de comprimidos, além do surgimento de efeitos colaterais com o uso dos mesmos, surgiram diversos trabalhos e patentes com novas apresentações para os fármacos representantes da classe.

Tomando como base o estado da técnica atual e com vistas aos objetivos propostos foi desenvolvida a formulação de spray bucal ora tratado, bem como o processo através do qual o mesmo é fabricado.

O spray aqui proposto vem proporcionar vantagens a formulação comprimido disponível no mercado por ser mais convenientemente aplicável, facilitando inclusive a repetição da aplicação, diminuindo a dose e, conseqüentemente, os efeitos da administração sistêmica.

REIVINDICAÇÕES

“SPRAY ORAL CONTENDO PILOCARPINA COM ATIVIDADE SIALOGOGA”

1. Spray oral contendo pilocarpina caracterizado por ser constituído por uma forma farmacêutica líquida, podendo apresentar-se na forma de solução, suspensão ou emulsão para administração na forma de spray na cavidade bucal, misturados em quaisquer proporções a outros adjuvantes farmacêuticos/alimentícios com a finalidade de melhorar seu aspecto (propriedades organolépticas) ou aumentar sua estabilidade;
2. Spray oral contendo pilocarpina da reivindicação 1, caracterizado por ser obtida por operações farmacotécnicas preferencialmente adicionado de polímero(s) bioadesivos/mucoadesivo;
3. Produto farmacêutico na forma líquida caracterizado por liberação convencional ou modificada a base de pilocarpina da reivindicação 1, destinados a administração oral direta ou por meio de preparações extemporâneas na forma de spray.

8 PERSPECTIVAS

- Avaliar a ocorrência de possíveis alterações histológicas nas glândulas parótidas após administração do spray;
- Otimizar a formulação do spray bucal testando outros polímeros mucoadesivos, como outros derivados de celulose.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, R. L.; DE LUCA JR, L. A.; COLOMBARI, D. S. A.; MENANI, J. V.; RENZI, A. Damage of the medial preoptic area impairs peripheral pilocarpine-induced salivary secretion. **Brain Research**, v. 1085, p. 144-8, 2006.
- ASARI, T.; MARUYAMA, K.; KUSAMA, H. Salivation triggered by pilocarpine involves aquaporin-5 in normal rats but not in irradiated rats. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 36, p. 531-8, 2009.
- BAPTISTA NETO, C.; SUGAYA, N. N. Tratamento da xerostomia em pacientes irradiados na região da cabeça e do pescoço. **Revista Biociências** (Taubaté), v. 10, n. 3, p. 147-51, 2004.
- BERNARDI, R.; PERIN, C.; BECKER, F. Z.; RAMOS, G. Z.; LOPES, L. R.; PIRES, M. Effect of pilocarpine mouthwash on salivary flow. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, p. 105-10, 2002.
- BONAN, P. R. F.; PIRES, F. R.; LOPES, M. A.; DI HIPOLITO JR, O. Evaluation of salivary flow in patients during head and neck radiotherapy. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, v. 17, n. 2, p. 156-60, 2003.
- BORELLA, T. L.; DE LUCA JR, L. A.; COLOMBARI, D. S. A.; MENANI, J. V. Central muscarinic receptor subtypes involved in pilocarpine-induced salivation, hypertension and water intake. **British Journal of Pharmacology**, v. 155, p. 1256-63, 2008.
- CATALÁN, M. A.; NAKAMOTO, T.; MELVIN, J. E. The salivary gland fluid secretion mechanism. **The Journal of Medical Investigation**, v. 56, n. 3, p. 192-6, 2009.
- CECANHO, R.; ANAYA, M.; RENZI, A.; MENANI, J. V.; DE LUCA JR, L. A. Sympathetic mediation of salivation induced by intracerebroventricular pilocarpine in rats. **Journal of the Autonomic Nervous System**, v. 76, p. 9-14, 1999.
- COIMBRA, F. Xerostomia: etiologia e tratamento. **Revista Portuguesa de Estomatologia e Cirurgia Maxilo-Facial**, v. 50, p. 159-164, 2009.
- FÁVARO, R. A. A.; FERREIRA, T. N. R.; MARTINS, W. D.; Xerostomia: etiologia, diagnóstico e tratamento. **Clínica e Pesquisa em Odontologia**, v. 2, n. 4, p. 303-317, 2006.
- FEIO, M.; SAPETA, P.; Xerostomia em cuidados paliativos. **Acta Médica Portuguesa**, v. 18, p. 459-466, 2005.
- FELBERG, S.; DANTAS, P. E. C. Diagnóstico e tratamento da síndrome de Sjögren. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 69, n. 6, p. 959-63, 2006.

