



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CAMPUS UNIVERSITÁRIO MINISTRO PETRÔNIO PORTELLA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Desenvolvimento tecnológico de comprimidos de Pilocarpina para tratamento da Xerostomia

LAISA LIS FONTINELE DE SÁ

Teresina– Piauí

2013

LAISA LIS FONTINELE DE SÁ

**Desenvolvimento tecnológico de comprimidos de Pilocarpina para tratamento da
Xerostomia**

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-Orientadora: Prof.^aDra. Hilris Rocha e Silva

Teresina - Piauí

2013

LAISA LIS FONTINELE DE SÁ

**Desenvolvimento tecnológico de comprimidos de Pilocarpina para tratamento da
Xerostomia**

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.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes (Orientador)

Departamento de Bioquímica e Farmacologia – CCS/UFPI

Prof. Dr. Danilo César Galindo Bedor (Examinador Externo)

Universidade Federal de Pernambuco- UFPE

Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho (Examinador Externo)

Universidade Federal de Pernambuco- UFPE

Prof^a. Dr^a. Larissa Araújo Rolim (Examinador Externo)

Universidade Federal do Vale do São Francisco- UNIVASF

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ

REITOR

Prof. Dr. José Arimatéia Dantas Lopes

VICE-REITOR

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

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Saulo Cunha de Serpa Brandão

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Msc. Antônio dos Santos Rocha Filho

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. José Guilherme Ferre Pompeu

COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS

FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Paulo Michel Pinheiro Ferreira

VICE-COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS

FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Rivelilson Mendes de Freitas

Dedico esta conquista especialmente à minha família, para que eles percebam a beleza e a relevância da minha escolha profissional. Meus pais, Paulo Sá e Maria Luzia, e irmãos, Paula Fabrísia e Tiago, pessoas para quem me esforço para sempre orgulhar, simplesmente por amá-los.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Maria Luzia Fontinele da Silva Sá e Paulo Vieira de Sá, que sempre serviram de inspiração ética, moral, e, mesmo com dificuldades deram prioridade ao estudo dos filhos. A vocês agradeço e dedico a conquista para mostrar que o esforço valeu a pena.

Ao meu orientador **Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes**, que além de grande professor, da grande influência no meu aprendizado, acompanhando-me desde o início da graduação, com estágios na Farmácia Escola, com a indicação para Iniciação Científica com a **Profa. Dra. Hercília Maria Lins Rolim**, no Trabalho de Conclusão de Curso, com o desenvolvimento da minha primeira patente, e agora no Mestrado, tornou-se um dos meus melhores amigos. Este trabalho não poderia ser iniciado nem desenvolvido sem a genialidade criativa dele. Incansável e sempre em frente, me inseriu em trabalhos promissores, cujo último fruto foi a aprovação do Projeto “Professor Visitante Especial” da Capes, de inestimável relevância na minha vida pessoal e profissional.

Agradeço à minha orientadora de Iniciação Científica, **Profa. Dra. Hercília Maria Lins Rolim**. A ela devo a paixão pela pesquisa e a construção inicial dessa jornada acadêmica. Além de orientadora, é uma grande amiga a quem tenho admiração e respeito.

Às pessoas que nessa reta final deram muito apoio e força, pessoas que estão sempre dispostas a ajudar, aprender e compartilhar momentos tanto de alegria quanto de sofrimento. Agradeço a dedicação e sensibilidade dos amigos e companheiros de laboratório, **Alysson Kenned de Freitas Mesquita**, **Ana Cristina Sousa Gramoza Vilarinho**, do amigo e companheiro para a vida, **Pablo Ricardo Barbosa Ferreira** e por fim, dos professores símbolos de ética, dedicação, qualidade e sensibilidade, **Prof. Dr. Stanley Juan Chavez Gutierrez**, **Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho**, **Prof^a. Dr^a. Hilris Rocha e Silva** e **Prof^a. Dr^a. Mônica Felts de La Roca Soares**.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABELAS.....	xii
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1. INTRODUÇÃO.....	15
2. OBJETIVOS.....	17
2.1 Objetivo Geral.....	17
2.2 Objetivos Específicos.....	17
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	18
3.1 Saliva.....	18
3.2 Fisiologia da Salivação.....	19
3.3 Xerostomia: causas e consequências.....	21
3.4 Tratamento da Xerostomia.....	23
3.5 Pilocarpina.....	24
3.6 Comprimidos de Liberação Imediata.....	25
3.7 Comprimidos Bioadesivos.....	26
3.8 Mesocarpo de Babaçu (<i>Orbignyasp</i>)	28
3.9 Quitisana.....	29
3.10 Planejamento de Experimentos.....	30
3.11 Planejamentos Fatoriais Completos.....	31
4. CAPÍTULO I: Desenvolvimento de comprimidos de Pilocarpina com mesocarpo de babaçu (<i>Orbignyasp</i>) como excipiente, através de planejamento fatorial 2³.....	42
Resumo.....	43
Abstract.....	44
Introdução.....	45
Material e Métodos.....	46
Resultados e Discussão.....	48
Conclusão.....	52
Referências.....	53

5. CAPÍTULO II:Desenvolvimento de comprimidos mucoadesivos de Pilocarpina contendo Quitosana.....	56
Resumo.....	57
Abstract.....	58
Introdução.....	59
Material e Métodos.....	60
Resultados e Discussão	63
Conclusão.....	71
Referências.....	71
PERSPECTIVAS.....	74
ANEXOS.....	75

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.

®	Marca Registrada
Inc.	Corporação
FDA	<i>FoodandDrugAdministration</i>
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
EUA	Estados Unidos da América
FSR	Fluxo salivar em repouso
SS	Síndrome de Sjögren
pH	Potencial de Hidrogênio
MA	Maranhão
MG	Minas Gerais
CE	Ceará
PI	Piauí
TO	Tocantins
UV	Ultravioleta
USP	<i>United StatesPharmacopoeia</i>
UFPI	Universidade Federal do Piauí
P.A.	Princípio Ativo
Ag.	Agente
Visc.	Viscosidade
CBPOL	Carbopol[®]
CMC	Celulose Microcristalina
CMC-Na	Carboximetilcelulose sódica
FI	Fator de Impacto

LISTA DE FIGURAS

Revisão de Literatura

Figura 1	Representação histológica e esquemática das células de uma glândula salivar.....	19
Figura 2	Função típica de uma célula glandular salivar para formação e secreção de enzimas e outras substâncias.....	20
Figura 3	Secreção fluida: mecanismo de secreção e concentração eletrolítica da saliva.....	21
Figura 4	Jaborandi jovem (<i>Pilocarpusmicrophyllus</i>).....	24
Figura 5	Estrutura molecular do Cloridrato de Pilocarpina.....	25
Figura 6	Esquema da aplicação dos comprimidos bioadesivos.....	27
Figura 7	Estrutura molecular da Quitosana.....	29
Figura 8	Sistema representando uma função que liga os fatores e variáveis às respostas.....	31
Figura 9	Matriz de planejamento fatorial 2^2	32
Figura 10	Equação para o cálculo do efeito de cada fator.....	33
Figura 11	Equação para o cálculo do erro padrão.....	33

Capítulo I

Figura 1	Resultados do planejamento fatorial 2^3 para efeitos produzidos na dureza (linha tracejada define 95% de intervalo de confiança): a) gráfico de Pareto; b) gráfico de superfície.....	50
Figura 2	Resultados do planejamento fatorial 2^3 para os efeitos produzidos no tempo de desintegração (linha tracejada define 95% de intervalo de confiança): a) gráfico de Pareto, b) gráfico de superfície.....	51
Figura 3	Perfil de dissolução do Lote 5 (Celulose, via direta, 1,5% de lubrificante) e do Salagen [®]	52

Capítulo II

Figura 1	Gráfico de intumescimento para comprimidos contendo os polímeros isolados (A) e para comprimidos em diferentes proporções de CMC e Quitosana (B), e Carbopol [®] eQuitosana (C).....	65
Figura 2	Curvas de termogravimetria (TGA) e análise térmica diferencial (DTA) para carboximetilcelulose (CMC-Na), Quitosana e mistura na proporção 1:1 (CMC-Na/Quitosana).....	67
Figura 3	Curvas de termogravimetria (TGA) e análise térmica diferencial (DTA) para Carbopol [®] , Quitosana e mistura na proporção 1:1 (Carbopol [®] /Quitosana).....	68
Figura 4	Representação da mucosa após aplicação dos comprimidos de CBPOL: QUITO e CMC: QUITO.....	69
Figura 5	Varreduras de 400 a 200nm para os polímeros Carbopol [®] (preto) e carboximetilcelulose (vermelho).....	69
Figura 6	Taxa de liberação <i>in vitro</i> pra comprimidos de CMC-Na/Quitosana (1:1) e CBPOL/Quitosana (1:3).....	70

LISTA DE TABELAS**Capítulo I**

Tabela 1	Matriz de planejamento fatorial 2^3 para otimização de comprimidos de Pilocarpina 5mg.....	46
Tabela 2	Definição da composição dos diferentes lotes de comprimidos de acordo com os fatores em estudo (diluyente, via de compressão e percentagem de lubrificante).....	47
Tabela 3	Resultados das análises de controle de qualidade para os comprimidos desenvolvidos.....	49

Capítulo II

Tabela 1	Resultados de controle de qualidade dos comprimidos mucoadesivos produzidos.....	64
Tabela 2	Resultados dos testes de tempo e força de mucoadesão.....	67

Desenvolvimento tecnológico de comprimidos de Pilocarpina para tratamento da Xerostomia. LAISA LIS FONTINELE DE SÁ. Orientador: Lívio César Cunha Nunes. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Centro de Ciências da Saúde. Departamento de Bioquímica e Farmacologia, UFPI, 2013.

RESUMO

A Xerostomia, ou secura bucal, tem diversas etiologias, dentre elas destacam-se síndromes autoimunes, radioterapias, além da reação adversa ao uso de fármacos anticolinérgicos, podendo ocasionar danos severos e irreversíveis, com redução da qualidade de vida de muitos pacientes. A conhecida atividade colinérgica da Pilocarpina vem sendo explorada ao longo dos anos, resultando no desenvolvimento de diversas formulações farmacêuticas patenteadas, como chicletes, soluções para gargarejo, *sprays*, dentre outras. Entretanto, a única apresentação disponível no mercado é representada pelos comprimidos orais, marca Salagen[®], comercializada pela Eisai Inc. e aprovada pelo FDA em 1994. Esse produto, entretanto, não é comercializado no Brasil, resultando em baixa assistência a pacientes acometidos por essa sintomatologia. O desenvolvimento de produtos similares, com aplicação de excipientes regionais, 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 desenvolvimento e controle de qualidade em formulações de comprimidos orais e mucoadesivos contendo respectivamente, os excipientes regionais, mesocarpo de babaçu (*Orbigniasp.*) e quitosana. As formulações orais foram avaliadas quanto à equivalência com o medicamento Salagen[®], utilizando a ferramenta estatística de planejamento fatorial 2^3 para seleção da melhor combinação de fatores, entre diluentes (celulose e babaçu), via de compressão (direta ou indireta) e porcentagem de lubrificantes (0,5 e 1,5%). Os comprimidos de celulose, feitos por via seca, com 1,5% de lubrificante, obtiveram melhor desempenho, sendo escolhidos para o teste de dissolução, comparando-os com o Salagen[®], o que resultou em características similares de liberação, tornando a formulação viável para produção em larga escala. Quanto aos comprimidos mucoadesivos, desenvolvidos com o objetivo de redução de dosagem e efeitos colaterais e obtenção de efeito terapêutico rápido, foram produzidos com a utilização da Quitosana em proporções de 3:1, 1:1 e 1:3 com cada um dos polímeros, carboximetilcelulose e carbopol[®]. O controle de qualidade envolveu peso médio, dureza, friabilidade, pH de superfície, porcentagem de intumescimento, tempo e força de mucoadesão e taxa de liberação. Comprimidos com carboximetilcelulose apresentaram maiores variações na porcentagem de intumescimento e menor tempo de mucoadesão, resultando em liberação imediata do fármaco. Comprimidos com carbopol[®] apresentaram melhores características de mucoadesividade, entretanto, sua liberação sustentada não foi superior a 1 hora, o que pode simplesmente retardar o efeito terapêutico da formulação. Dessa forma, a formulação mais adequada foi a CMC/Quitosana (1:1), sendo viabilizada, portanto, a formulação de aplicação tópica com quitosana para tratamento da Xerostomia. O trabalho, portanto, disponibiliza duas alternativas terapêuticas promissoras para auxílio no tratamento de pacientes que sofrem com Xerostomia.

Palavras-chave: Pilocarpina, Xerostomia, Saliva, Mucoadesão, Comprimidos.

Technological development of Pilocarpine tablets for Xerostomia treatment. LAISA LIS FONTINELE DE SÁ. Advisor: Lívio César Cunha Nunes. Master's Dissertation. Post-Graduate Program in Pharmaceutical Sciences. Center for Health Sciences. Department of Biochemistry and Pharmacology, UFPI, 2013.

ABSTRACT

Xerostomia or dry mouth has several etiologies which stand autoimmune syndromes, radiotherapy and adverse reaction to anticholinergic drugs use. It can cause severe and irreversible damage in the bucal mucous reducing the quality of life of many patients. The known cholinergic activity of pilocarpine has been explored in many ways over the years resulting in development of several pharmaceutical formulations patents such as chewing gum, gargle solutions, sprays, etc. However, the only commercially available presentation is represented by the oral tablets, Salagen[®], marketed by Eisai Inc. and approved by the FDA in 1994. However, this product is not marketed in Brazil resulting in poor care for patients suffering from these symptoms. The development of similar products, utilizing regional excipient, besides the necessity of a treatment with easy adhesion, acquisition, low costs and low side effects was the aim of this project. For that were realized studies of development and quality control for oral and mucoadhesive tablets with respectively the regional excipients babassu mesocarp (*Orbignia sp.*) and quitosana. The oral formulation were evaluated concerning the similarity with the model (Salagen[®]) by statistic tool of factorial design 2³ for to select the better factors combinations between excipient (cellulose and babassu), compression way (direct or wet) and the lubricant percentage (0,5 and 1,5%). Cellulose tablets made by dry compression and with 1,5% of lubricant were better performed being chosen for dissolution test comparing them with Salagen[®] which resulted in similar release characteristics, making the formulation viable for large scale production. The mucoadhesive tablets were developed with the aim of reducing dosage and side effects and obtaining fast therapeutic effects. They were produced using chitosan in ratios of 3:1, 1:1 and 1:3 with each one of carboxymethylcellulose and carbopol[®] polymers. The quality controls were realized with average weight, hardness, friability, surface pH, swelling percentage, time and strength of adhesion, and release rate. Tablets with carboxymethylcellulose showed greater variations in swelling percentage and lower mucoadhesion time resulting in drug immediate release. Tablets with carbopol[®] showed better mucoadhesive characteristics however their sustained release were underneath to 1 hour of test which can simply delay the therapeutic effect of the formulation. Thus the most appropriate formulation was the CMC/Chitosan (1:1), being made possible the development of chitosan topical formulation for Xerostomia treatment. Therefore this work provides two promising therapies to assist in treatment of patients suffering from Xerostomia.

Keywords: Pilocarpine, Xerostomia, Saliva, Mucoadhesion, Tablets.

1. INTRODUÇÃO

A Xerostomia é a sensação subjetiva de boca seca resultante da diminuição ou interrupção da função das glândulas salivares, com alterações quer na quantidade, quer na qualidade da saliva. Trata-se de um conjunto de sinais e sintomas decorrente de certas doenças ou estímulos diversos, incluindo o efeito secundário a alguns medicamentos. As principais causas da Xerostomia são resultados da irradiação da cabeça e pescoço, ou outros tratamentos oncológicos, da síndrome de Sjögren (SS), ou ainda, resultado de efeitos colaterais a outras medicações (ZUMAËTA et al., 1999; BRAGA et al. , 2009; XAVIER, 2004).

Para o manejo dessa sintomatologia, os tratamentos hoje existentes incluem salivas artificiais, de efeito momentâneo e paliativo, levando à baixa adesão dos pacientes, além de incluírem agonistas colinérgicos, como a Pilocarpina. O cloridrato de Pilocarpina é um fármaco parassimpaticomimético, conhecidamente utilizado para a Xerostomia, que tem como formulação disponível no mercado o comprimido oral da marca Salagen[®], da empresa Eisai Inc. Além de ser a única forma acessível no mercado, sua comercialização não é realizada no Brasil, o que resulta em falta de assistência adequada a esses pacientes. Como alternativa, tais pacientes podem adquiri-los por importação, arcando com os valores desse procedimento, ou recorrer ao uso de salivas artificiais, alternativa significativamente menos eficaz.

Dessa forma, o desenvolvimento de produtos nacionais, utilizando produtos regionais promissores tanto para o desenvolvimento de formulações semelhantes à existente no mercado quanto o aprimoramento desta, é uma estratégia significativa a ser explorada, pois, provavelmente, resultará em economia e, principalmente, acesso a tratamentos de saúde que encontram-se em carência no atual arsenal terapêutico dos brasileiros.

Neste contexto, o trabalho de dissertação intitulado “**Desenvolvimento de comprimidos de Pilocarpina para tratamento da Xerostomia**” foi organizado em capítulos que deram origem a artigos científicos, que serão posteriormente submetidos a revistas internacionais com ampla divulgação na comunidade científica, além de apresentar ao mercado nacional duas formulações farmacêuticas promissoras para o tratamento da Xerostomia a partir dos excipientes regionais, mesocarpo de babaçu (Orbignyasp) e Qitosana. Os comprimidos foram desenvolvidos a partir de prévio estudo de pré-formulação e escolhidos a partir de análise estatística sobre os testes de controle de qualidade, realizados com metodologias referenciadas e previamente validadas. Assim, os melhores comprimidos

de Cloridrato de Pilocarpina em formulações orais (semelhantes ao Salagen[®]) e mucoadesivas, de aplicação tópica, foram desenvolvidos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Produzir comprimidos de cloridrato de Pilocarpina com aplicação oral e tópica, contendo os excipientes regionais, mesocarpo de babaçu (*Orbignyasp.*) e Quitosana, respectivamente.

2.2 Objetivos Específicos

- Obter comprimidos orais de cloridrato de Pilocarpina (5 mg) com o pó de mesocarpo de babaçu e com celulose microcristalina, comparando-os por meio de planejamento fatorial 2^3 ;
- Selecionar aquele com melhores características e comparar sua dissolução com o medicamento Salagen[®];
- Obter comprimidos bioadesivos de cloridrato de Pilocarpina (2,5 mg) com Quitosana, associada com cada um dos polímeros: carbopol[®] (CBPOL) ou carboximetilcelulose (CMC-Na), nas proporções de 3:1, 1:1 e 1:3;
- Avaliar aquela formulação com melhores resultados de mucoadesividade, obtendo, assim, a formulação tópica mais adequada.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Saliva

A saliva é uma secreção mucoserosa, clara, levemente ácida, produzida a partir de grandes e pequenas glândulas salivares e a partir do fluido gengival. As grandes estão em menor número constituindo-se nos pares de glândulas parótidas, submandibulares e sublinguais, nas quais, noventa por cento de toda saliva é produzida. As glândulas salivares menores são estruturas presentes por toda cavidade oral e orofaringe, podendo também ser encontradas na laringe, traqueia e nasofaringe e podem ser estimadas em cerca de 700 a 900 glândulas, porém com menor importância para a quantidade de saliva produzida (FEIO & SAPETA, 2005; GUYTON & HALL, 2006).

