

Prospecção

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

Desenvolvimento da formulação spray

Foram escolhidos inicialmente os excipientes, determinando-se a capacidade destes em promover maior tempo de ação para o fármaco e melhorar a viscosidade, o sabor e aroma da formulação. O cloridrato de pilocarpina (princípio ativo) foi obtido da empresa Vegeflora Extrações do Nordeste Ltda. Foram avaliados os seguintes parâmetros: características organolépticas; pH (em equipamento da marca "Hanna Instruments", modelo PH21); densidade (segundo métodos gerais da Farmacopéia Brasileira, com auxílio de picnômetro com capacidade de 5 mL); volume de aspersão (50 pressionadas na válvula do frasco, direcionado para proveta graduada, com medição do volume correspondente); edoseamento (High-performance Liquid Chromatography (HPLC) ou Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, que envolve detector do tipo Ultravioleta (UV), comprimento de onda de 215 nm e coluna 125-4 LichroCART Superspher 100 RP-18 endcapped, 4 µm), segundo metodologia descrita pela Farmacopeia Americana (USP, 1999).

Sialometria

Ensaios pré-clínicos foram realizados utilizando ratos machos Wistar, provenientes do Biotério do Centro de Ciências Agrárias da UFPI, com três meses de idade e peso variando entre 270 e 290 g. Esses ensaios envolveram a metodologia de sialometria descrita por Takakura e colaboradores (2009), em que concentrações correspondentes às doses de 2, 4 e 14 µmol/kg da pilocarpina foi inserida em uma formulação em spray (teste) e numa formulação oral (padrão), mimetizando a comparação entre a formulação desenvolvida e a formulação atualmente disponível no mercado (Salagen®). Foram utilizados 56 ratos, divididos em oito grupos. Em dois grupos administrou-se placebo com apenas os veículos das formulações padrão (água) e teste (spray base sem pilocarpina), respectivamente. Em três grupos administrou-se a formulação de solução oral padrão e, em outros três, a formulação de spray teste, em que, para cada tipo de formulação, foram adaptadas as concentrações de pilocarpina para aplicação de doses equivalentes a 2, 4 e 14 µmol/Kg.

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

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Prospecção

As patentes encontradas na busca pelo termo pilocarpina referiam-se à ação agonista colinérgica da pilocarpina e seus sais, cloridrato e nitrato, para tratamento de fibromialgias, xerostomia, xeroftalmia, glaucoma, faringite, dentre outros distúrbios fisiológicos. Referiam-se ainda às metodologias de obtenção deste alcalóide a partir de plantas do gênero *Pilocarpus*. Treze patentes tinham por objetivo a aplicação de pilocarpina em pacientes com xerostomia e foram classificadas quanto a forma farmacêutica demonstrando que o principal foco dos pesquisadores foram os comprimidos, dentre os quais os de liberação imediata, de liberação controlada, dispersíveis e bioadesivos.

Mikhail (1980), na primeira patente publicada e de número US4209505-A, patenteou um enxaguatório bucal contendo cloridrato de pilocarpina diluído com o objetivo de produzir alívio da secura na boca por período prolongado sem o inconveniente dos efeitos colaterais sistêmicos, pois não havia absorção suficiente do fármaco. Uma formulação de pilocarpina a base de chicletes aromatizados e adoçados com concentração de 0,13 a 0,20% do ativo, patente KR9606319-B1, proporciona melhoria do odor bucal de pacientes que sofrem com xerostomia, além de melhoria na fala decorrente do estímulo da salivagem (LEE et al., 1996), mas não existem formulações comerciais do produto patenteado.

A administração sistêmica de cloridrato de pilocarpina deu origem aos comprimidos, cuja referência no mercado é a marca Salagen® aprovada pela Food And Drug Administration (FDA) para tratamento da xerostomia em 1994 (ROCHA et al., 2006; BRAGA et al., 2009). A dosagem recomendada, entretanto, é de 5 mg repetidas de 3 a 4 vezes no dia, uma tentativa de reduzir os efeitos colaterais percebidos com o uso (LOCKHART et al., 1996).

A formulação de solução de pilocarpina para aplicação através de aspersão, spray, não fora patenteada e partiu-se para seu desenvolvimento.

Desenvolvimento da formulação spray

O melhor veículo obtido para esta apresentação, por suas características organolépticas, foi a mistura de mel (viscosificante e edulcorante), metilparabeno (conservante), propilparabeno (conservante), glicerina (edulcorante e viscosificante), sacarina (edulcorante), ciclamato de sódio (edulcorante), mentol (aromatizante), hidroxipropilcelulose (agente mucoadesivo) e água purificada. Com principal destaque para o agente mucoadesivo. A hidroxipropilcelulose é um polímero bioadesivo que pode ser utilizado como matriz para liberação controlada de fármacos. Dessa forma, sua propriedade mucoadesiva chamou a atenção para os benefícios da formação de um filme na mucosa oral, prolongando os efeitos locais do fármaco sobre as glândulas salivares (ROWE, SHESKEY & QUINN, 2009).

O pH da formulação foi de $3,45 \pm 0,12$, abaixo do pH normal da mucosa oral. O resultado do doseamento das formulações de 2, 4 e 14 µmol/Kg, realizado por método de HPLC, demonstrou que não houve diferença entre concentração teórica e a obtida experimentalmente e, portanto, não houve interações entre o ativo e os excipientes, tornando a formulação adequada para o fármaco em uso.

Sialometria

A análise estatística demonstrou que entre os placebos da solução oral padrão e do spray teste houve um aumento significativo ($p < 0,05$) da salivagem com o spray em relação a solução de pilocarpina com água, justificável pelas vantagens dadas pelos excipientes da formulação desenvolvida, que funcionam como coadjuvantes no estímulo salivar. Esses excipientes são representados, principalmente, pelo mel e pelo mentol, além de que, o conjunto de todos eles conferem pH adequado para o estímulo salivar reflexo.

A melhor resposta obtida foi para a dose de 4 µmol de pilocarpina por quilograma, e não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as doses de 4 e de 14 µmol/Kg.

CONCLUSÃO

A formulação spray de cloridrato de pilocarpina 4 µmol/Kg apresentou resultados promissores como indutor de salivagem em estudos pré-clínicos, constituindo-se como uma forma farmacêutica mais eficaz em pacientes que sofrem de xerostomia. Um pedido de depósito de patente foi feito junto ao INPI. Estudos clínicos serão realizados para garantir essa aplicação.

REFERÊNCIAS

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