FREITAS, T. M. C.; MEDEIROS, A. M. C.; OLIVEIRA, P. T.; LIMA, K. C. Síndrome de Sjögren: revisão de literatura e acompanhamento de um caso clínico. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 70, n. 2, p. 283-8, 2004.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 11^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

HOLMSTEDTA, B.; WASSÉN, S. H.; SCHULTES, R. E. Jaborandi: An interdisciplinary appraisal. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 1, n. 1, p. 3-21, 1979.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, INCA. Estimativa 2010 - Incidência de câncer no Brasil. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/>>. Acesso em: 10 jun 2010.

MASUNAGA, H.; OGAWA, H.; UEMATSU, Y.; TOMIZUKA, T.; YASUDA, H.; TAKESHITA, Y. Long-lasting salivation induced by a novel muscarinic receptor agonist SNI-2011 in rats and dogs. **European Journal of Pharmacology**, v. 339, p. 1-9, 1997.

MIYOSHI, H. Avaliação funcional das glândulas salivares. Disponível em: <http://centralartigos.com/saude/avaliacao-funcional-das-glandulas-salivares.html>. Acesso em 30 out 2011.

MOREIRA, T. S.; TAKAKURA, A. C. T.; DE LUCA JR, L. A.; RENZI, A.; MENANI, J. V. Moxonidine reduces pilocarpine-induced salivation in rats. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 91, p. 32-6, 2001.

NETO, C. B.; SUGAYA, N. N. Tratamento da xerostomia em pacientes irradiados na região da cabeça e do pescoço. **Revista Biociências**, v. 10, n. 3, p. 147-51, 2004.

OMORI, Y.; ASARI, T.; MARUYAMA, K.; KUSAMA, H.; KOJIMA, M.; SHIBATA, N. Effects of pilocarpine hydrochloride and cevimeline on submandibular/sublingual salivation in rat xerostomia model produced by X-ray irradiation. **Arzneimittelforschung**, v. 53, n. 5, p. 342-50, 2003.

PORTER, S. R.; SCULLY, C.; HEGARTY, A. M. An update of the etiology and management of xerostomia. **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics**, v. 97, p. 28-46, 2004.

RENZI, A.; DE LUCA JR, L. A.; MENANI, J. V. Lesions of the lateral hypothalamus impair pilocarpine-induced salivation in rats. **Brain Research Bulletin**, v. 58, n. 5, p. 455-9, 2002.

RUBIRA, C. M. F.; DEVIDES, N. J.; UBEDA, L. T.; BARTOLUCCI JR, A. G.; LAURIS, J. R.; RUBIRA-BULLEN, I. R. F.; DAMANTE, J. H. Evaluation of some oral postradiotherapy sequelae in patients treated for head and neck tumors. **Brazilian Oral Research**, v. 21, n. 3, p. 272-7, 2007.

SAWAYA, A. C. H. F.; VAZ, B. G.; EBERLIN, M. N.; MAZZAFERA, P. Screening species of *Pilocarpus* (Rutaceae) as sources of pilocarpine and other imidazole alkaloids. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 58, p. 471-80, 2011.

SCULLY, C. B. E. Drug effects on salivary glands: dry mouth. **Oral Diseases**, v. 9, p. 165-76, 2003.