Como produto de glândulas exócrinas, a saliva contém uma ampla variedade de produtos imunogênicos e não imunogênicos. Os primeiros são representados por Imunoglobulinas A, G e M; o segundo por proteínas, glicoproteínas, enzimas e eletrólitos. A IgA é o principal anticorpo secretado, oferecendo proteção direta contra vírus, bactérias e fungos e, dentre as glicoproteínas, destacam-se a mucina, molécula de alto peso molecular que confere viscosidade à saliva (HUMPHREY & WILLIAMSON, 2001). Quando em altas concentrações, a mucina transforma a saliva na denominada secreção mucosa, entretanto, quando reduzida, há um aumento na concentração de proteínas, dentre elas, ptialina, que transforma a saliva na denominada secreção serosa (GUYTON & HALL, 2006).

O muco é um excelente lubrificante, além disso, tem função protetora. Possui propriedades de aderência, espalhando-se como uma película fina sobre a superfície bucal. Em pH normal da boca, pode formar uma estrutura de gel fortemente coesiva, que se liga com a superfície do epitélio como uma camada gelatinosa que funciona como uma barreira mecânica protetora. Dessa forma, permite o movimento relativo entre as células e exerce importante papel na adesão de sistemas de liberação mucoadesivos (CID, 2009). A mucina também desempenha uma função antibacteriana por modulação da adesão de microrganismos às superfícies dos tecidos orais, o que contribui para o controle da colonização bacteriana e fúngica (HUMPHREY & WILLIAMSON, 2001).

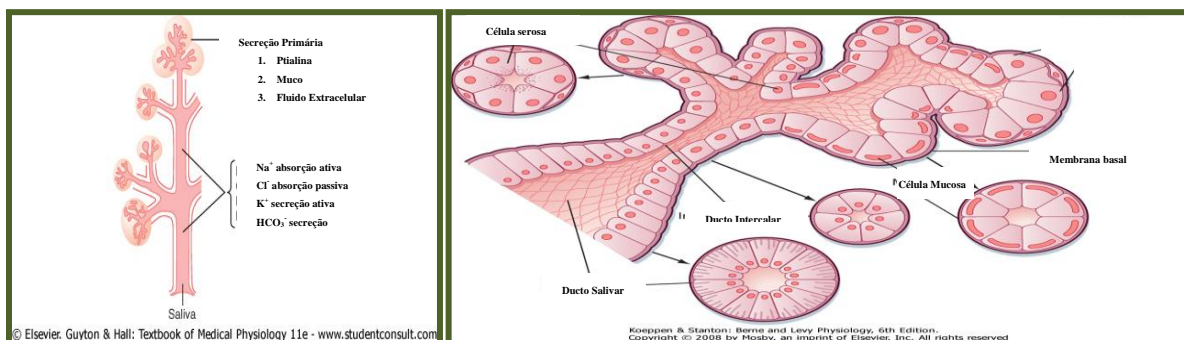
O efeito tampão e controle do pH é exercido pelos seus integrantes bicarbonato, fosfato, ureia, proteínas e enzimas. O principal é o bicarbonato que mantém o pH normal em torno de 6 a 7, variando entre 5,3 (em baixos fluxos salivares) e 7,8 (em picos de salivação) (HUMPHREY & WILLIAMSON, 2001).

Dessa forma, a saliva possui grande importância para a manutenção da saúde da boca e suas funções podem ser organizadas em cinco grandes categorias, incluindo lubrificação e proteção, solução tampão responsável pela integridade dos dentes e atividade antibacteriana, além de permitir a sensação do sabor e a digestão (HUMPHREY & WILLIAMSON, 2001).

3.2 Fisiologia da Salivação

As glândulas salivares são do tipo túbulo-acinosas sendo, portanto, formadas por ácinos e dutos, em que, no primeiro, ocorre a secreção inicial da saliva (secreção primária), que pode ser modificada no segundo, os dutos (secreção secundária). Uma unidade secretória é assim composta por uma porção secretora, formada por ácinos, e uma porção modificadora, formada por dutos intercalares, estriados e excretores, como mostra a figura 1 (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995).

Figura 1 - Representação histológica e esquemática das células de uma glândula salivar.



Fonte: Guyton e Hall: *Textbook of Medical Physiology 11ed.*

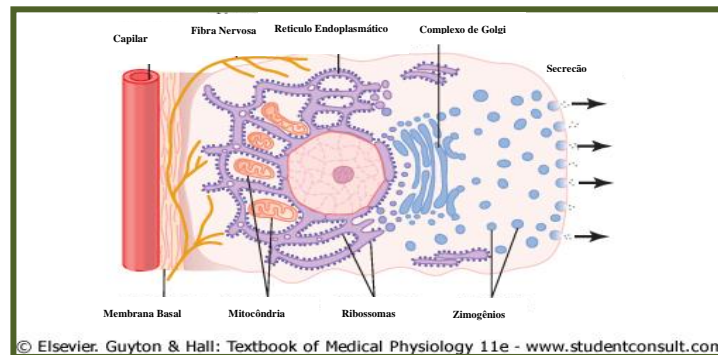
Na base das células glandulares estão presentes as células mioepiteliais, estas se localizam preferencialmente entre a membrana basal e as células acinosas, tendo propriedade contrátil realizada por um sistema de proteínas intracelulares, semelhantes à actina e miosina. Quando as células mioepiteliais se contraem, estimuladas pelo sistema simpático adrenérgico, ocorre expulsão da saliva produzida e já previamente formada (DOUGLAS, 2002; JUNQUEIRA, 1995).

Os ácinos possuem uma rica irrigação sanguínea, como também finas fibras nervosas localizadas na membrana basal (Figura 2), responsável pelo predominante controle salivar. A inervação é feita pelo sistema nervoso autônomo, simpático e parassimpático, entretanto, o

segundo é mais importante tanto na salivação como nas funções digestivas em geral (DOUGLAS, 2002).

O sistema simpático estimula a contração das células mioepiteliais, resultando na expulsão da saliva já formada. Ocorre, assim, um aumento transitório do fluxo salivar que é excretado pelos dutos, seguido imediatamente de uma redução do fluxo, resultado da constrição dos vasos sanguíneos que irrigam as glândulas salivares. É por isso que quando há uma hiperatividade simpática, por exemplo, oriunda do estresse, nervosismo ou ansiedade, a boca fica seca (Xerostomia) e, em casos extremos, pode causar dor e dificuldade de deglutição (DOUGLAS, 2002). O simpático atua também na ativação de receptores β adrenérgicos com produção de segundos mensageiros que estimulam a migração de vesículas secretórias para a extremidade da membrana celular, ocasionando a liberação proteica nos túbulos secretórios (EDGAR, DAVES & O'MULLANE, 2004).

Figura 2 - Função típica de uma célula glandular salivar pra formação e secreção de enzimas e outras substâncias.



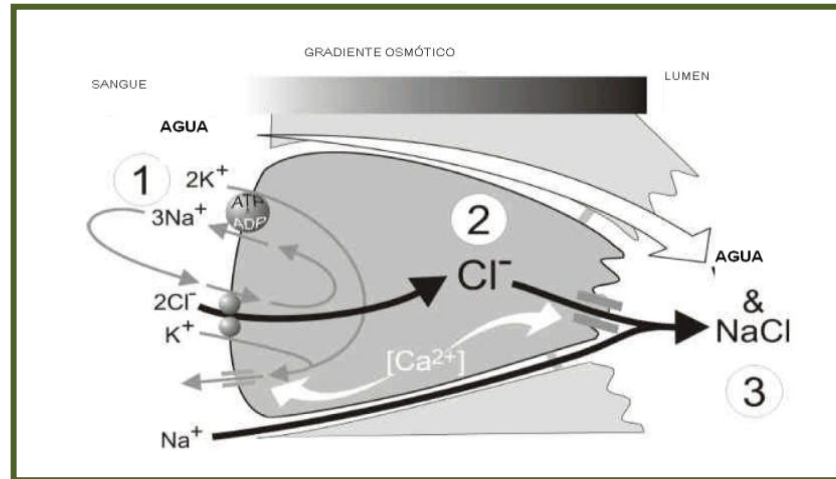
Fonte: Guyton e Hall: *Textbook of Medical Physiology 11ed.*

Já o parassimpático libera acetilcolina em receptores muscarínicos M_3 , que estimulam a produção de segundos mensageiros relacionados ao aumento intracelular de Ca^{+2} . Isso ocorre com a conversão do fosfatidilinositol - 4,5 - bifosfato (PIP_2) em trifosfato de inositol (IP_3) e diacilglicerol (DAG), no qual o IP_3 liga-se a receptores específicos localizados no retículo endoplasmático, resultando na difusão de Ca^{2+} para o citoplasma (PAPPANO, 2007).

O aumento da concentração intracelular de Ca^{+2} induz a ativação de transporte ativo das bombas de Cl^- , na tentativa de equilibrar a voltagem da célula. O aumento da concentração intracelular de Ca^{+2} irá ativar também o canal de K^+ que mantém o potencial de membrana com altos valores negativos e então preserva a força de efluxo do Cl^- para o lúmen da glândula salivar. Dessa forma, o Na^+ atravessa a célula acinar para manter

aeletroneutralidade. Esse movimento de Na^+ e Cl^- cria um gradiente osmótico através do tecido e a água é então difundida para o lúmen, resultando na produção de uma saliva fluida, como mostra a figura 3 (EDGAR, DAVES& O'MULLANE, 2004).

Figura 3 - Secreção fluida: mecanismo de secreção e concentração eletrolítica da saliva.



Fonte: Edgar, Daves, O'mullane. Saliva and Oral Health, 2004.

3.3 Xerostomia: causas e consequências

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 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; BRAGA et al., 2009; XAVIER, 2004).

A hipossalivação ou hipoptialismo, caracterizada pela redução na quantidade normal de saliva produzida no dia, afeta significativamente a qualidade individual de vida, assim como a saúde bucal. Os principais sintomas associados com a hipossalivação é a sensação de “boca seca” (Xerostomia), sede frequente, dificuldade em engolir, falar, ingerir comidas “secas”, dor e irritação da mucosa e sensação de queimação na língua. Os sinais mais frequentes são perda de brilho na mucosa oral com surgimento de rachaduras, fissuras na língua, saliva espessa, aumento na frequência de infecções bucais, especialmente *Candida spp.* (LENA-PUY, 2006). Portanto, Xerostomia é o sintoma de secura bucal, enquanto a hipossalivação é a produção diminuída de saliva devido à hipofunção das glândulas salivares (SREEBNY, 1988).

As causas dessa sintomatologia incluem, principalmente, exocrinopatias autoimunes (Síndrome de Sjögren) e tratamentos com radiações ionizantes de cânceres da cabeça e pescoço. Além desses, muitas drogas anticolinérgicas, ou de outras classes, incluindo antidepressivos tricíclicos, anti-histamínicos, anti-hipertensivos e diuréticos, ainda, doenças como HIV, hepatite C, diabetes *mellitus* e hipertensão, além do consumo de álcool e fumo, podem negativar o fluxo salivar (PONTES, et al., 2004).

A maior frequência de casos de Xerostomia são resultantes da Síndrome de Sjögren (SS), doença autoimune que afeta acima de 4 milhões de pessoas no Estados Unidos. Nesta doença, a Xerostomia é um dos sintomas marcadamente mais presentes, sendo a função salivar reduzida aproximadamente para 50% do normal (FOX, 2008). Trata-se de doença sistêmica inflamatória crônica, na qual as glândulas lacrimais e salivares são os principais órgãos afetados pela infiltração linfo-plasmocitária, decorrente da hiper-reatividade dos linfócitos B, que se convertem em plasmócitos e produzem anticorpos contra antígenos do epitélio dos ácinos e dos dutos das glândulas exócrinas. Embora avanços recentes tenham ocorrido na elucidação da fisiopatologia da SS, muitos pontos permanecem obscuros (FELBER & DANTAS, 2006).

Já a radioterapia, como tratamento do câncer de cabeça e pescoço, também é uma das principais condições relacionadas à Xerostomia por causa da quantidade de pessoas acometidas e pela severidade dos danos na mucosa oral. No estudo desenvolvido por Oneschuk e colaboradores (2000), pode-se perceber o grau de correlação entre o procedimento de radioterapia e a sintomatologia da Xerostomia, já que de uma amostra de 99 pacientes em câncer avançado, 88% reportaram sensação de boca seca, com grau de severidade predominantemente de 6.2, em uma escala analógica virtual de 0 a 10 (ONESCHUK, et al., 2000).

Nos Estados Unidos, esse tratamento é realizado em cerca de 40.000 indivíduos por ano e causa a morte de células glandulares saudáveis e consequente alteração na função das mesmas, incluindo danos genéticos que induzem a morte celular programada. Esse tratamento resulta na produção de uma saliva escassa e frequentemente viscosa além de ocasionar danos severos na mucosa oral, incluindo infecções, perda dental, osteonecrose, dentre outros, influenciando diretamente na qualidade de vida e sobrevivência dos pacientes (FOX, 1998).

O mecanismo que causa tais alterações foi extensivamente descrito, e, apesar de continuar um enigma, vários estudos histológicos mostraram uma relativa radiosensibilidade das células serosas, principal constituinte das glândulas parótidas (responsáveis pela secreção fluida), em contraste com uma relativa radiorresistência das células mucosas (responsáveis

pela secreção viscosa), presentes com maior frequência nas outras glândulas salivares. Dessa forma, é frequente a redução acima de 50% na função da parótida após poucos dias de irradiação com doses de 2,5-10 Gy na região da cabeça e pescoço, eventualmente excedendo 90%, com uma secreção residual com propriedades viscosas (NAGLER, 2002).

De acordo com a hipótese sugerida por Abok e colaboradores (1984), íons metálicos de transição, como Fe^{+2} e Cu^{+2} (radicais redox em meio fisiológico), que estão contidos nos grânulos das células serosas, podem ser os agentes indutores de danos que levam à morte celular. Esses íons aumentam o efeito letal que a irradiação tem no DNA, resultando na morte de células em reprodução (ABOK et al, 1984).

3.4 Tratamento da Xerostomia

O tratamento da Xerostomia pode ser dividido em estimulantes e substitutos salivares. Quanto aos substitutos, incluem-se salivas artificiais, que, por causa de seu efeito momentâneo, têm baixa adesão pelos pacientes. Quanto aos estimulantes, incluem-se os agonistas colinérgicos, como o cloridrato de Pilocarpina (Salagen[®]) e Cevimelina (Evovac[®]), comercialmente encontrados na forma de comprimidos (XAVIER, 2004).

Os estimulantes salivares, apesar de necessitar primariamente que exista atividade residual das glândulas, são a alternativa mais eficaz no tratamento da Xerostomia. Em pacientes irradiados para tratamento do câncer de cabeça e pescoço, o significativo dano a esses órgãos justifica o uso desses agentes, entretanto, necessita-se de uma avaliação preliminar da função secretória salivar para justificar seu uso.

Por sua ação colinérgica estimuladora das glândulas, tem-se seu efeito indutor da salivação, cujo início é dado nos primeiros sessenta minutos a partir da ingestão do medicamento, perdurando por até três horas (BAPTISTA NETO, 2003).

A administração sistêmica de cloridrato de Pilocarpina deu origem aos comprimidos, os quais têm, como referência no mercado, a marca Salagen[®] (MGI Pharma Inc., Bloomington, Minnesota, USA), aprovada pela *FoodandDrugAdministration* (FDA) para tratamento da Xerostomia em 1994 (ROCHA, 2006; BRAGA, et al. 2009). A MGI Pharma Inc., atualmente Eisai Inc., é a detentora do registro do medicamento Salagen[®] na agência norte-americana *FoodandDrugAdministration* (SANTOS, 2012).

3.5 Pilocarpina

Dentre as espécies medicinais produtoras de princípios ativos de grande interesse mundial, como matéria-prima para isolamento de farmoquímicos, destacam-se as plantas, do tipo arbusto, conhecidas pela denominação “jaborandi”, pertencentes à família Rutaceae, que inclui várias espécies nativas e cultivadas no Brasil, compreendendo a *Pilocarpus jaborandi*, *P. trachyllophus* e *P. microphyllus* (Figura 4) (MIURA, 2009).

Pilocarpus microphyllus trata-se de um arbusto com altura média de 2 m, sendo considerado o "jaborandi legítimo" (CORRÊA, 1969), ocorrendo com vasta prevalência na região Meio-Norte do Brasil (estados do Maranhão e Piauí), a partir da qual são extraídos os sais de Pilocarpina (PINHEIRO, 1997; MIURA, 2009).

Figura 4 - Jaborandi jovem (*Pilocarpus microphyllus*)



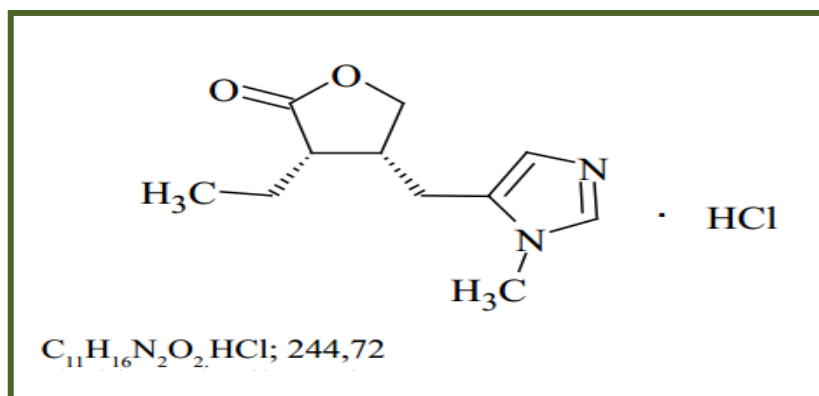
Legenda: Foto tirada por David Fernandes Lima - acervo pessoal.

A Pilocarpina (Figura 5, abaixo) é a substância mais concentrada nas folhas do jaborandi. Trata-se de um alcaloide colinérgico com estrutura de uma amina terciária, que apresenta ações nicotínicas e muscarínicas, com predominância das últimas, cujo mecanismo de ação está relacionado à ligação reversível do fármaco aos receptores muscarínicos do tipo M_3 (MIURA, 2009).

Hoje, sua principal ação, explorada comercialmente, é a atividade hipotensora ocular, que resulta num dos melhores tratamentos para o glaucoma. No Brasil, a única formulação comercializada contendo a substância, é a solução oftálmica, 1, 2 e 3%, para tratamento dessa patologia, entretanto, por ser uma substância estimuladora de receptores colinérgicos, ela apresenta ainda outras ações, como estimulação das glândulas secretoras, relaxamento de

esfíncteres, estimulação do peristaltismo, dentre outras (PAPPANO, 2007; SANTANA, 2009; MIURA, 2009).

Figura 5 - Estrutura molecular do cloridrato de Pilocarpina.



Fonte: Farmacopeia Brasileira, 5ed, 2010.

3.6 Comprimidos de Liberação Imediata

Comprimidos são formas farmacêuticas sólidas que contêm um ou mais princípios ativos acrescidos de adjuvantes farmacêuticos (excipientes). Sua administração é convencionalmente oral, sendo necessária ingestão de água para deglutição. Cerca de 80% das formas farmacêuticas produzidas atualmente são comprimidos, representando grande parte do alto faturamento da indústria farmacêutica. Trata-se de apresentação farmacêutica amplamente difundida na população, com grande aceitação, dada a facilidade de manuseio, de administração, e conservação já que podem ser administrados pelo próprio paciente e, na maioria dos casos, serem mantidos em temperatura ambiente. Apresentam vantagens por possuírem dosagem mais precisa e exata, alta estabilidade, quando comparadas às soluções, fácil administração, possibilidade de mascarar as características organolépticas, dentre outras (ANSEL, POPOVICH & ALLEN JR., 2000; TOOLER & SCHMIDT, 2005).

Existem vários tipos de comprimidos, desde os convencionais ou de liberação imediata até aqueles de liberação retardada, programada ou controlada. Assim, o comprimido é capaz de liberar o fármaco no organismo de forma reprodutível e precisa (TOOLER & SCHMIDT, 2005). Comprimidos de liberação imediata são aquelas formas farmacêuticas que não são modificadas intencionalmente por um desenho de formulação especial e/ou método de fabricação (BRASIL, 2011). Dessa forma, após deglutição, estes comprimidos chegam ao estômago para sofrerem processos de desintegração e desagregação com posterior liberação

do princípio ativo para o meio estomacal, tornando-se dissolvido e apto para absorção sistêmica em no máximo 30 minutos (SERRA & STORPIRTIS, 2007; BRASIL, 2010).

Esse processo, entretanto, possui variações quanto à velocidade e proporção em que ocorre, devido a diversos fatores, incluindo características do fármaco, escolha dos adjuvantes que farão parte da formulação e, ainda, a forma de produção destes comprimidos. De fato, medicamentos sólidos de uso oral são aqueles que apresentam maiores problemas em relação à biodisponibilidade, termo relacionado à avaliação *in vivo* do tempo que o fármaco leva para chegar à sua concentração máxima sistêmica após administração (MAHLE et al, 2007).

Para um medicamento ser intercambiável com um de referência, ele precisa comprovar as mesmas características de biodisponibilidade. Porém, antes de partir para testes com humanos, é exigida, inicialmente, a comprovação de equivalência farmacêutica, termo relacionado a um conjunto de testes físico-químicos que possuem, como ponto principal, a dissolução, visando a comparação *in vitro* das características de liberação e dissolução do fármaco num meio semelhante ao estomacal, tanto para o medicamento de referência quanto para o produto recém-criado (ARMANDO, 2008).

3.7 Comprimidos Bioadesivos

A comprovada ação dos agonistas colinérgicos para a Xerostomia encontra um impasse quanto aos efeitos colaterais ocasionados por sua administração sistêmica, dentre eles, sudorese, cefaleia, aumento de frequência urinária, calafrios e sintomas semelhantes ao resfriado, corrimento nasal, lacrimejamento, rinite e palpitações (FÁVARO, FERREIRA & MARTINS, 2006). A observação de que o uso sistêmico do medicamento tende a promover reações adversas com maior intensidade e frequência que o uso tópico, além da baixa adesão ao uso de comprimidos, leva à necessidade da criação de formulações a serem aplicadas diretamente na mucosa bucal (HAMLAR et al., 1996).

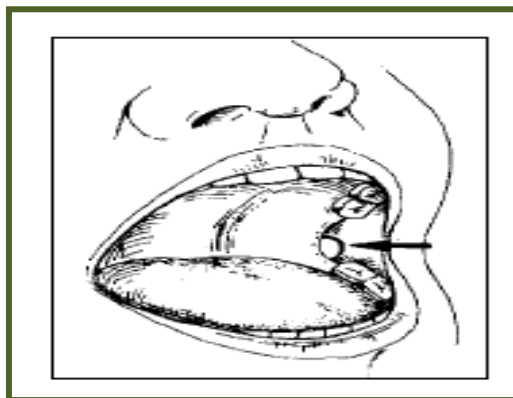
Uma alternativa para aumentar a eficácia biológica e reduzir a absorção sistêmica, com redução dos efeitos colaterais, é o desenvolvimento de formulações bioadesivas, dentre estas, os comprimidos, apresentação de fácil aplicação que contribui para aumento da adesão em pacientes com dificuldade na deglutição, resultado das feridas e desconfortos da própria Xerostomia, ou mesmo, naqueles que não conseguem ter uma noite contínua de sono, pela necessidade de beber água no meio da noite (SILVESTRE, et al., 2009).

Os comprimidos bioadesivos são formulações que ficam retidas na boca, destinados a dissolver-se lentamente na cavidade oral, onde liberam o fármaco. Este pode apresentar efeito

farmacológico no local da administração (uso tópico) ou ser absorvido através da mucosa, causando efeito sistêmico (AGUIAR, 2007). Embora essa via também possa ser utilizada para a liberação sistêmica, a absorção percutânea é com frequência escassa. A mucosa bucal é formada por uma extensa área de tecido epitelial, revestido por muco, e numa camada mais interna, formada pelo tecido conjuntivo, de vascularização intensa, tornando a mucosa bucal de 4 a 4000 vezes mais permeável que a pele, porém, ainda menos intensa que a mucosa sublingual, o que controla a absorção sistêmica. Trata-se, portanto, de excelente área para aplicação de sistemas de liberação controlada e cuja ação terapêutica é primordialmente local (PEDRAZZI, 1999; CID, 2009).

Os comprimidos são normalmente pequenos e planos, porque devem ficar alojados entre a bochecha e os dentes, como ilustrado na figura 6 (ANSEL, POPOVICH & ALLEN JR., 2000). Além disso, não devem conter desintegrantes (empregados para promover desintegração rápida em partículas menores), já que seu objetivo é a dissolução lenta na boca, que pode levar de 15 a 30 minutos. E, por fim, sua principal característica é a presença de mucoadesivos e matrizes poliméricas retardantes, que modificam e prolongam a liberação do fármaco (AGUIAR, 2007).

Figura 6 - Esquema da aplicação dos comprimidos bioadesivos.



Fonte: Adaptado de AGUIAR, 2007.

A 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).

Os mucoadesivos empregados na mucosa bucal são polímeros hidrofílicos (macromoléculas com inúmeras subunidades estruturais repetidas), que formam líquidos viscosos quando hidratados com água, resultando em interações adesivas. Dentre os inúmeros polímeros mucoadesivos disponíveis, aqueles frequentemente utilizados são derivados celulósicos (metilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose, carboximetilcelulose sódica), e polissacarídeos como gomas, ágar, alginato de sódio, quitosana etc. (AGUIAR, 2007; LYRA, et al., 2007).

3.8 Mesocarpo de Babaçu (*Orbignyasp*)

Os babaçuais ou cocais de *Orbignyasp*, palmeira nativamente brasileira, oriunda da floresta de mata seca da Amazônia oriental, também presentes em regiões do Maranhão (MA), Piauí (PI), Ceará (CE), Tocantins (TO) e Mato Grosso (MG), com predominância no Maranhão, destacam-se como grande potencial econômico para essas regiões, devido às funcionalidades de seus constituintes (NASCIMENTO, 2004).

A composição física do fruto do babaçu indica quatro partes aproveitáveis: epicarpo (11%), mesocarpo (23%), endocarpo (59%) e amêndoa (7%) (SOLER et al., 2007). Hoje, a amêndoa é a porção mais aproveitada, pois se encontra pronta para o consumo, entretanto, os outros constituintes tornam-se potencialidades quando nos referimos às tecnologias de manufatura para beneficiamento da indústria farmacêutica, alimentícia ou cosmética. Estes constituintes, quando industrializados, representam um considerável potencial para a produção de carvão, alcatrão, gás combustível, amido e álcool (NASCIMENTO, 2004).

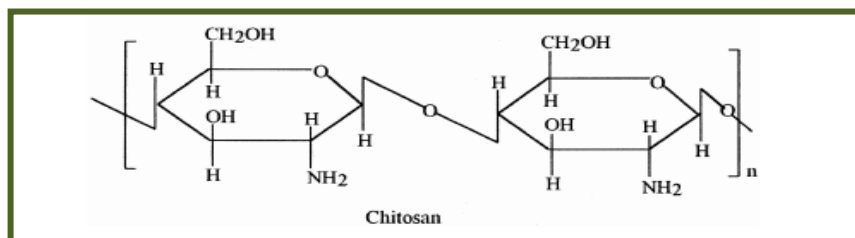
O mesocarpo de babaçu, por exemplo, tem potencialidade para a indústria farmacêutica devido a seu alto teor de amido, em torno de 68,3%, biopolímero natural não tóxico e amplamente utilizado como aglutinante e desintegrante nos comprimidos e cápsulas farmacêuticas (NASCIMENTO, 2004; DEMIRGOZ et al, 2000). Além do potencial para a indústria farmacêutica, possui propriedades nutricionais que permitem seu uso na indústria alimentícia, como importante complemento alimentar na dieta humana ou animal (MACIEL, 2003). No Brasil, o mesocarpo do babaçu é extraído e suspenso em água como complemento alimentar, pois o procedimento ajuda a obter os constituintes sais minerais e carboidratos presentes nesse alimento (AZEVEDO et al, 2007).

3.9 Quitosana

A Quitosana é um biopolímero polissacarídeo muito abundante, obtido a partir da quitina (constituente prioritário em exoesqueletos de insetos, crustáceos e parede celular de fungos), por desacetilação alcalina. Depois da celulose, é o composto orgânico mais importante da natureza. É um produto natural, de baixo custo, renovável e biodegradável, de grande importância econômica e ambiental. Por se tratar de um polímero natural biodegradável, extremamente abundante e atóxico, a Quitosana tem sido proposta como um material potencialmente atraente para diversos usos, inclusive farmacêutico (AZEVEDO et al., 2007).

A Quitosana é carregada positivamente e contém unidades de glicosamina e acetilglicosamina, que apresentam grupos amina (NH_2) que conferem suas características de comportamento catiônico em solução ácida e afinidade a íons metálicos. Além disso, apresenta caráter hidrofílico devido à presença de inúmeros grupos hidroxilas (OH), logo, a mucoadesão desse polímero pode ocorrer através da interação de ligações de hidrogênio e interações iônicas com ácido siálico presente na mucosa (AGUIAR, 2007).

Figura 7 - Estrutura molecular da quitosana.



Fonte: Adaptado de MAJETI, 2000.

Além disso, a Quitosana vem sendo reportada como antibacteriano e ainda como promotor de permeabilidade cutânea por aumentar o transporte de fármacos hidrofílicos através da camada mucosa estratificada (SANDRI et al., 2005). Por isso, é amplamente utilizada como excipiente em preparações para mucosas, bucal e vaginal.

Na tecnologia de produção de comprimidos, entretanto, possui baixa capacidade de compactação e compressibilidade, dificultando, assim, a formação de comprimidos quando utilizado como único excipiente na formulação. Dessa forma, os comprimidos mucoadesivos contendo Quitosana devem possuir ainda um conjunto de outros excipientes para conferir maior resistência e permitir a formação dos comprimidos (REGE, SHUKLA & BLOCK,

1999). Dentre estes, edulcorantes (que conferem sabor adocicado), lubrificantes (que permitem fluidez do pó na máquina de compressão), agregantes (que diminuem a tensão superficial do pó com o ar, permitindo maior agregação e facilidade na compressão) (AGUIAR, 2007; PERIOLI, 2009).

3.10 Planejamento de Experimentos

O interesse e a necessidade das indústrias em desenvolver e melhorar processos de fabricação – tendo como um dos objetivos a melhoria da qualidade de seus produtos – têm suscitado a utilização de técnicas estatísticas, em especial o planejamento e análise de experimento (BORTOLINI, 2012).

O Planejamento de Experimentos (em inglês *Design of Experiments*, DOE) é uma técnica utilizada para definir quais dados, em que quantidade e em que condições, devem ser utilizados durante um determinado experimento, buscando, basicamente, a maior precisão estatística na resposta e o menor custo aplicado (WERKEMA & AGUIAR, 1996). Usando planejamentos experimentais baseados em princípios estatísticos, os pesquisadores podem extrair do sistema em estudo o máximo de informações útil, fazendo um número mínimo de experimentos, ou seja, seu emprego permite resultados mais confiáveis com economia de dinheiro e tempo (BARROS NETO et al., 2003).

Dessa forma, sua aplicação no desenvolvimento de novos produtos é muito importante, pois além da economia de tempo e dinheiro, leva a um grande conhecimento sobre o processo e variáveis que o influenciam, resultando em um projeto com desempenho superior, seja em termos de suas características funcionais como também de sua robustez (WERKEMA & AGUIAR, 1996).

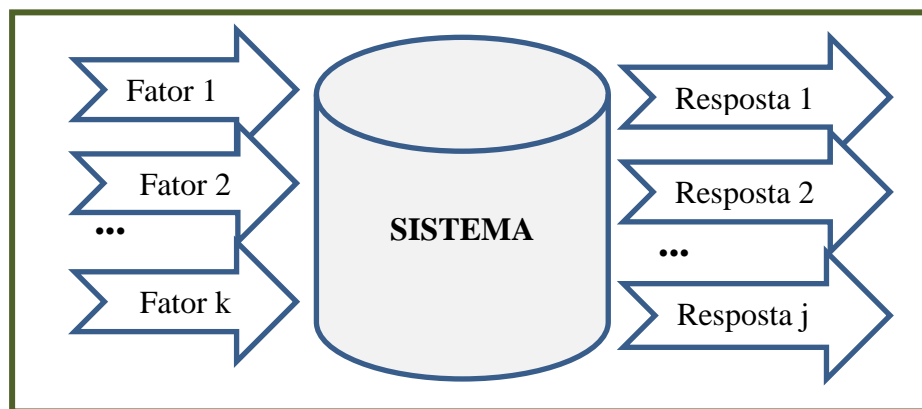
Para realizá-lo, é importante saber que a essência de um bom planejamento consiste em projetar um experimento de forma que ele seja capaz de fornecer exatamente o tipo de informação que se procura. Dependendo dessa informação, algumas técnicas estatísticas serão mais vantajosas, enquanto outras serão simplesmente inócuas. Assim, na situação em que nenhuma informação é conhecida sobre o processo, é necessário fazer uma triagem de variáveis, descartando aquelas não significativas, para isso, poderá ser utilizada a ferramenta estatística conhecida como planejamento fatorial fracionado. Para os casos em que o processo já é bem estabelecido, possuindo poucas variáveis que realmente influenciem em suas respostas, a triagem para a escolha das variáveis envolverá apenas o conhecimento teórico sobre o processo (BARROS NETO et al., 2003).

Independentemente da forma, tendo enfim sido selecionados os fatores importantes, o próximo passo será avaliar quantitativamente sua influência sobre a resposta de interesse, bem como as possíveis interações de uns fatores com os outros. Para fazer isso com o mínimo de experimentos, pode-se empregar planejamentos fatoriais completos (BARROS NETO et al., 2003).

3.11 Planejamentos Fatoriais Completos

A aplicação do planejamento fatorial é possível porque existe uma relação direta entre cada um dos fatores (k) e as combinações entre eles, atuando sobre o sistema em estudo, produzindo as respostas R_1, R_2, \dots, R_j . O sistema atua como uma função desconhecida que opera sobre as variáveis de entrada, os fatores (k), e produz, como saída, as respostas observadas, como mostra a figura 8. O objetivo do planejamento fatorial é descobrir essa função, e assim permitir a escolha das melhores condições de operação do sistema (SILVA, 2008).

Figura 8 – Sistema representando uma função que liga os fatores e variáveis às respostas.



Fonte: Adaptado de BARROS NETO et al., 2003.

O planejamento fatorial tem sido muito aplicado em pesquisas básicas e tecnológicas e é classificado como um método do tipo simultâneo, no qual as variáveis de interesse que realmente apresentam influências significativas na resposta são avaliadas ao mesmo tempo. Para isso, escolhem-se as variáveis a serem estudadas e efetuam-se experimentos em diferentes níveis, obtendo-se, assim, diferentes respostas para cada ensaio. Por fim, com aplicação de cálculos estatísticos, o planejamento será capaz de demonstrar a influência de cada um dos fatores em incrementar ou diminuir a intensidade daquela resposta.

Para realizar um estudo por planejamento fatorial com o objetivo de determinar a influência de diversas variáveis (k), ou fatores, nos resultados de um dado processo, é preciso fazê-lo variar em níveis (n) e observar o resultado dessa variação. Isso implica na realização de todos os ensaios possíveis, resultantes da combinação entre todos os fatores e níveis. Assim, havendo k fatores, o planejamento de dois níveis irá requerer a realização de $2 \times 2 \times \dots \times 2 = 2^k$ ensaios diferentes, sendo chamado por isso de planejamento fatorial 2^k (NORIEGA et al., 2005; BUTON, 2012).

Os níveis de um fator são os valores ou designações arbitrárias deste (máximo e mínimo; +1 e -1), ou seja, os valores em que esses fatores poderão assumir em posições ou condições extremas. Nos planejamentos experimentais nos quais as variáveis são exploradas em 2 níveis, é comum codificá-los com o uso dos sinais (+) e (-). A atribuição desses sinais aos níveis superiores ou inferiores é feita de forma arbitrária e não interfere na realização dos experimentos ou interpretação dos resultados, e ainda, é necessária para auxílio nos cálculos determinantes da influência das variáveis estudadas e das suas interações no sistema em estudo (SILVA, 2008).

Uma forma de se representar o planejamento fatorial é através de tabelas, assim, tomando como exemplo um planejamento com 2 fatores e 2 níveis, ou seja, planejamento do tipo 2^2 , serão permitidas 4 combinações possíveis como mostra a matriz de planejamento da figura 9.

Figura 9 – Matriz de planejamento fatorial 2^2 .

Ensaio	Fator 1	Fator 2	Interação entre Fatores 1 e 2
1	-	-	+
2	-	+	-
3	+	+	+
4	+	-	-

Fonte: Adaptado de BARROS NETO et al., 2003.

Com os sinais definidos, parte-se para produção dos ensaios e posterior avaliação tecnológica dos respectivos produtos. Para produtos farmacêuticos essa avaliação é inserida nos testes de controle de qualidade, incluindo dureza, friabilidade, teste de dissolução, etc. A partir de um teste escolhido, diferentes respostas vão ser obtidas para cada ensaio, o que pode

ser resultante da presença do fator 1, ou do fator 2, ou ainda, ser possível apenas por causa da associação entre os dois. Para saber de fato qual a participação desses fatores e de suas interações é necessário fazer o cálculo dos efeitos.

O efeito é definido como a mudança ocorrida na resposta quando se muda do nível baixo (-) para o nível alto (+), sendo representados por \bar{R}_+ (média dos valores de resposta obtidos com valores altos (+) do fator) e \bar{R}_- (média dos valores de resposta obtidos com valores baixos (-) do fator), cuja fórmula é representada na figura 10 (CUNICO et al., 2008).