SPRENGER, N.; JULITA, M.; DONNICOLA, D.; JANN, A. Sialic acid feeding aged rats rejuvenates stimulated salivation and colon enteric neuron chemotypes. **Glycobiology**, v. 19, n. 12, p. 1492-502, 2009.

TAKAKURA, A. C. T.; MOREIRA, T. S.; COLOMBARI, D. S. A.; DE LUCA JR, L. A.; MENANI, J. V. Activation of α_2 -adrenoceptors in the lateral hypothalamus reduces pilocarpine-induced salivation in rats. **Neuroscience Letters**, v. 450, p. 225–8, 2009.

TAKAKURA, A. C. T.; MOREIRA, T. S.; DE LUCA JR, L. A.; RENZI, A.; MENANI, J. V. Central α_2 adrenergic receptors and cholinergic-induced salivation in rats. **Brain Research Bulletin**, v. 59, n. 5, p. 383–6, 2003.

VISSINK, A.; MITCHELL, J. B.; BAUM, B. J.; LIMESAND, K. H.; JENSEN, S. B.; FOX, P. C.; ELTING, L. S.; LANGENDIJK, J. A.; COPPES, R. P.; REYLAND, M. E. clinical management of salivary gland hypofunction and xerostomia in head-and-neck cancer patients: successes and barriers. **Internacional Journal of Radiation Oncology Biology Physics**, v. 78, n. 4, p. 983-91, 2010.

VISVANATHAN, V.; NIX, P. Managing the patient presenting with xerostomia: a review. **International Journal of Clinical Practice**, v. 64, n. 3, p. 404-7, 2010.

ANEXOS

ANEXO A: Confirmação de submissão do Capítulo 1 a Archives of Oral Biology.**Giuliano Santos**

De: ees.aob.0.1c09ff.48cec044@eesmail.elsevier.com em nome de Archives of Oral Biology [AOB@elsevier.com]
Enviado em: sexta-feira, 21 de setembro de 2012 11:53
Para: santos.giu@gmail.com
Assunto: A manuscript number has been assigned AOB-D-12-00438

Archives of Oral Biology
Ref: AOB-D-12-00438
Title: Pilocarpine application on treatment of xerostomia: state of the art
Authors: Giuliano André Silva Santos, Msc.; Laisa L Sá, Msc.; Lívio César Cunha Nunes, Ph.D.
Article Type: Review Article

Dear Giuliano,

Your submission entitled "Pilocarpine application on treatment of xerostomia: state of the art" has been assigned the following manuscript number: AOB-D-12-00438.

You may check on the progress of your paper by logging on to the Elsevier Editorial System as an author. The URL is <http://ees.elsevier.com/aob/>.

Thank you for submitting your work to this journal. Please do not hesitate to contact me if you have any queries.

Kind regards,

Administrative Support Agent [30-Mar-11] Archives of Oral Biology

For any technical queries about using EES, please contact Elsevier Author Support at authorsupport@elsevier.com

ANEXO B: Confirmação de submissão do Capítulo 2 a BMC Pharmacology.

Giuliano Santos

De: BioMed Central Editorial [editorial@biomedcentral.com]
 Enviado em: sábado, 2 de junho de 2012 18:49
 Para: Dr Rivelilson Freitas
 Cc: Dr Rivelilson Freitas;
 Laisa LF Sá Ms
 ; Giuliano AS Santos Mr;
 José RSA Leite Dr
 ; Rivelilson M Freitas Dr; Livio CC Nunes Dr
 Assunto: 1607414060742495 Technological development and evaluation on sialogogue activity of a spray-like liquid formulation of pilocarpine

Article title: Technological development and evaluation on sialogogue activity of a spray-like liquid formulation of pilocarpine

MS ID : 1607414060742495

Authors : Laisa LF Sá Ms, Giuliano AS Santos Mr, José RSA Leite Dr , Rivelilson M Freitas Dr and Livio CC Nunes Dr

Journal : BMC Pharmacology

Dear Dr Freitas

Thank you for submitting your article. This acknowledgement and any queries below are for the contact author. This e-mail has also been copied to each author on the paper, as well as the person submitting. Please bear in mind that all queries regarding the paper should be made through the contact author.