Figura 10 – Equação para o cálculo do efeito de cada fator.

$$\text{Efeito do Fator} = \bar{R}_+ - \bar{R}_-$$

Fonte: Adaptado de BARROS NETO et al., 2003.

Para o cálculo dos efeitos, além da codificação das variáveis que utilizam os sinais (+) e (-) para cada fator, nota-se a inclusão de mais coluna na matriz de planejamento da figura 9. O conteúdo dessa coluna representa o efeito da interação entre as variáveis, sendo obtidas da mesma forma que o “Efeito do Fator”, mostrado na figura 10 (SILVA, 2008).

Calculados os efeitos, é importante saber a significância estatística desses valores. Para isso, calcula-se o erro padrão envolvido na análise, cujo valor é o mesmo tanto para os efeitos principais quanto para os de interação, e pode ser calculado por meio da equação representada na figura 11.

Figura 11 – Equação para o cálculo do erro padrão.

$$\text{Erro Padrão do Efeito (s)} = \sqrt{\frac{g_1 s_1^2 + g_2 s_2^2 + \dots + g_m s_m^2}{g_1 + g_2 + \dots + g_m}}$$

Sendo:

s = erro na medida;

s_1^2 = desvio padrão no ensaio 1;

g_1 = graus de liberdade do ensaio 1;

s_m^2 = desvio padrão no último ensaio;

g_m = graus de liberdade do último ensaio;

Fonte: Adaptado de BARROS NETO et al., 2003.

Com o erro padrão obtido, pode-se finalmente construir intervalos de confiança para os valores dos efeitos com o uso da distribuição de Student. Na prática, implica dizer que só se deve considerar estatisticamente significativos os efeitos cujas estimativas (obtidas no experimento) forem superiores em valor absoluto ao produto do erro padrão pelo ponto da distribuição de Student, porque, só assim, o intervalo de confiança não incluirá o valor zero (BARROS NETO et al., 2003).

Referencias

ABOK, K., BRUNK, U., et al. Morphologic and histochemical studies on the differing radiosensitivity of ductular and acinar cells of the rat submandibular gland. **VirchowsArchives B CellPathologyZell-pathologie**. v.45, n. 1, 1984;

AGUIAR, M. M. G. B. **Desenvolvimento de novos comprimidos bucais de nistatina para o tratamento da candidíase oral**.2007. Trabalho de conclusão de curso (Mestrado) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007;

ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN JUNIOR, L. V. **Farmacotécnica: formas farmacêuticas & sistemas de liberação de fármacos**. 6.ed. São Paulo: Premier, 2000;

ARMANDO, Y. P., **Avaliação da bioequivalência entre comprimido convencional e comprimido de desintegração oral contendo 8mg de ondansetrona**. Trabalho de conclusão de curso (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008;

AZEVEDO, V. V. C.; CHAVES, S. A.; BEZERRA, D. C.; LIA-FOOK, M. V.; COSTA, A. C. F. M. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**. v. 2, n. 3, p. 27-34, 2007;

AZEVEDO, A.P., FARIAS J.C., COSTA G.C.; FERREIRA, S.C.,et al. Anti-thrombotic effect of chronic oral treatment with *Orbignyaphalerata* Mart. **JournalofEthnopharmacology**, v. 111, p. 155-159, 2007;

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas, SP: Editora UNICAMP, 2003;

BORTOLINI, J. **Estudo de experimentos fatoriais 2k aplicados em um processo industrial**. Trabalho de conclusão de curso (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Estatística e Experimentação Agropecuária, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2012;

BRASIL, **Vocabulário Controlado de Formas Farmacêuticas, Vias de Administração e Embalagens de Medicamentos**. 1ª Ed. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2011;

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopéia brasileira**, 2010. Brasília, 2010. 5ª ed. v. 1;

BUTTON, S. T. **Metodologia para planejamento fatorial e análise de resultados**. Apostila: Programa de Pós-graduação em engenharia mecânica. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2012;

BAPTISTA NETO, C. **Avaliação do uso da Pilocarpina em pacientes submetidos à radioterapia na região de cabeça e pescoço para controle da xerostomia**. 2003. Trabalho de conclusão de curso (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003;

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. **Internacional Journal of Dent Hygiene**, v. 7, p. 126–130, 2009;

CID, Y.P. **Desenvolvimento de sistemas de liberação mucoadesivos para o celecoxibe na quimioprevenção do câncer oral: influência da azona como promotor de penetração**. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2009;

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro, v. 4, p. 360-369, 1969;

CUNICO, M.W.M.; CUNICO, M. M.; MIGUEL, O. G.; ZAWADZKI, S. F.; PERALTA-ZAMORA, P.; VOLPATO, N. Planejamento fatorial: uma ferramenta estatística valiosa para a definição de parâmetros experimentais empregados na pesquisa científica. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.9, n.1, Jan. – Jun, 2008;

DEMIRGOZ, D.; ELVIRA, C.; MANO, J. Chemical modification of starch based biodegradable polymeric blends: effects on water uptake, degradation behaviour. **Polym. Degrad. Stab**, v. 70, n. 2, p. 161-170, 2000;

DOUGLAS, C. R. **Fisiología de la Secreción Salivar**. In: Tratado de fisiología aplicada a fonaudiología. Brasil, Ed. Robe, Cap. 22, p. 324-336, 2002;

EDGAR, M.; DAWES, C.; O'MULLANE, D. **Saliva and Oral Health**. 3. Ed. London: British Dental Journal, 2004;

FÁVARO, R. A. A.; FERREIRA, T. N. R.; MARTINS, W. D. Xerostomia: etiologia, diagnóstico e tratamento. Revisão. **Archives of Oral Research**, 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;

FELBER, S.; DANTAS, P. E. C. Diagnóstico e tratamento da Síndrome de Sjögren. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**. v. 69, n. 6, p. 959-63, 2006;

FOX, P. C. Acquired Salivary Dysfunction: Drugs and Radiation. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 842, 1998;

FOX, P. C. Xerostomia: recognition and management. **American dental hygienists association**. Access magazine, 2008;

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

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 postradiation xerostomia in patients with head and neck carcinoma. **Laryngoscope**. v. 106, n. 8, p. 972-976, 1996;

HUMPHREY, S.P & WILLIAMSON, R.T. A review of saliva: Normal composition, flow, and function. **The journal of prosthetic dentistry**. n 2, vol 85, 2001;

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 8ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995;

LENA-PUY, C. The rôle of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. **Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal**. v. 11, p. 449-55, 2006;

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 Pharmacy**. v.5, n.26, p. 784-93, 2007;

MACIEL, A.M.T. **Caracterização nutricional do mesocarpo de babaçu (Orbignyaphaleratamart.) nos municípios de Arari, Esperantinópolis e Pinheiro**. Dissertação de Mestrado em Agroecologia – Departamento de Agroecologia, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís- MA, 2003;

MAHLE, F.; GOELZER, F.; ADRIANO, J.; FELIPPE, M.; VIER, N.; CARLI, R.B.G.; ROSA, T.; COUTO, A.G.; LUCINDA-SILVA, R.M. Avaliação do perfil de dissolução de comprimidos de hidroclorotiazida comercializados no Brasil. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**., v. 28, n.3, p. 265 - 271, 2007;

MAJETI, N. V, KUMAR, R. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive & Functional Polymers**, v. 46, 2000;

MIURA, L. M. C. V. **Isolamento do alcalóide piisopiloturina a partir da biomassa do jaborandi (Pilocarpus microphyllus) e a avaliação de suas atividades antibacteriana, antileishmania, antiviral, antiesquistossoma e sialagoga**. Trabalho de conclusão de curso (Mestrado) – Faculdade de Biologia, Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, 2009;

NAGLER, R. M. The enigmatic mechanism of irradiation-induced damage to the major salivary glands. **Oral diseases**, 8(3): 141-146;

NASCIMENTO, U. S., **Carvão de Babaçu como Fonte Térmica para Sistema de Refrigeração por absorção no Estado do Maranhão**. Dissertação de mestrado profissional. Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, 2004;

ONESCHUK, D.; HANSON, J.; BRUERA, E. A survey of mouth pain and dryness in patients with advanced cancer. **SupportCareCancer**. v. 8, p. 372–376, 2000;

NORIEGA, P., RÖPKE, C. D., CAMILO, C. M., DEODATO DE FREITAS, P. C., BARROS, S. B. M. Avaliação por análise fatorial das condições da extração do 4-nerolidilcatecol de *Pothomorpheumbellata* (L). *Miq. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. vol. 41, n. 2, 2005;

PAPPANO, A. J. **Drogas ativadores dos receptores colinérgicos e inibidores da colinesterase**. In: KATZUNG, B. G. *Farmacologia básica e clínica*. 10^a Ed. São Paulo: McGRAW-HILL, 2007;

PEDRAZZI, V. **Sistemas bioadesivosintrabucais para a liberação programada de fármacos: avaliação da resistência à remoção de um dispositivo acrílico e outro polimérico**, Tese de doutorado. RiberãoPreto-USP 1999;

PERIOLI, V. AMBROGI, L. VENEZIA, C. PAGANO, M. RICCI, ROSSI, C. Chitosan and modified chitosan as agents to improve performances of mucoadhesive vaginal gels. **Colloids and Surface B: Biointerfaces**, v. 66, p. 141–145, 2008;

PINHEIRO, C. U. B. Jaborandi (*Pilocarpus* sp., Rutaceae): A wild species and its rapid transformation into a crop. **Economic Botany**. v. 51, n. 1, p. 49-58, 1997;

PONTES, C. B.; POLIZELLO, A. C. M.; SPADARO, A. C. C. Clinical and biochemical evaluation of the saliva of patients with xerostomia induced by radiotherapy. **Brazilian Oral Research**. v. 18, n. 1, p. 69-74, 2004;

REGE, P. R., SHUKLA, D. J., BLOCK, L. H. Chitinosan as tableting excipients for modified release delivery systems. **InternationalJournalofPharmacy**. v. 181, p 49–60, 1999;

ROCHA, G. M.; ROCHA, M. E. N. Uso popular de plantas medicinais. **Saúde&AmbienteemRevista**. v. 1, n. 2, p. 76-85, 2006;

SANDRI, G., ROSSI, G., BONFERONI, M. C., FERRARI, F., ZAMBIO, Y., DI COLO, G., CAMELLA, C. Buccal penetration enhancement properties of N-trimethyl chitosan: influence of quaternarization degree on absorption of a high molecular weight molecule. **Internacional JournalofPharmacy**. v. 297, p. 146–155, 2005;

SANTANA, H. A. L. **Efeito de duas formulações de pilocarpina, solução para bochecho e sublingual, no tratamento da xerostomia induzida por radiação**. Trabalho de conclusão de curso (Mestrado) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009;

SANTOS, G.A.S. **Desenvolvimento de formulação líquida do tipo spray a base de pilocarpina e avaliação da atividade sialogoga**. Trabalho de conclusão de curso (Mestrado) –Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2012;

SERRA, C. H. R.; STORPIRTIS, S. Comparação de perfis de dissolução da cefalexina através de estudos de cinética e eficiência de dissolução (ED%). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v.43, n.1, 2007;

SILVA, A. S. **Avaliação da secagem do bagaço de cajá usando planejamento fatorial composto central**. Trabalho de conclusão de curso (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2008;

SILVESTRE, F. J.; MINGUEZ, M. P.; SUÑE-NEGRE, J. M. Clinical evaluation of a new artificial saliva in spray form for patients with dry mouth. **Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal**.v. 14, n. 1, p. 8-11, 2009;

SOLER, M.P.; Vitali, A.A.; Muto, E.F. Tecnologia de quebra do coco babaçu (*Orbignyaspeciosa*). **Ciênc.Tecnol.Aliment.**, v.27, n.4, p.717-722, 2007;

SREEBNY, L. M. Dry mouth and salivary gland hypofunction. Part I: diagnosis. **Compendium of Continuing Education in Dentistry**, Jamesburg, v. 9, n. 7, p. 569-570,573-574,576, Jul. 1988;

TOLLER, A.B., SCHMIDT, C.A. Excipientes à base de celulose e lactose para compressão direta. **DisciplinarumScientia**. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v. 6 , n. 1, 2005;

UNITED STATES PHARMACOPEIA, 32nd.ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention; 2009;

XAVIER, M. Traitementactuel de laxérostomieaucoursdusyndrome de Sjögren. **La Revue de Médecine Interne**. v. 25, p. 287–293, 2004;

WERKEMA, M. C. C.; AGUIAR, S. **Planejamento e análise de experimentos: como identificar as principais variáveis influentes em um processo**. Belo Horizonte: UFMG, 1996;

ZUMAÊTA, G. M. O.; MARTINS, G. B.; CAMPOS, E. J.; SOUZA, M. M. Avaliação da velocidade do fluxo salivar e da capacidade tampão em crianças submetidas à quimioterapia para tratamento de câncer. **Revista da Faculdade de Odontologia da UFBA**. v. 18, p. 6-10, 1999.

4. CAPÍTULO I

DESENVOLVIMENTO DE COMPRIMIDOS ORAIS DE PILOCAPRINA COM MESOCARPO DE BABAÇU (*Orbignyasp*) E CELULOSE MICROCRISTALINA, ATRAVÉS DE PLANEJAMENTO FATORIAL 2³.

(Artigo submetido à revista: Carbohydrat Polymer, FI 3,628).

DESENVOLVIMENTO DE COMPRIMIDOS ORAIS DE PILOCARPINA COM MESOCARPO DE BABAÇU (*Orbignyasp*) E CELULOSE MICROCRISTALINA, ATRAVÉS DE PLANEJAMENTO FATORIAL 2³.

SÁ, L.L.F.^{1,3}, LIMA, H. R. S.¹, SOBRINHO, J.L.S.², NUNES, L.C.C.^{1,3}

¹Curso de Farmácia, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brasil.

²Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil;

³Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brasil.

Resumo

Xerostomia é uma sensação subjetiva de secura bucal resultante da redução ou interrupção na função das glândulas salivares, levando a desconfortos e danos severos na estrutura da mucosa. A atividade colinérgica do cloridrato de Pilocarpina tem sido investigada ao longo dos anos para essa patologia, resultando no desenvolvimento do comprimido oral Salagen[®], aprovado pela FDA em 1994 para tratamento da Xerostomia. Entretanto, este ainda não é comercializado no Brasil, o que está associado a altos custos para aquisição a partir da importação. Dessa forma, o desenvolvimento de produtos nacionais contendo esse princípio ativo poderá proporcionar baixos custos para aquisição, promovendo adesão e melhora na qualidade de vida de pacientes que sofrem com esse sintoma. Este estudo teve, como objetivo, desenvolver comprimidos e otimizá-los por meio de planejamento fatorial. Oito lotes foram produzidos e avaliados quanto à influência dos diluentes (celulose e mesocarpo de babaçu - *Orbignyasp*), da via de compressão (direta ou úmida) e da porcentagem de lubrificante (0,5 e 1,5%) nas suas características organolépticas, peso médio, friabilidade, dureza e tempo de desintegração. Os lotes de comprimidos de babaçu produzidos por compressão direta foram rejeitados na maioria dos ensaios, com baixa dureza, elevada friabilidade e menor tempo de desintegração. Por outro lado, os lotes de celulose exibiram as melhores características em todos os ensaios. Dessa forma, partindo-se para dissolução comparativa da formulação escolhida com o medicamento de referência, Salagen[®], foi mostrada a viabilidade da formulação desenvolvida como promissor tratamento para a Xerostomia.

Palavras-chave: Pilocarpina, Mesocarpo de Babaçu, Planejamento Fatorial, Xerostomia.

Development of oral pilocarpine tablets with babassu mesocarp (*Orbignyasp*) and cellulose microcrystalline by means of 2^3 factorial design.

Abstract

Xerostomia is a subjective sensation of dry mouth resulting from a decrease or disruption in salivary glands function leading to severe discomfort and damage to the normal physiology of mouth. The cholinergic activity of pilocarpine hydrochloride has been investigated over the years to this pathology resulting in development of Salagen[®] tablet which was approved for Xerostomia treatment in 1994, by FDA. However it is not yet available in Brazil and has high costs of acquisition through importations. Thus, the development of national products based on this active ingredient would lower costs hence improving compliance and quality of life for patients suffering from such symptoms. This study aimed to develop tablets and optimize them by means of factorial design. Eight batches of tablets were produced and studied about diluents influence (cellulose and babassu mesocarp - *Orbignyasp*), type of compression (direct or wet granulation) and lubricant percentage (0.5 and 1.5%) in their organoleptic characteristics, average mass, friability, assay, hardness and disintegration time. The batches of babassu tablets produced by direct compression were rejected in the majority of the quality control assays, with low hardness, high friability and low disintegration time. On the other hand, the batches of cellulose tablets exhibited the best characteristics in all assays. Therefore the chosen tablets and the Salagen[®] were evaluated about dissolution test showing similar behavior and a promising treatment for Xerostomia.

Keyword: Pilocarpine, Babassu mesocarp, Cellulose, Factorial Design, Xerostomia.

Introdução

Pilocarpina é um alcaloide colinérgico que pode ser encontrado em altas concentrações nas folhas do jaborandi, planta do tipo arbusto, da família das Rutáceas, que inclui diversas espécies nativas e cultivadas no Brasil, como *Pilocarpus jaborandi*, *P. trachyllophus* e *P. microphyllus* (CORRÊA, 1969; PINHEIRO, 1997; MIURA, 2009). Esse agente colinérgico possui diversos efeitos nicotínicos e muscarínicos, o principal é sua ação como hipotensor ocular, a qual é explorada comercialmente como a melhor alternativa terapêutica existente para o glaucoma. Outros efeitos incluem estimulação de glândulas secretórias, relaxamento de esfíncteres e estímulo ao peristaltismo, dentre outros (PAPPANO, 2006; SANTANA, 2009; MIURA, 2009).

O efeito estimulante sobre as glândulas salivares justifica o uso do Cloridrato de Pilocarpina para Xerostomia, termo frequentemente utilizado para se referir a variações qualitativas ou quantitativas no fluxo salivar, o que pode afetar negativamente não só a saúde oral, com atrofia, ulcerações da mucosa, cáries e outras infecções, mas também a qualidade de vida dos pacientes (ZUMAETA et al., 1999; BRAGA et al., 2009; XAVIER, 2004).

A administração sistêmica de Pilocarpina originou o comprimido oral, cuja referência no mercado é a marca Salagen[®] (MGI Pharma Inc., Bloomington, Minnesota, EUA), aprovado em 1994 pela *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento da Xerostomia (ROCK, 2006; BRAGA, et al. 2009). Entretanto, este não é comercializado no Brasil e sua aquisição no mercado internacional implica altos custos. Uma caixa com 84 comprimidos (suficiente para um mês de tratamento, considerando a dose usual de quatro comprimidos por dia) custa em torno de \$ 154,79 dólares, valor que não inclui os impostos. Dessa forma, o desenvolvimento de comprimidos nacionais pode ser de grande utilidade para os brasileiros que sofrem com esta doença (VIVINO, 1999).