A pdf file has been generated from your submitted manuscript and figures. We would be most grateful if you could check this file and let us know if any aspect is missing or incorrect. Any additional files you uploaded will also be sent in their original format for review.

http://www.biomedcentral.com/imedia/1607414060742495_article.pdf (1407K)

For your records, please find below link(s) to the correspondence you uploaded with this submission. Please note there may be a short delay in creating this file.

http://www.biomedcentral.com/imedia/1266068426742498_comment.pdf

If the PDF does not contain the comments which you uploaded, please upload the cover letter again, click "Continue" at the bottom of the page, and then proceed with the manuscript submission again. If the letter will not upload, please send a copy to editorial@biomedcentral.com.

The submitting author can check on the status of the manuscript at any time by logging into 'My BioMed Central' (<http://www.biomedcentral.com/my>).

In the meantime, if you have any queries about the manuscript you may contact us on editorial@biomedcentral.com. We would also welcome feedback about the online submission process.

Best wishes,

The BioMed Central Editorial Team

Tel: +44 (0) 20 3192 2013

e-mail: editorial@biomedcentral.com

Web: <http://www.biomedcentral.com/>

ANEXO C: Declaração do depósito de pedido de patente submetido ao Instituto Nacional de Propriedade Industrial por meio do Núcleo de Inovação e Transferência de Tecnológica na Universidade Federal do Piauí.

< Uso exclusivo do INPI >

7 9 DEZ 12 15
Espaço reservado ao processo
080-176

Espaço para etiqueta

DEPÓSITO DE PEDIDO DE PATENTE OU DE CERTIFICADO DE ADIÇÃO

Ao Instituto Nacional de Propriedade Industrial:
O requerente solicita a concessão de um privilégio na natureza e nas condições abaixo indicadas:

1. Depositante (71):

1.1 Nome: Lívio César Cunha Nunes
 1.2 Qualificação: Professor Doutor
 1.3 CNPJ/CPF: 493.364.833-15
 1.4 Endereço Completo: R. Jorn. Helder Peitona, 962, Ininga, Teresina-PI.
 1.5 CEP: 64049-660 1.6 Telefone: (88) 88320700 1.7 Fax:
 1.8 E-mail: livioceasar@hotmail.com

continua em folha anexa

2. Natureza: Invenção Modelo de Utilidade Certificado de Adição

Escreva, obrigatoriamente, e por extenso, a Natureza desejada: Invenção

3. Título da Invenção ou Modelo de Utilidade ou Certificado de Adição(54):
Spray oral contendo pilocarpina com atividade silagoga

continua em folha anexa

4. Pedido de Divisão: de pedido nº _____ Data de Depósito: _____

5. Prioridade: interna anterior

O depositante reivindica a(s) seguinte(s):

País ou organização de origem	Número do depósito	Data do depósito

6. Inventor (72):

Assinale aqui o(s) nome(s) requer(em) antes divulgação de seu(s) nome(s)

6.1 Nome: Rivalilson Mendes de Freitas 6.3 CPF: 775.807.453-72
 6.2 Qualificação: Professor Doutor
 6.4 Endereço completo: R. Viso. da Parnaíba 2340, Bl. Jacarandá Ap 101, H. Florestal
 6.5 CEP: 64049-570 6.6 Telefone: (88) 88182179 6.7 Fax:
 6.8 E-Mail: rivalilson@pq.cnpq.br

continua em folha anexa

7. Declaração na forma do item 3.2 do Ato Normativo nº 127/97:

7.1 Declaro que os dados fornecidos no presente formulário são idênticos ao da certidão de depósito ou documento equivalente do pedido cuja prioridade está sendo reivindicada.

em anexo

8. Declaração de divulgação anterior não prejudicial: (Período de Graça):
(art. 12 da LPI e item 2 do AN nº 127/97)

em anexo

9. Procurador (74)

9.1 Nome:

9.2 CNPJ/CPF:

9.3 AFIOAB:

9.4 Endereço completo:

9.5 CEP:

9.6 Telefone:

9.7 Fax:

9.8 E-Mail:

10. Listagem de sequências Biológicas (documentos anexados) (se houver):

- Listagem de sequências em arquivo eletrônico: nº de CDs ou DVDs (original e cópia).
- Código de controle alfanumérico no formato de código de barras: _____
- Listagem de sequências em formato impresso: _____ fs.
- Declaração de acordo com o artigo _____ da Resolução INPI nº 228/09: _____ fs.

11. Documentos anexados (assinale e indique também o número de folhas):
(Deverá ser indicado o nº total de somente uma das vias de cada documento)

<input checked="" type="checkbox"/>	11.1 Guia de Recolhimento	fs.	<input checked="" type="checkbox"/>	11.5 Relatório descritivo	11	fs.
<input type="checkbox"/>	11.2 Procuração	fs.	<input checked="" type="checkbox"/>	11.6 Reivindicações	01	fs.
<input type="checkbox"/>	11.3 Documentos de Prioridade	fs.	<input type="checkbox"/>	11.7 Desenhos		fs.
<input type="checkbox"/>	11.4 Doc. de contrato de trabalho	fs.	<input checked="" type="checkbox"/>	11.8 Resumo	01	fs.
<input type="checkbox"/>	11.9 Outros que não aqueles definidos no campo 11 (especificar)					fs.
					13	

12. Total de folhas anexadas (referentes aos campos 10 e 11): 14 fs.

13. Declaro, sob penas da Lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

TERESINA 09 DE DEZEMBRO DE 2011
Local e Data

[Assinatura]
Assinatura e Carimbo

Autores/Inventores

1. Nome completo: Lívio César Cunha Nunes

Qualificação: Professor Doutor CPF: 453.364.823-15

Endereço residencial: R. Jorn. Heider Feltosa, 962, Ininga, Teresina-PI.

CEP: 64049-660 Telefone: (86) 8832 0700 E-mail: liviocesar@hotmail.com

Instituição/empresa: UFPI

2. Nome completo: Rivelilson Mendes de Freitas

Qualificação: Professor Doutor CPF: 775.807.453-72

Endereço residencial: R. Visc. da Parnaíba 2340, Bl Jacarandá Ap 101, Horto Florestal, Teresina-PI

CEP: 64049-570 Telefone: (86) 88182379 E-mail: rivellison@pq.cnpq.br

Instituição/empresa: UFPI

3. Nome completo: José Roberto Souza de Almeida Leite

Qualificação: Professor Doutor CPF: 804.783.521-15

Endereço residencial: R. 08 casa 260 Lot. Nova Aldeota, B. Reis Veloso, Parnaíba-PI.

CEP: 64000-000 Telefone: (86) 8854 9286 E-mail: jrsaleite@gmail.com

Instituição/empresa: UFPI

4. Nome completo: Giuliano André Silva Santos

Qualificação: Farmacêutico CPF: 027.564.183-38

Endereço residencial: R. Melvin Jones, 3863, Bl. 03, Apto. 200, Pizarreira, Teresina-PI.

CEP: 64055-420 Telefone: (86) 8844 0258 E-mail: giulinho87@hotmail.com

Instituição/empresa: UFPI

5. Nome completo: Laisa Lis Fontinele de Sá

Qualificação: Farmacêutica CPF: 021.251.943-83

Endereço residencial: R. Demerval Lobão, 1626, Bairro de Fátima, Teresina-PI.

CEP: 64043-100 Telefone: (86) 9942 4674 E-mail: laisalisa@hotmail.com

Instituição/empresa: UFPI