O mesocarpo de babaçu (*Orbygniasp.*), um dos principais produtos extrativos no Brasil, que contribui significativamente para a economia de alguns Estados, surgiu como uma matéria-prima de grande potencial para o desenvolvimento de produtos farmacêuticos. A sua composição química é de cerca de 70% de amido, uma característica que permite a sua utilização como um excipiente com diversas finalidades em comprimidos, uma vez que os amidos são biopolímeros naturais, rentáveis e não tóxicos, amplamente utilizados como aglutinantes e desintegrantes (BARROS, 2011). Já a celulose microcristalina (CMC) é uma forma de celulose não fibrosa minimamente dividida em pequenas partículas. É útil na produção de comprimidos devido às características de não aderência, boa compressibilidade,

fácil desintegração, alto potencial de diluição, além de ser inerte, o que a torna compatível com outros diluentes (TOOLER & SCHMIDT, 2005).

Dessa forma, objetivando desenvolver comprimidos de Pilocarpina com mesocarpo de babaçu ou com celulose microcristalina, foi realizado um estudo estatístico comparativo entre os benefícios que estes podem obter. Este estudo foi realizado com a utilização da ferramenta conhecida como planejamento fatorial, na qual, cada elemento atuando isoladamente, bem como as suas interações, foram quantificados e avaliados, podendo-se inferir, por conseguinte, sobre a viabilidade e qualidade do produto final desenvolvido (BUTON, 2012). Após escolha da formulação mais adequada, esta foi finalmente avaliada quanto ao perfil de dissolução, comparando com aquele do medicamento de referência, Salagen[®], concluindo, portanto, sobre a viabilidade tecnológica dessas formulações.

Material e Métodos

A Celulose Microcristalina PH 101 (fornecedor: Genix[®]; Lote: 90652) e o Estearato de Magnésio (fornecedor: Natural Pharma[®]; Lote: s/n) foram obtidos de uma Farmácia de Manipulação de Teresina, Piauí. O mesocarpo de babaçu foi obtido da empresa Ativa Viva Ltda (Lote: 1841003) e a Pilocarpina, da empresa Vegeflora Extrações do Nordeste Ltda (Lote: VC-1101).

Tabela 1 - Matriz de planejamento fatorial 2³ para otimização de comprimidos de pilocarpina 5mg.

Ensaios	Diluyente (1)	Via de Compressão (2)	Lubrificante (3)	(1/2)	(1/3)	(2/3)	(1/2/3)
1	-	-	-	+	+	+	-
2	+	-	-	-	-	+	+
3	-	+	-	-	+	-	+
4	+	+	-	+	-	-	-
5	-	-	+	+	-	-	+
6	+	-	+	-	+	-	-
7	-	+	+	-	-	+	-
8	+	+	+	+	+	+	+

Legenda: Diluyente (celulose-; babaçu+); Via de Compressão (direta -, úmida +), Lubrificante (0,5% -; 1,5% +). Interação dos parâmetros 1 e 2 (1/2); Interação dos parâmetros 1 e 3(1/3); Interação dos parâmetros 2 e 3 (2/3); e Interação dos parâmetros 1, 2 e 3 (1/2/3).

Foram preparadas misturas de pós e princípio ativo (P.A.) referentes aos 8 lotes de comprimidos (peso médio = 280mg; P.A = 5 mg), determinados pelo planejamento fatorial (2^3), no qual foram combinados, em dois níveis (máximo e mínimo), os parâmetros, via de compressão (direta ou úmida), porcentagem do lubrificante, estearato de magnésio (1 ou 1,5%) e o excipiente utilizado (CMC ou babaçu), como mostra a matriz de planejamento fatorial da tabela 1.

Os comprimidos foram produzidos segundo composição exposta na tabela 2, todos com 5 mg de Pilocarpina e adição de lubrificante apenas no momento da compressão, realizada em aparelho rotativo, marca Lawes[®], modelo W-216 com 16 punções de 9 mm. O processo produtivo envolveu via direta ou úmida, com a segunda incluindo prévio processo de granulação em malha número 20 com abertura de 0,840mm. Para a produção dos grânulos, nos lotes com mesocarpo de babaçu, foram utilizados 2% (peso) de polivinilpirrolidona solubilizados em água-álcool (1:1), já para os lotes com celulose, apenas água-álcool (1:1).

Tabela 2 - Definição da composição dos diferentes lotes de comprimidos de acordo com os fatores em estudo (diluyente, via de compressão e porcentagem de lubrificante).

Número do lote	Diluyente	Via de compressão	Lubrificante (%)	Número do lote	Diluyente	Via de compressão	Lubrificante (%)
Lote 1	Celulose	Direta	0,5%	Lote 5	Celulose	Direta	1,5%
Lote 2	Babaçu	Direta	0,5%	Lote 6	Babaçu	Direta	1,5%
Lote 3	Celulose	Úmida	0,5%	Lote 7	Celulose	Úmida	1,5%
Lote 4	Babaçu	Úmida	0,5%	Lote 8	Babaçu	Úmida	1,5%

Cada lote (n=40 comprimidos) foi avaliado quanto a características macroscópicas, peso médio, espessura, diâmetro, dureza, friabilidade, e tempo de desintegração. O controle das características macroscópicas incluiu verificação da cor, rugosidade da superfície e a presença de defeitos físicos. Peso médio, espessura, diâmetro, dureza, friabilidade e tempo de desintegração seguiram metodologia descrita pela Farmacopeia Brasileira 5^oed., com auxílio de balança analítica Sartorius modelo BL 210S, paquímetro Starret modelo 125/6, durômetroSklerografo, friabilômetro Nova Ética[®] Modelo 300 e desintegrador Nova Ética[®], Modelo 301 AC.

Os resultados foram submetidos à análise estatística inserida no planejamento fatorial, e a significância dos efeitos das variáveis e das possíveis interações entre elas foi verificada pela aplicação dos testes t de Student, sendo analisados com base em gráficos de Pareto.

Após escolha da formulação mais adequada, partiu-se para comparação do perfil de dissolução entre a nova formulação e o Salagen[®]. Para isso, foi realizado o desenvolvimento de método analítico por espectrofotometria na região UV-VIS, marca biospectro SP-220, seguido de validação segundo RE 899 de 2003. Após determinação do comprimento de onda para o método em 220nm, segundo varreduras realizadas com o mesmo solvente utilizado para o teste de dissolução, foi construída curva de calibração com concentrações de 5; 7,5; 10; 12,5 e 15 µg/mL, em meio HCl 0,1N. A partir dessa curva foi calculado o teor dos comprimidos e a leitura das amostras do teste de dissolução, com parâmetros de rotação em 50 RPM, temperatura em 37°C, 500 mL por cuba, e tempo de coleta em 5, 10, 15, 30, 60, 90 e 120 minutos, método padrão para comprimidos de liberação imediata segundo a Farmacopeia Brasileira 5ªed.

Resultados e Discussão

Para realizar o estudo por planejamento fatorial com o objetivo de determinar a influência de diversas variáveis, ou fatores, nos resultados de um dado processo, é preciso fazê-lo variar e observar o resultado dessa variação. Isso implica na realização de ensaios em, pelo menos, dois níveis. Os níveis de um fator são os valores ou designações arbitrárias do fator (máximo e mínimo; +1 e -1; etc). Um planejamento fatorial em que todas as variáveis são estudadas em apenas dois níveis é o mais simples e, portanto, havendo k fatores, o planejamento de dois níveis irá requerer a realização de $2 \times 2 \times \dots \times 2 = 2^k$ ensaios diferentes sendo chamado por isso de planejamento fatorial 2^k (NORIEGA et al., 2005; BUTON, 2012).

Como foram determinados 3 fatores (adjuvante, via de compressão e porcentagem de lubrificante), variando em 2 níveis (máximo e mínimo), portanto, um planejamento fatorial 2^3 foi desenvolvido. Este determinou a produção de 8 lotes de comprimidos de Pilocarpina, cuja composição é mostrada na tabela 2.

Quatro lotes contendo celulose apresentaram-se brancos e quatro com o mesocarpo, marrons, cor influenciada respectivamente por seus excipientes. Todos apresentaram características macroscópicas adequadas, ou seja, circulares, planos, isentos de rachaduras, trincas ou deformações. As espessuras de 5 mm e diâmetro de 9 mm demonstram a qualidade dos punções utilizados. O peso médio de todos os lotes encontrou-se em conformidade, com 280mg e limite de variação abaixo de 5% (BRASIL, 2010).

Tabela 3 – Resultado das análises de controle de qualidade para os comprimidos desenvolvidos.

Lote	Peso Médio (g) ± DP	Espessura (mm)	Diâmetro (mm)	Friabilidade (%)	Dureza (KgF) ± DP	T. D. (s) ± DP
1 (Cel + diret + 0,5)	0,280 ±0,005	0,5	0,9	0,13	7,3 ± 0,63	18
2 (Bab +diret + 0,5	0,281 ±0,003	0,5	0,9	75	2 ± 0,19	18
3 (Cel + umid + 0,5)	0,280 ±0,004	0,5	0,9	0,33	4,35 ± 0,41	30
4 (Bab + umid+ 0,5)	0,289 ±0,002	0,5	0,9	0,68	3,1 ± 0,61	19
5 (Cel + diret + 1,5	0,287 ±0,004	0,5	0,9	0,12	8,05 ± 0,72	35
6 (Bab + diret + 1,5	0,286 ±0,003	0,5	0,9	10,6	2,5 ± 0,51	23
7 (Cel+ úmid + 1,5)	0,284 ±0,003	0,5	0,9	0,25	5,15 ± 0,42	23
8 (Bab + umi.+ 1,5)	0,277 ±0,005	0,5	0,9	0,56	4,2 ± 0,63	28

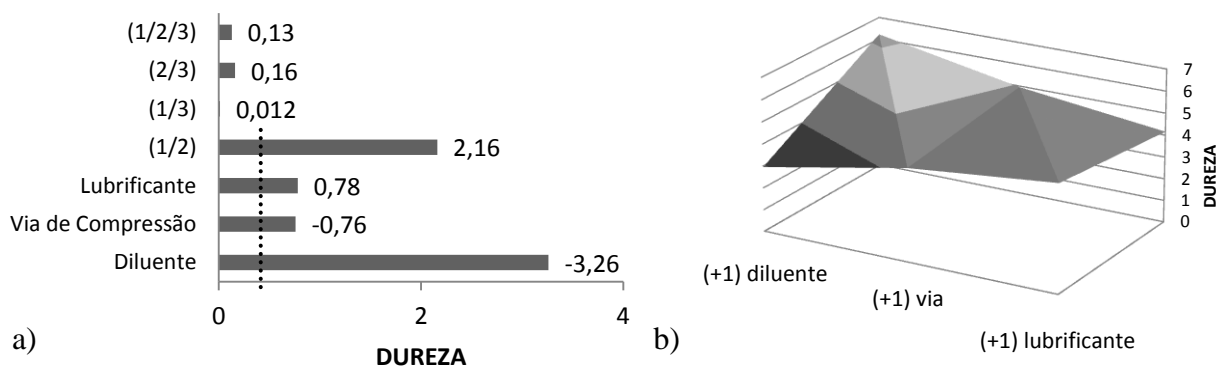
Legenda: T.D. (tempo de desintegração);

As variações, entretanto, começam a ser percebidas com a friabilidade. Nesta, os lotes 2 e 6, referentes aos comprimidos com mesocarpo de babaçu, desenvolvidos por via direta, são capazes de liberar pó ao toque, com valor de friabilidade acima do limite tolerável de 1,5% do seu peso (USP, 2009). Os resultados da dureza também evidenciam a falta de aderência entre os materiais envolvidos nestes lotes, já que representa a resistência do comprimido ao esmagamento ou a ruptura sob pressão radial, em que o mínimo aceitável é de 30 N ou 3 kgf (USP, 2009). Por fim, o tempo de desintegração (T.D.), que permite suposição quanto ao tempo em que o fármaco levará para estar apto à dissolução e por fim, absorção no estômago, mostra grande variação entre os diferentes lotes (LIMA et al., 2005).

Para quantificação estatística da combinação de fatores que levam à formulação mais adequada, o planejamento fatorial foi analisado frente aos resultados dedureza e tempo de desintegração, testes de grande relevância por interferirem diretamente nas respostas de dissolução, que será por fim, comparada com o medicamento de referência. Dessa forma, usando-se os sinais apropriados, como descritos na tabela 1, e realizando-se a soma das respostas médias obtidas para cada lote, obtiveram-se os sete efeitos promovidos pelos três fatores isoladamente e pelas respectivas interações, com os resultados para dureza representados na figura 1 e paratempo de desintegração, representados na figura 2.

Para a dureza, com os ensaios feitos em triplicata, calculou-se o valor limite para a significância com 95% de confiança (t de Student), assim, apenas os valores acima de 0,62 kgF podem ser considerados significativos sobre a resposta obtida.

Figura 1 – Resultados do planejamento fatorial 2^3 para efeitos produzidos na dureza (linha tracejada define 95% de intervalo de confiança): a) gráfico de Pareto; b) gráfico de superfície.



Fonte: Laboratório de Controle de Qualidade - UFPI, Teresina, 2012.

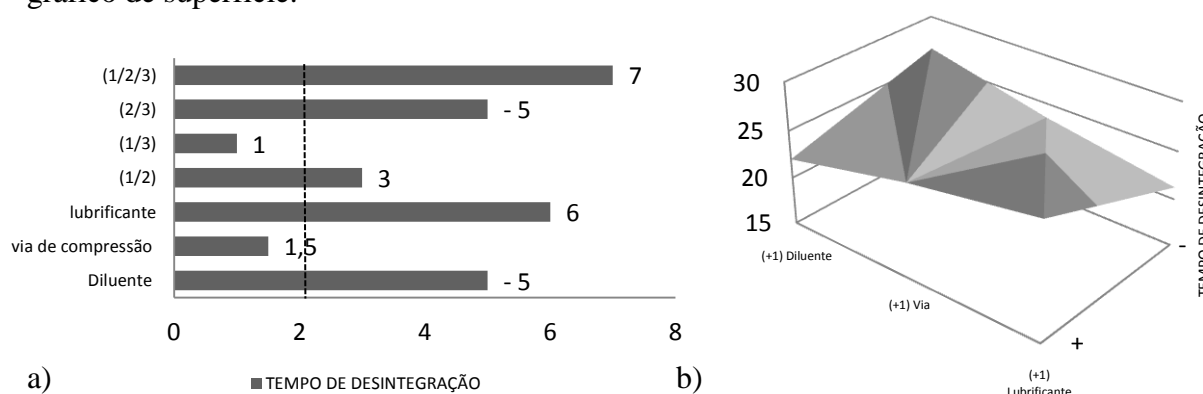
O excipiente usado na formulação foi o parâmetro mais importante nestes resultados. Celulose, representada como o nível negativo, foi responsável por uma dureza média de 6,2 kgf, já o mesocarpo de babaçu de apenas 2,9 kgF. Deste modo, substituindo os excipientes de celulose para babaçu promove-se uma redução na dureza dos comprimidos em cerca de 3,3kgF. Quanto à proporção de lubrificante, concentrações de 1,5% resultaram em um pequeno aumento de 0,78 KgF.

Considerando a via de compressão, também foi observada uma influência significativa, mais bem visualizada com a interação entre os fatores 1 e 2. Esse dado indica que há uma forte interação entre o babaçu e o processo de granulação úmida (ambos +), ou entre a celulose e a via direta (ambos -) proporcionando ganho de 2,16 KgF na dureza. Entretanto, apesar da interação ser relevante para o comportamento do babaçu, o seu ganho não supera o valor da celulose desenvolvida por via seca. Dessa forma, a celulose mostrou-se mais apropriada no fator dureza, com ganho de 3,26KgF quando analisada isoladamente, e acrescida de 2,16 KgF quando por via direta.

Para o tempo de desintegração, com os ensaios feitos em triplicata, calculou-se o valor limite para a significância com 95% de confiança (t de Student), assim, podem ser considerados apenas os valores acima de 2,13 s. Todos os lotes apresentaram valores rápidos e aproximados, com média geral de 24,25s. Entretanto, comprimidos com celulose (nível -) apresentaram cerca de 5 segundos a mais em relação aos lotes de babaçu. A via de compressão pouco influenciou nesse parâmetro, já a porcentagem de lubrificante resultou em aumento proporcional com sua concentração, fato justificado pela sua natureza hidrofóbica e

predisposição a recobrir partículas, dificultando a penetração de água no comprimido e retardando o tempo de desintegração (SOARES & PETROVICK, 1999). Justifica-se, assim, o maior tempo de desintegração para os lotes 5 e 7, referentes à celulose com 1,5% de lubrificante.

Figura 2 – Resultados do planejamento fatorial 2^3 para os efeitos produzidos no tempo de desintegração (linha tracejada define 95% de intervalo de confiança): a) gráfico de Pareto, b) gráfico de superfície.



Fonte: Laboratório de Controle de Qualidade - UFPI, Teresina, 2012.

Para os resultados de dureza, percebeu-se a vantagem da celulose produzida por via direta, para os resultados de tempo de desintegração, a vantagem do acréscimo do lubrificante. Diante da superior vantagem dos comprimidos de celulose por via direta, com 1,5% de lubrificante (Lote 5), esse foi o escolhido para análise comparativa com o Salagen[®].

Para a dissolução, inicialmente, desenvolveu-se e validou-se o método de doseamento por espectrofotometria, obtendo-se 220 nm de comprimento de onda na seletividade/especificidade para Pilocarpina, curva de calibração com $r^2 = 0,998$, provando a linearidade do método, e equação da reta, $y = 0,0192x + 0,0274$. O teor dos comprimidos foram assim calculados, obtendo-se 93,69% para o Salagen[®] e 92,88% para o Lote 5, variação considerada aceitável (USP, 2009).

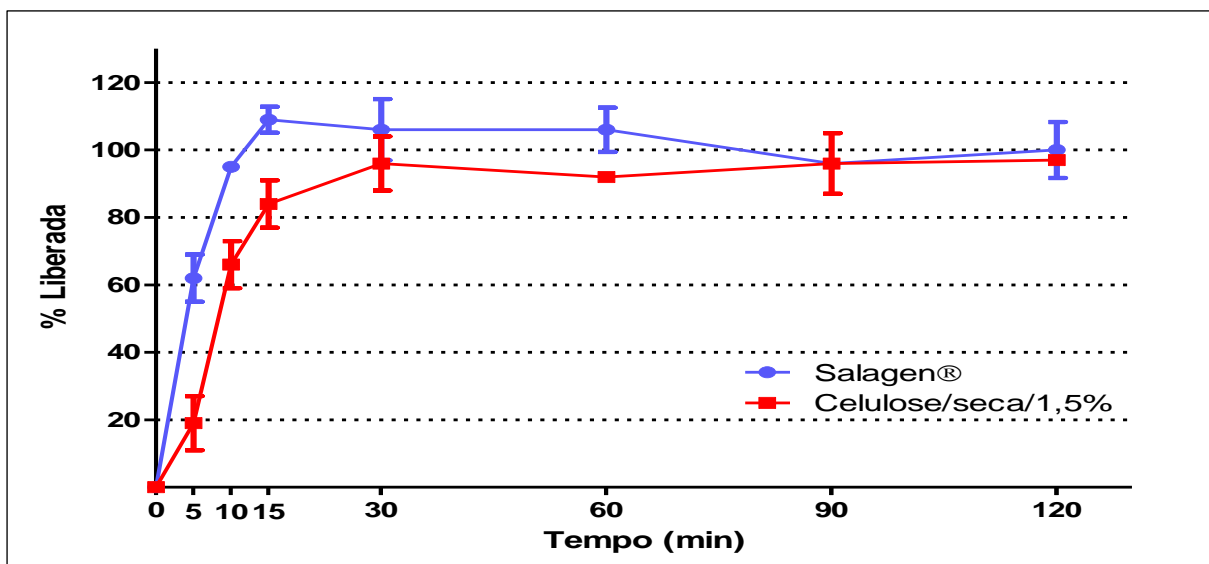
A comparação do perfil de dissolução *in vitro* entre dois ou mais medicamentos pode ser um indicativo da bioequivalência entre os medicamentos analisados, sem, contudo, garanti-la (MAHLE et al., 2007). Dessa forma, a comparação entre os dois medicamentos, através desse teste, visa corroborar a viabilidade do comprimido recém-desenvolvido, assim como aquele existente no mercado. Apesar de o Salagen[®] ser comercializado originalmente nos Estados Unidos, não existem monografias específicas para a formulação do tipo

comprimido nas farmacopeias oficiais locais e internacionais mais conhecidas (Americana, Britânica e Brasileira). Dessa forma, como comprimido de liberação imediata, os comprimidos desenvolvidos serão comparados com o Salagen[®] em relação às características gerais desse tipo de formulação.

Nas formas farmacêuticas de liberação imediata, o sistema farmacêutico serve apenas de suporte da substância ativa, pouco interferindo nas características da liberação (COSTA & LOBO, 1999). Embora haja divergência entre alguns documentos oficiais, a FDA estabelece que, de acordo com as características biofarmacêuticas do fármaco, estas formulações deverão liberar 85% do ativo entre os 15 e 60 minutos iniciais do teste (FDA-CDER, 1997).

Dessa forma, a dissolução mostrada no gráfico da figura 3 mostra a semelhança entre os comprimidos desenvolvidos e o Salagen[®] em relação à classificação como forma farmacêutica de liberação imediata, pois ambos possuem liberação total do princípio ativo em menos de 30min após o início do teste.

Figura 3 – Perfil de dissolução do Lote 5 (Celulose, via direta, 1,5% de lubrificante) e do Salagen[®].



Conclusão

O estudo do planejamento fatorial evidenciou que, apesar da baixa compressibilidade do pó de mesocarpo de babaçu, existe a possibilidade de associações de fatores para viabilizar o desenvolvimento de comprimidos com esse excipiente. Entretanto, a otimização da

formulação evidenciou o melhor desempenho do Lote 5, contendo celulose, dentre os lotes obtidos, e este, finalmente, foi considerado semelhante ao medicamento disponível no mercado internacional, Salagen[®], de acordo com o perfil de dissolução apresentado. Assim, a obtenção de comprimidos de cloridrato de Pilocarpina foi realizada com sucesso, contribuindo como alternativa economicamente potencial para o tratamento da Xerostomia no Brasil.

Referencias

BARROS, I. C. **Avaliação Biofarmacotécnica de potencial excipiente farmacêutico: pó de mesocarpo de babaçu (Orbignyaphalerata Mart.)**. Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF). 2011;

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;

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Farmacopéia brasileira, 2010. Brasília, 2010. 5ª ed. v. 1;

BUTON, S. T. **Metodologia para planejamento fatorial e análise de resultados**. Apostila: Programa de Pós-graduação em engenharia mecânica. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2012.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro, v. 4, p. 360-369, 1969;

COSTA, P., LOBO, J. M. S. Formas farmacêuticas de liberação modificada. **Revista Portuguesa de Farmácia**, Lisboa, v. 59, n. 4, p. 181-190, 1999;

FDA-CDER. Guidance for Industry. Dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms. **Rockville: Food and Drug Administration**, p. 17, 1997;

LIMA, A. C., MICHELIN, D. C., SANTOS, M. R. C., PAGANELLI, M. O., IGNÁCIO, R. F., CHAUD, M. V. Efeito da força de compressão e da umidade no perfil de dissolução de fármacos. **Saúde em Revista**. Piracicaba, 7(15): 39-43, 2005;

MAHLE, F.; GOELZER, F.; ADRIANO, J.; FELIPPE, M.; VIER, N.; CARLI, R.B.G.; ROSA, T.; COUTO, A.G.; LUCINDA-SILVA, R.M. Avaliação do perfil de dissolução de comprimidos de hidroclorotiazida comercializados no Brasil. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n.3, p. 265 - 271, 2007;

MIURA, L. M. C. V. **Isolamento do alcalóidepiisopiloturina a partir da biomassa do jaborandi (*Pilocarpusmicrophyllus*) e a avaliação de suas atividades antibacteriana, antileishmania, antiviral, antiesquistossoma e sialagoga**. [Dissertação – Mestrado]. Teresina: Universidade Federal do Piauí, 2009;

NORIEGA, P., RÖPKE, C. D., CAMILO, C. M., DEODATO DE FREITAS, P. C., BARROS, S. B. M. Avaliação por análise fatorial das condições da extração do 4-nerolidilcatecol de *Pothomorpheumbellata* (L). *Miq. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*.vol. 41, n. 2, 2005;

PAPPANO, A. J. **Drogas ativadoras dos receptores colinérgicos e inibidores da colinesterase**. In: KATZUNG, B. G. *Farmacologia básica e clínica*. 10ª Ed. São Paulo: McGRAW-HILL, 2007.

PINHEIRO, C. U. B. Jaborandi (*Pilocarpus* sp., Rutaceae): A wild species and its rapid transformation into a crop. **EconomicBotany**. v. 51, n. 1, p. 49-58, 1997;

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;

SOARES, L. A. L., PETROVICK, P. R. **Física da compressão**. *Caderno de Farmácia*, v. 15, n. 2, 1999;

UNITED STATES PHARMACOPEIA, 32nd.ed. Rockville: **United States Pharmacopeia Convention**; 2009;

VIVINO, F. B., SALISBURY, P. L., TRIVEDI, M. Pilocarpine tablets for the treatment of dry mouth and dry eye symptoms in patients with Sjögren Syndrome: A randomized, placebo-controlled, fixed-dose, multicenter Trial. **American Medical Association**, 159:174-181, 1999;

XAVIER, M. Traitement actuel de la xérostomie au cours du syndrome de Sjögren. **La Revue de Médecine Interne**. v. 25, p. 287–293, 2004;

ZUMAÊTA, G. M. O. ; MARTINS, G. B.; CAMPOS, E. J.; SOUZA, M. M. **Avaliação da velocidade do fluxo salivar e da capacidade tampão em crianças submetidas à quimioterapia para tratamento de câncer**. Rev. da Faculdade de Odont. da UFBA, Salvador - Bahia, v. 18, p. 6-10, 1999.

5. CAPÍTULO II
DESENVOLVIMENTO DE COMPRIMIDOS MUCOADESIVOS DE PILOCARPINA
CONTENDO QUITOSANA.

(Artigo a ser submetido à revista: Colloids And Surfaces B: Biointerfaces, FI 3,456).

DESENVOLVIMENTO DE COMPRIMIDOS MUCOADESIVOS DE PILOCARPINA CONTENDO QUITOSANA.

SÁ, L.L.F.¹, SILVA, H.R.², NETO, B.M.³, FILHO, E.C.S.⁴, VEIGA, J.B.⁵, NUNES, L.C.C.¹.

¹Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Universidade Federal do Piauí, Brasil;

²Coordenação de Farmácia, Universidade Federal do Piauí, Brasil;

³Rede Nordeste de Biotecnologia, RENORBIO.

⁴Programa de Pós-graduação em Ciências dos Materiais, Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Universidade Federal do Piauí, Brasil.

⁵Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal.

Resumo

A Xerostomia, secura bucal que resulta em danos severos à mucosa, é eficientemente tratada com agonistas colinérgicos como a Pilocarpina, entretanto, sua aplicação sistêmica, única forma disponível no mercado atualmente, leva com frequência, a efeitos colaterais desconfortantes, como dor de cabeça e distúrbios intestinais e urinários. Portanto, é necessário o desenvolvimento de formulações farmacêuticas que permitam a aplicação local do fármaco, com redução da dosagem e menor efeito sistêmico. Alternativas promissoras são, por exemplo, as formulações mucoadesivas, que aderem na mucosa, liberando o ativo de forma direcionada. Um bom polímero mucoadesivo é a Quitosana, produto extrativo em abundância nas regiões de mangue nordestinas, com destaque para o Piauí, entretanto, trata-se de um pó com baixa compressibilidade. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi viabilizar o desenvolvimento de comprimidos mucoadesivos a partir do uso desse excipiente regional, associando-os com outros polímeros mucoadesivos de conhecida capacidade compressiva, o carbopol[®] e a carboximetilmelulose sódica. Os comprimidos foram desenvolvidos com a Quitosana em proporções de 3:1, 1:1 e 1:3 com cada um destes polímeros. O controle de qualidade envolveu peso médio, dureza, friabilidade, pH de superfície, porcentagem de intumescimento, tempo e força de mucoadesão e taxa de liberação. Comprimidos com carboximetilcelulose apresentaram maiores variações na porcentagem de intumescimento e menor tempo de mucoadesão, resultando em liberação imediata do fármaco. Comprimidos com carbopol[®] apresentaram melhores características de mucoadesividade, entretanto, sua

liberação sustentada não foi superior a 1 hora, o que pode simplesmente retardar o efeito terapêutico da formulação. Dessa forma, a formulação mais adequada foi a CMC-Na/Quitosana (1:1), sendo viabilizada, portanto, a formulação tópica com Quitosana para tratamento da Xerostomia.

Palavras-chave: Boca, Mucoadesão, Comprimidos, Pilocarpina, Quitosana.

Development of pilocarpinemucoadhesive tablets containing chitosan.

Abstract

Xerostomia is an oral dryness resulting in hard lesions to mouth. Their treatment is based on cholinergic agonists like pilocarpine. However the only treatment available with this active substance is the systemic dosages with oral tablets but leads to several adverse effects like headaches, stomach and urinary disturbious. Therefore it is necessary to develop pharmaceutical formulations enabling local drug application with reduction in dosage and systemic effects. A recently alternative is the mucoadhesive formulations that adhere to mucosa releasing the active directionally. A good mucoadhesive polymer is chitosan an abundance extraction product of northeast regions, especially Piauí. However it is a powder with low compressibility. Thus the aim of this work was to allow the development of mucoadhesive tablets using this regional excipient associated with other mucoadhesive polymers of known compressibility, the carbopol[®] and sodium carboxymethylcellulose. The tablets were developed for quitosana with proportions of 3:2, 1:1 and 1:3 with each polymer. The quality controls were realized with average weight, hardness, friability, surface pH, swelling percentage, time and strength of adhesion, and release rate. Tablets with carboxymethylcellulose showed greater variations in swelling percentage and lower mucoadhesion time resulting in drug immediate release. Tablets with carbopol[®] showed better mucoadhesive characteristics however their sustained release were underneath to 1 hour of test which can simply delay the therapeutic effect of the formulation. Thus the most appropriate formulation was the CMC-Na/Chitosan (1:1), being made possible the develop of chitosan topical formulation for Xerostomia treatment.

Keywords: Mouth, Mucoadhesion, Tablets, Pilocarpine, Chitosan.

Introdução

Xerostomia, ou *secura bucal*, é um sintoma comum frequentemente associado à hipofunção das glândulas salivares induzida por estados patológicos diversos, transitórios ou crônicos, como a doença autoimune Síndrome de Sjögren ou efeito adverso a radiações ionizantes, em tratamentos radioterápicos. Seu tratamento é realizado eficientemente com a Pilocarpina, agonista colinérgico amplamente estudado para essa patologia. Sua aplicação oral, entretanto, leva a efeitos colaterais frequentemente reportados como sudorese, distúrbios urinários e gastrointestinais e dor de cabeça. Além disso, por ser um fármaco parassimpaticomimético, sua administração oral é contraindicada para pacientes com doenças cardiovasculares e pulmonares (BERNARDI et al., 2002). Dessa forma, o desenvolvimento de formulações tópicas pode ser alternativa viável para esses pacientes, pois, além de reduzir a absorção sistêmica, pode ser utilizada menor dosagem em cada administração.

As formulações para liberação bucal devem possuir alta resistência contra mecanismos de remoção fisiológica e proporcionar contato prolongado da formulação com a mucosa (CID, 2009). Uma alternativa tecnológica surgida recentemente é conhecida com sistemas mucoadesivos. Estes são formados por polímeros que contêm relação direta com a camada de muco que reveste as células locais. Este muco é um excelente lubrificante constituído de mucina, uma glicoproteína que, em pH bucal, forma uma estrutura em gel fortemente coesiva que reveste toda a cavidade bucal. Dessa forma, o muco exerce um importante papel na adesão de sistemas de liberação mucoadesivos, nos quais, os polímeros da formulação são fortemente aderidos, liberando o ativo controladamente, o que permite que o fármaco disponível não seja perdido com os processos de deglutição e lavagem salivar, e sim, distribuídos por toda a superfície da mucosa, aumentando o efeito terapêutico em comparação com formulações convencionais (PEDRAZZI, 1999; VILLANOVA et al., 2010).

Para a escolha dos polímeros mucoadesivos, algumas das características estruturais necessárias para aplicação bucal incluem a significativa presença de grupos formadores de ligação de hidrogênio, ou grupos com fortes cargas aniônicas ou catiônicas, dentre outros parâmetros (SALAMAT-MILLER et al., 2005). Com base nisso, a Quitosana desponta como potencial excipiente farmacêutico por suas características de biocompatibilidade e de forte adesividade. Trata-se de um biopolímero abundante, obtido a partir da quitina (constituente prioritário em exoesqueletos de insetos, crustáceos e parede celular de fungos), por desacetilação alcalina. Depois da celulose, é o composto orgânico mais importante da natureza (AZEVEDO et al., 2007).

A Quitosana é carregada positivamente e contém unidades de glicosamina e acetilglicosamina, que apresentam grupos amina (NH_2), responsáveis por seu comportamento catiônico em solução ácida e afinidade por íons metálicos. Além disso, apresenta caráter hidrofílico devido à presença de inúmeros grupos hidroxilas ($-\text{OH}$), logo, a mucoadesão desse polímero pode ocorrer através da interação de ligações de hidrogênio e interações iônicas com ácido siálico, presente na mucosa (AGUIAR, 2007). Além disso, a Quitosana vem sendo reportada como antibacteriano e ainda como promotor de permeabilidade cutânea por aumentar o transporte de fármacos hidrofílicos através da camada mucosa estratificada (SANDRI et al., 2005). Por isso, é amplamente utilizada como excipiente em preparações para mucosas.

Na tecnologia de produção de comprimidos, entretanto, a Quitosana apresenta baixa capacidade de compactação e compressibilidade, dificultando, assim, a formação de comprimidos quando utilizado como único excipiente na formulação. Dessa forma, os comprimidos mucoadesivos contendo Quitosana devem possuir ainda um conjunto de outros excipientes para conferir maior resistência e permitir a formação dos comprimidos (REGE et al., 1999). Dessa forma, os polímeros carbopol 940 (CBPOL) e carboximetilcelulose sódica (CMC-Na), ambos polímeros aniônicos com tempo de mucoadesão em torno de 6 horas, foram selecionados por suas características de adesividade, compatibilidade com a mucosa bucal e custo benefício, para juntamente com a Quitosana, fazerem parte do comprimido em estudo (GRABOVAC et al., 2005).

Dessa forma, o desenvolvimento de formulações mucoadesivas com a Quitosana para aplicação tópica da Pilocarpina é uma inovação tecnológica promissora para melhorar a adesão e aumentar o espectro de pacientes que podem utilizar essa terapia medicamentosa para a Xerostomia.

Material e Métodos

Foi utilizado a Quitosana (Fornecedor Polymar, Lote: 20091115), Carboximetilcelulose Sódica (Fornecedor: Ativos Magistrais, Lote: ACX01122F4) e Carbopol 940 (Fornecedor: Pharma Nostra, Lote:12672106F). Cada um dos excipientes foi combinado na proporção de 3:1, 1:1 e 1:3 com a Quitosana, fazendo-se diluição geométrica com trituração e mistura em grau de porcelana por 15min. As misturas foram comprimidas por via direta em compressora marca Neuberger de 1 punção e 7mm de diâmetro, para

obtenção de comprimidos de 100mg (n= 50). O mesmo procedimento foi adotado para os excipientes isolados (n=50).

Os comprimidos foram avaliados inicialmente quanto à variação de peso, dureza, diâmetro e espessura, friabilidade e pH de superfície. Por se tratar de uma formulação bioadesiva, testes relacionados a essa característica, como a porcentagem de intumescimento, tempo e força de mucoadesão, foram realizados. Com os resultados obtidos, aplicando-se a ferramenta estatística do planejamento fatorial, escolheu-se a melhor formulação contendo carbopol[®] e a melhor com CMC-Na, para comparação das taxas de liberação *in vitro*.

Avaliação de Peso, Diâmetro, Espessura, Dureza, Friabilidade, pH de superfície e Teor

Foram isolados 10 comprimidos de cada uma das 9 formulações, os quais foram medidos quanto à espessura, diâmetro e dureza (durômetro Shimadzu). Outros 20 comprimidos foram utilizados para análise de peso médio, friabilidade (friabilômetro nova ética), pH de superfície (phmetro digital de bancada Phtek) e teor. A friabilidade foi realizada utilizando, como parâmetros, 25rpm por 4 minutos. O pH de superfície foi obtido intumescendo cada um dos comprimidos com tampão fosfato (pH 6.8 ± 0.05) por 2 horas em temperatura ambiente e em triplicata. O teor foi realizado com o uso do tampão fosfato pH 6.8 ± 0.05 como solvente, e como branco. Foram feitas as varreduras com Pilocarpina e com os excipientes das formulações, adotando-se o pico de 220nm para a construção da curva de calibração.

Porcentagem de Intumescimento

As propriedades de intumescimento, determinadas a partir do cálculo da porcentagem de intumescimento, foram realizadas com as medidas de pesagem inicial (P₁) e, então, após submersão dos comprimidos em uma solução de tampão fosfato (pH 6.8 ± 0.05), as pesagens de intervalos fixos. Em tempos definidos de 1, 2, 4, 6, 8 e 24 horas após, os comprimidos foram novamente pesados (P₂), sendo o excesso de água retirado por adsorção em papel toalha, por 1min. Esse experimento foi realizado em triplicata e os resultados foram obtidos através da fórmula seguinte:

$$\% \text{ de Intumescimento} = \frac{P_2 - P_1}{P_1} * 100 ; \text{ (equação 1)}$$

Tempo de Mucoadesão Ex vivo

O tempo de mucoadesão *ex vivo* foi realizado (em triplicada) em dissolutor Nova Ética. Em cada cuba, uma mucosa de porco foi aderida na superfície lateral interna com cola de cianoacrilato. Na mucosa, cada comprimido, após a adição de 50 µL de tampão fosfato (pH 6.8 ± 0.05), foi aderido com aplicação de uma força reduzida com a ponta do dedo, por 20s, até adesão completa. Após esse procedimento, a cuba foi cheia com 500mL do tampão, mantido a 37 °C e, após 2 minutos, foi aplicada uma velocidade de agitação de 150 rpm para simular a cavidade bucal. O comportamento dos comprimidos foi então monitorado até desprendimento ou completa dissolução (PERIOLI et al., 2004).

Força de Mucoadesão Ex vivo

A força de mucoadesão *ex vivo* foi avaliada por meio de um texturômetro da marca TA.XT plus, utilizando a mencionada mucosa de suínos, com metodologia adaptada de Perioli et al., (2004). Um pedaço da mucosa foi colado sobre um suporte específico umedecendo a superfície livre com 50 µL de solução salina. No probó do equipamento, o comprimido foi colado com cianoacrilato. O teste foi iniciado com a adesão do comprimido à mucosa, com uma força de 0,02 N, mantida por 20s. As forças máximas adesivas são resultantes da média de três medições (n = 3).

Termogravimetria

O procedimento foi realizado em uma Termobalança Shimadzu®, modelo DTG-60H, sob atmosfera de Nitrogênio com fluxo 50mL/min⁻¹, com razão de aquecimento de 10°C/min⁻¹ com temperatura inicial de 25°C e final de 600°C. O procedimento foi realizado com amostras de 3mg de cada um dos polímeros (carbopol®, carboximetilcelulose e quitosana), porém, para a mistura física 1:1 entre carbopol® e quitosana e entre carboximetilcelulose e quitosana, foram utilizados 3mg de cada constituinte, totalizando 6mg. Os dados foram analisados por meio do *software* TA-60WS (ThermaAnalysis), versão 2.20 da Shimadzu®.

Taxa de Liberação in vitro

A taxa de liberação foi realizada em dissolutor Nova Ética com metodologia adaptada de Perioliet al., (2004). Os comprimidos de carbopol[®] e de CMC-Na escolhidos foram, em triplicata, inseridos no aparato de cesto. Às cubas foram inseridos 500mL de tampão fosfato (pH 6.8 ± 0.05), mantidos a 37 °C e, após 2 minutos, foi aplicada uma velocidade de agitação de 75 rpm com as coletas sendo realizadas após 5, 10, 15, 30, 60, 90 e 120 min.

Resultados e Discussão

Os comprimidos mucoadesivos, assim como os comprimidos convencionais, devem seguir algumas regras gerais de estabilidade, como perda por friabilidade inferior a 1,5%, variação de peso médio inferior a 10%, diâmetro e espessura de acordo com o tamanho dos punções (BRASIL, 2010). Além disso, devem ser avaliados quanto ao seu caráter de mucoadesividade, sendo ideais aqueles com maiores forças e tempo de adesão, permitindo menor frequência para administração de novas doses e fixação adequada do comprimido à mucosa, além de alta % de intumescimento em curto período de tempo, representando liberação imediata da substância ativa armazenada em seu interior (PERIOLI et al, 2003). Além do mais, por se tratar de uma formulação bucal, deve ser compatível com o pH fisiológico do meio, evitando desconfortos, irritações ou, até mesmo, dano à mucosa com o uso do medicamento (BHANJA et al, 2010).

Para avaliar as propriedades dos excipientes, foram produzidos, inicialmente, comprimidos contendo cada um destes isoladamente, corroborando o fato de ser inviável a produção destes com um único polímero, como mostra a tabela 1. O peso médio de todos apresentou-se dentro do limite de variação de ± 10 mg. O diâmetro de todos foram compatíveis ao tamanho do punção (7 mm), entretanto, após 15 dias, comprimidos de carbopol[®] reduziram de 7 para 5 mm, evidenciando a grande higroscopicidade desse polímero, somada à grande adesão entre suas partículas. A dureza dos comprimidos de carbopol[®] não foi mensurada porque apresentaram maleabilidade, deformando-se com a aplicação da força do aparelho. Por fim, o pH de superfície mostra a acidez do carbopol[®] e do CMC-Na, e a neutralidade da Quitosana.

Para os comprimidos com diferentes proporções entre os polímeros, percebeu-se a mesma adequação quanto ao peso médio e espessura, entretanto, neste caso, a higroscopicidade do carbopol[®] foi balanceada pela presença da Quitosana, assim, todos mantiveram a espessura de 7mm. Quanto à friabilidade, foram obtidos valores negativos, resultado do aumento do peso final ao invés de diminuição, dessa forma, não há perda, porém,

ganho de massa, provavelmente decorrente da alta higroscopicidade desses polímeros. Nesse teste, a presença da Quitosana também se mostrou relevante, já que comprimidos com maiores proporções desta conseguiram manter a friabilidade com valores positivos e dentro do limite aceitável de variação (1,5%). A dureza de comprimidos contendo carbopol[®] também não foi determinada em decorrência da maleabilidade proporcionada por esse polímero, o que poderia ser considerado vantajoso por reduzir perdas com transportes. Todos os outros apresentaram valores de dureza acima de 3KgF, como recomendado (BRASIL, 2010). Por fim, o pH de superfície evidencia a importância da Quitosana em contrabalancear o pH das formulações, já que os valores aceitáveis para a mucosa bucal se restringe a 6 e 7, podendo, entretanto, variar entre 5,3 (em baixos fluxos salivares) e 7,8 (em picos de salivação) (HUMPHREY & WILLIAMSON, 2001).

Tabela 1 – Resultados de controle de qualidade dos comprimidos mucoadesivos produzidos.

Lotes	PM (mg)	Fria (%)	Espessura (mm)	Diam (mm)	Dureza (KgF)	pH de superfície
CBPOL	102,0 ± 6,33	2,25	3,9 ± 0,00	5	-	3,2
CMC	90,94 ± 6,47	8,49	2,3 ± 0,28	7	4,4 ± 0,4	6,0
QUITO	98,25 ± 3,02	0	2,2 ± 0,16	7	2,7 ± 0,9	7,0
CMC-Na/QUITO (3:1)	107,3 ± 4,40	-2,62	2,5 ± 0,00	7	4,7 ± 0,5	7,0
CMC-Na/QUITO (1:1)	103,0 ± 4,02	-1,38	2,3 ± 0,31	7	3,4 ± 0,4	7,3
CMC-Na/QUITO (1:3)	99,92 ± 2,78	0,19	2,0 ± 0,00	7	4,7 ± 0,5	7,1
CBPOL/QUITO (3:1)	96,92 ± 2,75	-1,31	2,1 ± 0,19	7	-	3,7
CBPOL/QUITO (1:1)	98,17 ± 2,76	-1,54	2,0 ± 0,00	7	-	4,6
CBPOL/QUITO (1:3)	99,33 ± 1,87	0,25	2,2 ± 0,16	7	-	5,8

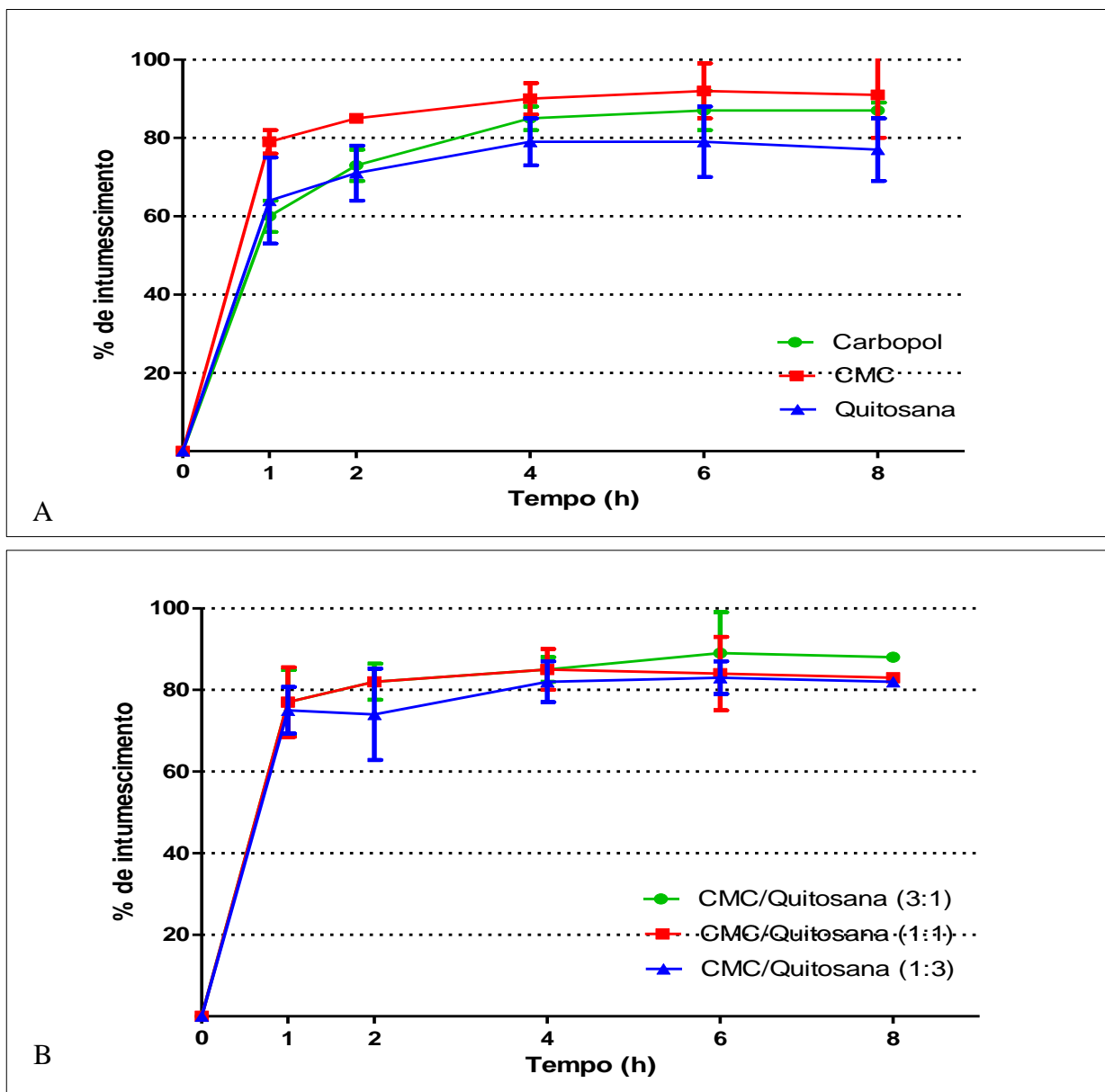
Legenda: QUITO (quitosana); CMC-Na (carboximetilcelulose sódica); CBPOL (carbopol[®]); Peso Médio (PM); Fria (Friabilidade); Diam (Diâmetro); - (não mensurável).

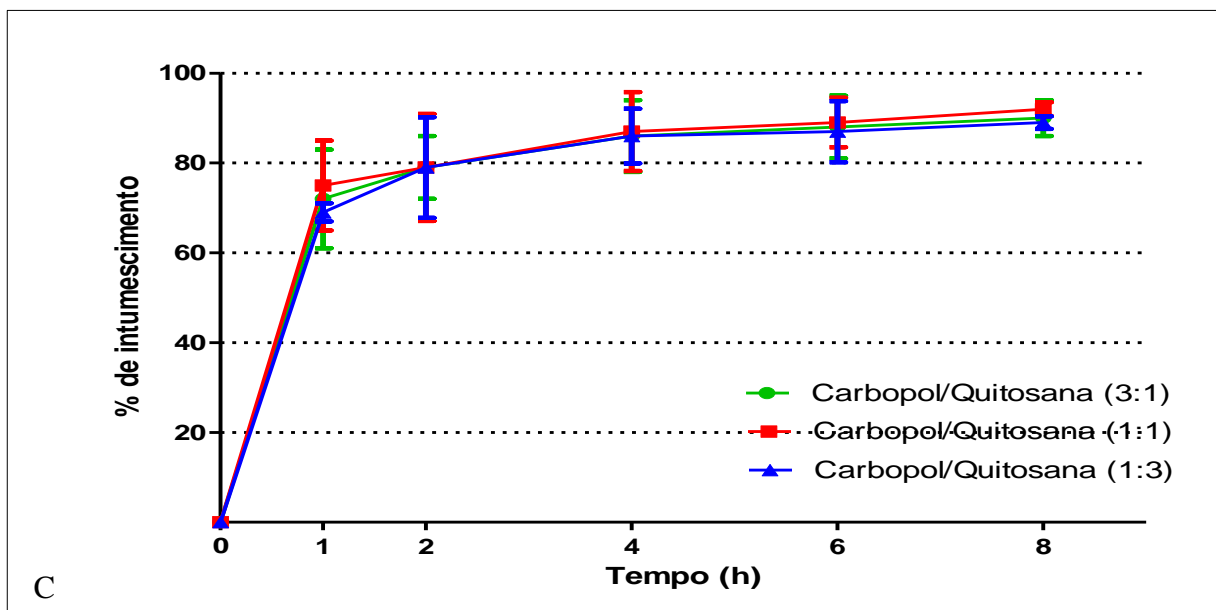
Dessa forma, com os testes preliminares, observou-se a inadequação de alguns comprimidos. Daqueles contendo CMC-Na, a proporção 3:1 foi reprovada, já que apresentou 2,62% de friabilidade. Daqueles contendo CBPOL, as proporções 3:1 e 1:1 apresentaram-se inadequadas apenas quanto ao pH fisiológico, abaixo de 5,3. Dessa forma, dependendo dos resultados de adesividade, representados pela porcentagem de intumescimento, tempo e força de mucoadesão, aquele que se mostrar mais adequado poderá ter sua formulação atualizada

para melhorar esses resultados preliminares, com o uso, por exemplo, de neutralizantes ou desintegrantes.

Os valores de intumescimento são mostrados na figura 1. No gráfico A, encontram-se aqueles relacionados às formulações contendo aos polímeros isolados, no B para as formulações com Carboximetilceluloce e no C, Carbopol[®].

Figura 1 – Gráfico de intumescimento para comprimidos contendo os polímeros isolados (A) e para comprimidos em diferentes proporções de CMCe Quitosana (B), e Carbopol[®] e Quitosana (C).





É notável a grande variação sofrida, ao longo das 8 horas de análises, pelos comprimidos de CMC-Na com Quitosana, com todas as formulações alcançando 90% de intumescimento em menos de 4 horas. A análise do gráfico A mostra que o CMC possui alta higroscopicidade, levando a 80% de intumescimento na primeira hora de teste. Outro fato é que as maiores variações são sofridas com maiores proporções de Quitosana. Isso pode ser explicado pela falta de interação entre as próprias partículas deste polímero, consequentemente, ao invés de ganhar massa por intumescimento, esses comprimidos sofrem perda por quebras e fissuras. A análise do intumescimento do Carbopol®, entretanto, apresenta-se linear, constante e sem perdas de massa durante o processo. Isso é decorrente da alta adesividade entre suas partículas.

Dessa forma, o teste de intumescimento indicaria uma liberação mais rápida para comprimidos de CMC-Na/Quitosana e uma possível liberação contínua para formulações contendo CBPOL/Quitosana. Entretanto, isso será confirmado somente com os resultados da liberação *in vitro*.

Os resultados de mucoadesão são apresentados na tabela 2. Estes apresentaram-se mais favoráveis para formulações desenvolvidas com mesmas concentrações entre Quitosana e Carbopol®, e entre Quitosana e Carboximetilcelulose, ou seja, proporção equimolar entre esses polímeros (1:1).

A explicação química conveniente para esse comportamento está na estrutura molecular desses compostos, as quais possuem grupos funcionais capazes de sofrer interações eletrostáticas e formar ligações de hidrogênio entre si. Logo, quando estão em uma proporção equimolar, essa interação é maior. Outro fator relevante é a interação dessas misturas com a

mucina, substância que reveste toda a cavidade bucal e é responsável pelas suas propriedades viscoelásticas, devido ao seu elevado peso molecular, ligações peptídicas, pontes dissulfídicas intramoleculares e interações hidrofóbicas.

Tabela 2 - Resultados dos testes de tempo e força de mucoadesão.

Lotes	Tempo de Mucoadesão (min)	Força de Mucoadesão (N)
CMC-Na/QUITO (3:1)	152 ± 10,6	0,193 ± 0,097
CMC-Na/QUITO (1:1)	232,7 ± 14,2	0,249 ± 0,142
CMC-Na/QUITO (1:3)	181 ± 11,5	0,215 ± 0,17
CBPOL/QUITO (3:1)	943,3 ± 86,2	0,532 ± 0,088
CBPOL/QUITO (1:1)	993,5 ± 50,3	0,367 ± 0,132
CBPOL/QUITO (1:3)	456,7 ± 68,1	0,237 ± 0,087

Para comprovar essas interações, foram realizadas TG e DTA, mostrados nas figuras 2 e 3. Na termogravimetria, foram obtidas as temperaturas nas quais há maior perda de massa, nestas também ocorrem os eventos endotérmicos e exotérmicos mais significativos da DTA, o que direciona as buscas por interações. Nestas curvas, deve-se observar deslocamentos, surgimento ou desaparecimento em picos para os polímeros isolados em relação aos picos para os polímeros associados.

Figura 2 – Curvas de termogravimetria (TGA) e análise térmica diferencial (DTA) para carboximetilcelulose (CMC-Na), Quitosana e mistura na proporção 1:1 (CMC-Na/Quitosana).

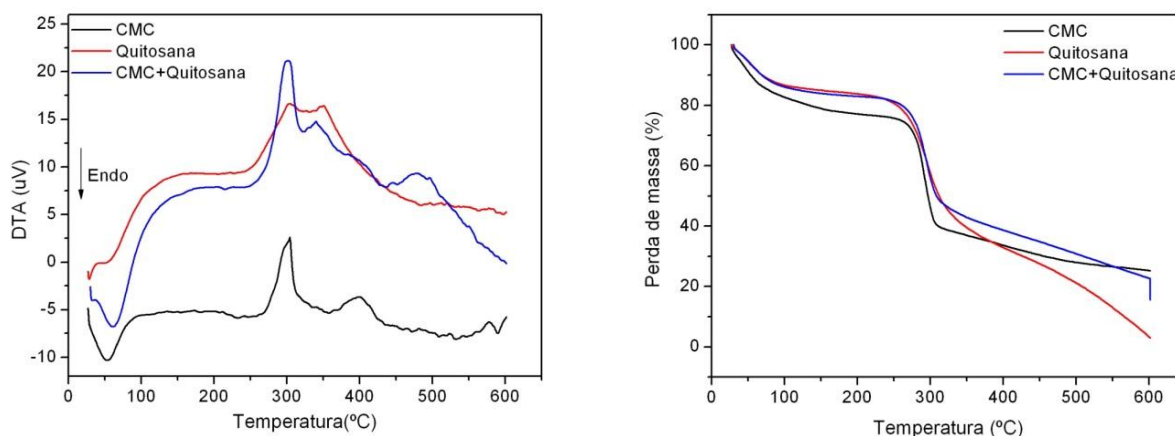
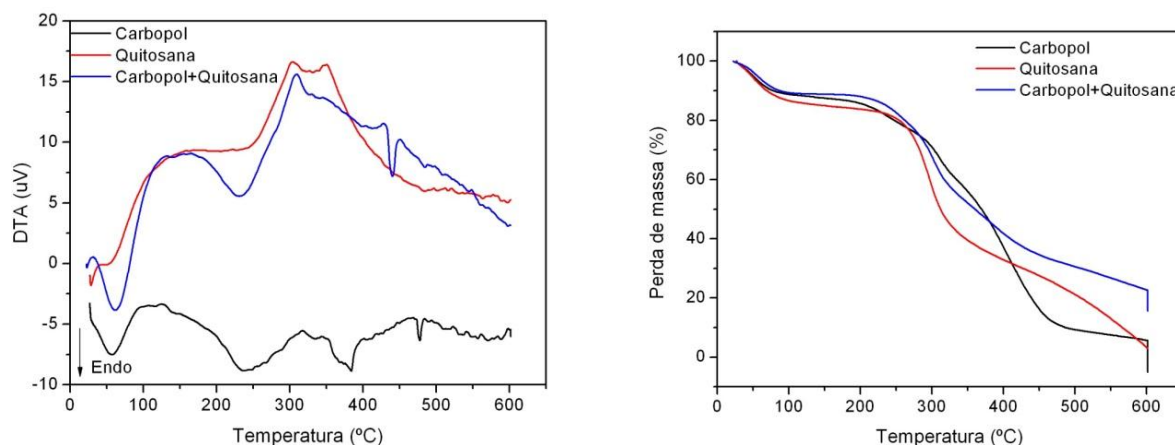


Figura 3 – Curvas de termogravimetria (TGA) e análise térmica diferencial (DTA) para Carbopol[®], Quitosana e mistura na proporção 1:1 (Carbopol[®]/Quitosana).



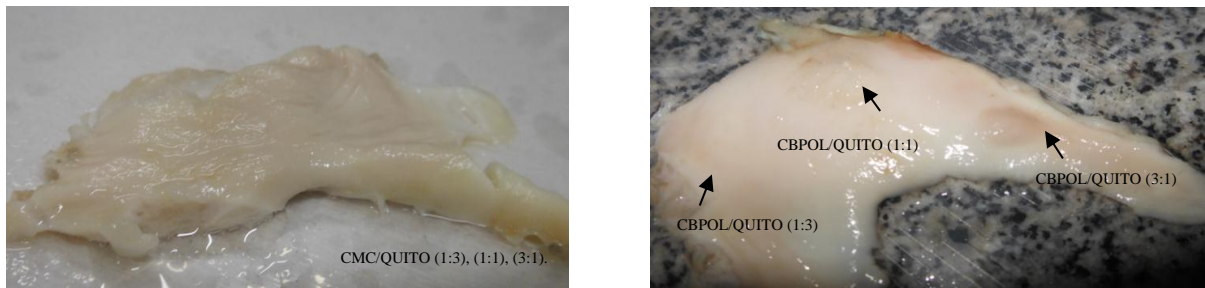
Como é possível identificar nas figuras 2 e 3, houve a interação entre os polímeros com deslocamentos acima de 10°C nos picos endotérmicos para formulações com Carbopol[®] e acima de 50°C nos picos exotérmicos para formulações com Carboximetilcelulose, o que evidencia a maior interação entre as formulações contendo o segundo polímero, resultando, finalmente, em maiores proporções em força e tempo de mucoadesão.

Dessa forma, comprovada a interação, foram obtidas melhores respostas com proporções equimolares dos polímeros, tanto para tempo quanto força de mucoadesão. Entretanto, para a força de mucoadesão, há exceção para comprimidos de Carbopol[®], com melhor resposta na concentração de 3:1. Esse resultado é atribuído, principalmente à alta capacidade de intumescimento que este polímero possui frente ao CMC-Na, como é visualizado no gráfico figura 1. Deste modo, é possível que as cadeias do Carbopol[®] adquiram maior mobilidade para interpenetrar com as cadeias glicoproteicas do muco, estabelecendo, portanto, ligações químicas com a superfície bucal e aumentando a força de mucoadesão. Logo, um maior valor de força para comprimidos de CBPOL/QUITO (3:1) é aceitável, uma vez que esta é a mistura com maior proporção de Carbopol[®].

Analisando os resultados de porcentagem de intumescimento, tempo e força de mucoadesão, percebe-se, então, a ótima atividade adesiva para todos os comprimidos de Carbopol[®], ao contrário dos de CMC-Na, com melhor resultados para a concentração 1:1. Entretanto, formulações com maiores proporções de Carbopol[®] são mais ácidas, o que pode levar a danos na mucosa. De fato, com a observação das mucosas aplicadas aos testes de tempo de mucoadesão, alterações visíveis foram notadas com marcas avermelhadas na área de aplicação destes comprimidos, o que pode ser decorrente de irritação da mucosa. A figura 4

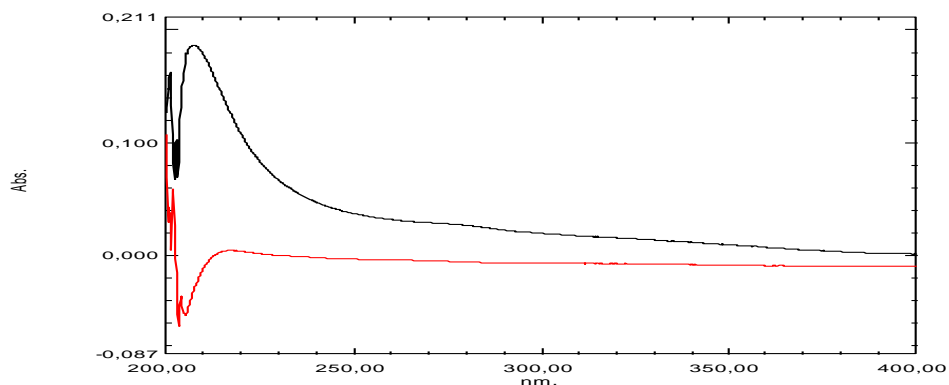
mostra essas alterações, as quais, com comprimidos contendo CMC-Na, não foram significantes nesse processo, ao contrário daqueles contendo Carbopol[®] nas concentrações 1:1 e 3:1 com Quitosana.

Figura 4 – Representação da mucosa após aplicação dos comprimidos de CBPOL: QUITO e CMC: QUITO.



Dessa forma, com todos os testes realizados até aqui, foram escolhidas a formulação de CMC-Na/Quitosana (1:1) e a formulação CBPOL/ Quitosana (1:3) para o teste final de taxa de liberação *in vitro*. Para isso, primeiramente, foi desenvolvido o método de doseamento por espectrofotometria. Com a varredura, ilustrada na figura 4, observou-se uma pequena interferência do Carbopol[®] na absorção de Pilocarpina em 220 nm, ao contrário do CMC-Na, portanto, para comprimidos contendo Carbopol[®], a metodologia aplica, como branco, a mistura entre tampão fosfato (pH 6.8 ± 0.05) e esse polímero. Para o CMC-Na, entretanto, o branco é somente o tampão.

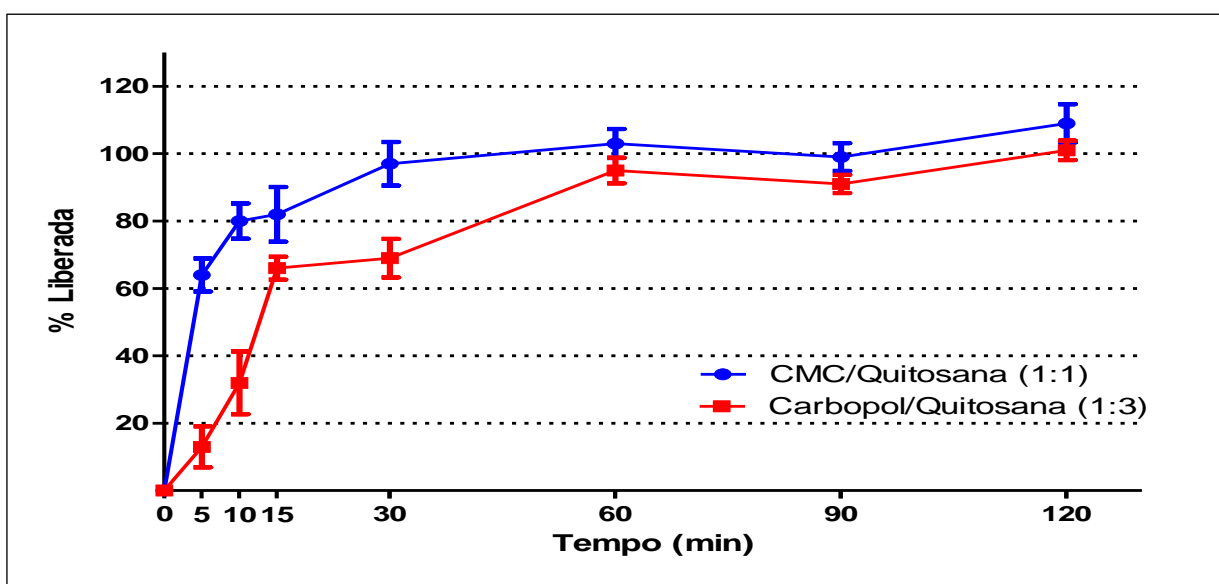
Figura 5 – Varreduras de 400 a 200nm para os polímeros Carbopol[®] (preto) e Carboximetilcelulose (vermelho).



O doseamento desses comprimidos foi realizado a partir da curva de calibração com concentrações estabelecidas de 2,5; 5; 7,5; 10 e 12,5 µg/mL. Essas concentrações foram escolhidas de acordo com a metodologia do teste de liberação *in vitro*, pois, como o comprimido possui 2,5 mg de ativo, a dissolução em cuba com 500mL irá resultar em diluição máxima de 5 µg/mL. Foi obtida a equação da reta, com $y = 0,0203x + 0,0718$, e $r^2 = 0,9989$, com a qual foi possível determinar as concentrações das formulações escolhidas, com $95 \pm 4\%$ para aquela contendo CMC-Na e $102 \pm 3\%$ para aquela contendo Carbopol®. Como o limite aceitável de variação é $\pm 10\%$, as formulações encontram-se adequadas (USP, 2009).

Os resultados para a taxa de liberação, mostrados na figura 6, evidenciam o que o teste de % de intumescimento sugeria. A formulação contendo CMC-Na liberou 100% do princípio ativo nos primeiros 30 minutos do teste, sendo, portanto, considerada como forma farmacêutica de liberação imediata (BRASIL, 2010). Para o Carbopol®, foi observada uma liberação sustentada como era indicado, entretanto, não superior a 1 hora de teste, o que pode resultar em simples retardamento do efeito esperado do medicamento. Dessa forma, a formulação CMC-Na/Quitossana (1:1), por resultar em liberação imediata, provavelmente proporcionará alívio imediato ao paciente, sendo, portanto, a formulação de escolha para essa via.

Figura 6–Taxa de liberação *in vitro* pra comprimidos de CMC-Na/Quitossana (1:1) e CBPOL/Quitossana (1:3).



Conclusão

Comprimidos mucoadesivos com quitosana foram viabilizados a partir da associação com Carbopol[®] e Carboximetilcelulose (CMC). Formulações com CMC-Na são, entretanto, mais adequadas para a mucosa bucal, pois proporcionam pH compatível com o meio e liberação imediata do fármaco, o que, possivelmente, resultará em alívio mais rápido a esses pacientes, devendo-se, entretanto, partir para testes clínicos que comprovem esse efeito. Foi observada, também, interação estrutural entre a Quitosana e o CMC-Na em iguais proporções, resultando em crescimento significativo no tempo e força de mucoadesão da formulação 1:1, o que faz dessa associação a formulação de escolha para testes posteriores de eficácia na Xerostomia.

Referências

AGUIAR, M.M.G.B. **Desenvolvimento de novos comprimidos bucais de nistatina para o tratamento da candidíase oral**. Dissertação de mestrado. Rio de Janeiro -UFRJ 2007;

AZEVEDO, V. V. C., CHAVES, S. A., BEZERRA, D. C., LIA-FOOK, M. V., COSTA, A. C. F. M. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**. v. 2, n. 3, p. 27-34, 2007;

BERNARDI, R., PERIN, C., BECKER, F.L, RAMOS,G.Z., GHENO,G.Z., LOPES, L.R., PIRES, M., BARROS, H.M.T. Effectofpilocarpinemouthwashonsalivaryflow. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 35: 105-110, 2002;

BHANJA, S., ELLAIAH, P., MARTHA, S.K., SAHU, P.K., TIWARI, S. P., PANIGRAHI, B.B., DAS, D. Formulation and in vitroevaluation of mucoadhesive buccal tablets of Timolol maleate.**InternationalJournalofPharmaceuticalBiomedicalResearch**.Índia, 1(4), 129-134. 2010;

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Farmacopeia brasileira, 2010. Brasília, 2010. 5ª ed. v. 1;

BUTTON, S. T. **Metodologia para planejamento fatorial e análise de resultados**. Apostila: Programa de Pós-graduação em engenharia mecânica. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2012.

CID, Y. P. **Desenvolvimento de sistemas de liberação mucoadesivos para o celecoxibe na quimioprevenção do câncer oral: influência da azona como promotor de penetração**, Dissertação de mestrado. Rio de Janeiro – UFRJ 2009;

GRABOVAC, V., GUGGI, D., BERNKOP-SCHNURCH, A. Comparison of the mucoadhesive properties of various polymers. **Advanced Drug Delivery Reviews**. n°57, p. 1713 – 1723, 2005;

HUMPHREY, S.P & WILLIAMSON, R.T. A review of saliva: Normal composition, flow, and function. **The journal of prosthetic dentistry**. n 2, vol 85, 2001;

NORIEGA, P., RÖPKE, C. D., CAMILO, C. M., DEODATO DE FREITAS, P. C., BARROS, S. B. M. Avaliação por análise fatorial das condições da extração do 4-nerolidilcatecol de *Pothomorpheumbellata* (L). *Miq. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. vol. 41, n. 2, 2005;

PEDRAZZI, V. **Sistemas bioadesivos intrabucais para a liberação programada de fármacos: avaliação da resistência à remoção de um dispositivo acrílico e outro polimérico**. Tese de doutorado. Riberão Preto-USP 1999;

PERIOLI, L., AMBROGI, V., RUBINI, D., GIOVAGNOLI, S., RICCI, M., BLASI, P., ROSSI, C. Novel mucoadhesive buccal formulation containing metronidazole for the treatment of periodontal disease. **Journal of Controlled Release**. Italy, 95 521–533. 2004;

REGE, P. R., SHUKLA, D. J., BLOCK, L. H. Chitosan as tableting excipients for modified release delivery systems. **International Journal of Pharmacy**. v. 181, p. 49–60, 1999;

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

SANDRI, G., ROSSI, G., BONFERONI, M. C., FERRARI, F., ZAMBIO, Y., DI COLO, G., CARAMELLA, C. Buccal penetration enhancement properties of N-trimethyl chitosan: influence of quaternarization degree on absorption of a high molecular weight molecule. **Internacional Journal of Pharmacy**. v. 297, p. 146–155, 2005;

UNITED STATES PHARMACOPEIA, 32nd.ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention; 2009;

VILLANOVA, J. C. O., ORÉFICE, R. L., CUNHA, A. S. Aplicações Farmacêuticas de Polímeros. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, vol. 20, nº 1, p. 51-64, 2010;

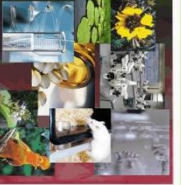
PERSPECTIVAS

- Vinculação a um programa de doutorado que aprove e incentive a continuação desse projeto;
- Desenvolvimento de procedimentos para aperfeiçoar as formulações desenvolvidas, incluindo análise sensorial para escolha de edulcorantes e flavorizantes de acordo com preferências reais da população, além de estudos de estabilidade acelerada e em longo prazo para determinação da data de validade;
- Realização de testes de segurança e eficácia em modelos animais, através de avaliações pré-clínicas com metodologias adaptadas e validadas para formulações bioadesivas, contribuindo para a padronização de testes com esta nova e promissora tecnologia;
- Estudo clínico de fase 1 e 2 para avaliação *in vivo* das formulações desenvolvidas, incluindo análise estatística comparativa com o Salagen[®] para avaliar o ganho ou perda de eficácia, adesão e segurança em relação aos pacientes submetidos aos tratamentos disponíveis;
- Desenvolvimento de novos artigos e patentes para consolidar os trabalhos desenvolvidos;

ANEXOS

Encontro Estratégico
em Ciências Farmacêuticas
I Seminário Ibero-Americano de
P&D de Medicamentos

ASPECTOS INTERDISCIPLINARES
DA P&D DE MEDICAMENTOS



Certificamos que o trabalho "DEVELOPMENT OF PILOCARPIN TABLETS, WITH BABASSU (Orbigny sp) MESOCARP AS EXCIPENT, BY MEANS OF 2³ FACTORIAL DESIGN" de autoria "SÁ, L.L.F.; LIMA, H.R.S.; FILHO, E.C.S.; NUNES, L.C.C." foi premiado com 1^º LUGAR NA SESSÃO ORAL no I Encontro Estratégico de Ciências Farmacêuticas e I Seminário Ibero Americano de P & D de Medicamentos realizado no período de 04 a 06 de Abril de 2013 no Blue Tree Towers Rio Poty na cidade de Teresina, Piauí, Brasil.

Teresina, Piauí – 06 de Abril de 2013.

Rivellison Mendes de Freitas

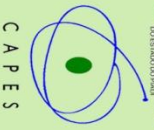
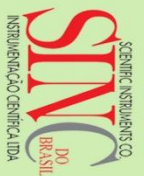
Rivellison Mendes de Freitas

Presidente

Prof. Dr. Livio César Cunha Nunes

Prof. Dr. Livio César Cunha Nunes

Vice-Presidente





WORKSHOP
DE
PROJETOS &
DISSERTAÇÕES

PROGFE
Programa de Pós-Graduação em
Ciências Farmacêuticas

LAPNEX

Gen
UFPI

CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento
Científico e Tecnológico

C A P E S

FAPEPI

Certificados

Certificamos que o trabalho "Desenvolvimento de comprimidos mucoadesivos de pilocarpina com quitosana" de autoria de Laisa Lis Fontinele de Sá, Ana Cristina Sousa Gramoza Vilarinho, Alysson Kenned de Freitas Mesquita, Hiliris Rocha e Silva e Lívio César Cunha Nunes foi premiado com **2º Lugar** na **Sessão Oral** no **II Workshop de Projetos e Dissertações do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas**, realizado no período de 13 e 14 de Novembro de 2013, na Universidade Federal do Piauí, na cidade de Teresina - PI.

Teresina, 14 de Novembro de 2013.

Sidney G. de Lima
Sidney G. de Lima
Coordenador Geral

Rivelilson Mendes de Freitas
Rivelilson Mendes de Freitas
Coordenador Científico