



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE BIOTECNOLOGIA
BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA

JULIANA EDELVACY LIMA PINTO

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE UM NOVO HIDROGEL DE
PECTINA PARA A LIBERAÇÃO CONTROLADA DE PILOCARPINA NO
COMBATE AO GLAUCOMA**

JOÃO PESSOA - PB

2020

JULIANA EDELVACY LIMA PINTO

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE UM NOVO HIDROGEL DE
PECTINA PARA A LIBERAÇÃO CONTROLADA DE PILOCARPINA NO
COMBATE AO GLAUCOMA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Biotecnologia do Centro de Biotecnologia, da Universidade Federal da Paraíba, como requisito indispensável para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Lúcio Roberto Cancado Castellano.

Coorientadora: Prof. Dra. Elisangela Afonso De Moura Kretschmar.

JOÃO PESSOA - PB

2020

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

L732d Lima Pinto, Juliana Edelvacy.

Desenvolvimento e caracterização de um novo hidrogel de pectina para a liberação controlada de pilocarpina no combate ao glaucoma / Juliana Edelvacy Lima Pinto. - João Pessoa, 2020.

59 f. : il.

Coorientação: Elisângela Afonso De Moura Kretzschmar.
TCC (Graduação) - UFPB/ETS-CBIOTEC.

1. Glaucoma. 2. Hidrogel. 3. Pectina Cítrica. 4. Liberação Controlada. 5. Mucoadesividade. I. Moura Kretzschmar, Elisângela Afonso De. II. Título.

UFPB/BC

FOLHA DE APROVAÇÃO

AGRADECIMENTOS

Como ocorre em todo processo científico, esse trabalho não seria possível de ser realizado sem a ajuda e colaboração de todas as pessoas que tive a oportunidade de conhecer tanto antes como depois do início da minha caminhada acadêmica. Agradeço em primeiro lugar, aos meus pais: Maria Betânia Lima Diniz Pinto por tantas lições morais que levarei por toda a minha vida e José Licarion Pinto Neto por me ensinar a amar a leitura, e, acima de tudo, agradeço aos dois por sempre apoiarem meus sonhos e serem os pais maravilhosos que são.

Agradeço ao professor Lúcio Roberto Cançado Castellano por me acolher no Laboratório de Análise e cultivo Celular (LACEC) mesmo sendo uma aluna de outro centro, e por apoiar a minha ideia inicial para esse projeto, além disso, também agradeço por todo o apoio durante sua execução, principalmente quando os experimentos davam errado. Também não poderia deixar de agradecer a todas as pessoas que me ajudaram na execução desse trabalho, um agradecimento em especial ao doutorando Rafael de Carvalho Araújo por me receber tão bem no Laboratório de Combustíveis e Materiais (LACOM) e por me ajudar em boa parte dos experimentos e análises, sendo um dos pilares deste TCC e a Tatiana Rita De Lima Nascimento por me ajudar na escrita da patente e em alguns experimentos.

Agradeço também a tantos amigos especiais que estiveram presentes nessa caminhada, em especial à Amanda de Cruz Araújo e Eveline de Arruda Martins, por estarem presentes comigo no LACEC nos bons e maus momentos, por todas as risadas e reclamações e por me ajudarem também a fazer os experimentos. Não poderia também de deixar de agradecer a todos os integrantes do nosso grupo de amigos mais próximos, com os quais tive o privilégio de conviver durante esses 4 anos: Aos graduandos Willias Greison Silva Santos, Ana Karolyne Gonçalves dos Santos e Mestrandos Lucas Silva Brito e Jackelly Felipe De Oliveira, obrigada por estarem presentes comigo nessa caminhada desde o primeiro período do curso.

Agradeço a minha coorientadora, Elisangela Afonso De Moura Kretzschmar, pelo apoio e disponibilidade de orientação nesse trabalho.

Agradeço, de forma mais geral, aos docentes do Centro de Biotecnologia (CBIOTEC) da Universidade Federal da Paraíba (Campus I), por serem os excelentes profissionais que são, onde, apesar das condições estruturais, sempre fizeram todo o possível para dar a melhor formação possível. Saio desse curso confiante da qualidade do ensino que recebi.

Agradeço à UFPB pelo apoio financeiro, que ajudou na execução desse trabalho.

Por fim, agradeço a todos que participaram dessa caminhada direta ou indiretamente e que não foram mencionados. A todos vocês, meus mais sinceros agradecimentos.

*“Barroco é uma charada cuja chave
depende da veneta do freguês.*

*Vendendo alguma dose de talvez,
compões a pauta toda só com clave.*

*Glaucoma é uma ocular moléstia grave,
vendeta original de Quem nos fez.*

*Queimar ou torturar com a torquês
ao morbo comparado, é mais suave.*

*Requinte é uma palavra que bem calha,
a Góngora, Quevedo ou Torquemada,
na fórmula forjada na fornalha.*

*Bem antes que a visão se torne um nada,
as cores do arco-íris formam malha
concêntrica na noite iluminada.”*

Glauco Mattoso (Pedro José Ferreira da Silva)

RESUMO

Glaucomas são um grupo heterogêneo de doenças caracterizadas pelo aumento da pressão intraocular e atualmente são considerados como a causa mais frequente de cegueira irreversível no mundo. Apesar de ser uma doença onde seus mecanismos fisiológicos estão bem elucidados, ainda existem diversos entraves quanto a eficiência dos tratamentos atualmente disponíveis. Um deles é causado pelo uso incorreto dos colírios (principal forma de tratamento), esse uso incorreto concerne não somente a aplicação errada do mesmo, o que pode levar a efeitos colaterais ao paciente, mas também o esquecimento de aplicá-lo na hora correta, já que em muitos casos, o colírio deve ser aplicado várias vezes durante o dia. Dentre os medicamentos usados para tratar o glaucoma, a pilocarpina ganha destaque no cenário farmacêutico como um medicamento de origem nacional. Todavia, problemas quanto a sua biodisponibilidade e solubilidade dificultam a sua utilização. Sabendo disso, diversos sistemas de liberação controlada de medicamentos têm surgido nos últimos anos, com o intuito de contornar estes problemas. Um deles são os hidrogéis, que foram um dos primeiros biomateriais desenvolvidos para uso humano devido as suas diversas vantagens de utilização na região ocular, como a biocompatibilidade e a liberação controlada dos medicamentos. Dentre os materiais usados para produzi-los, é notório o uso da pectina graças à sua mucoadesividade e custo de obtenção reduzido. Dessa forma, neste trabalho, foi desenvolvido um novo sistema de liberação controlada de pilocarpina, composto por um hidrogel de pectina cítrica, que apresentou resultados promissores para ser empregado no tratamento do glaucoma. Para isso, foram testadas diversas formulações contendo a pectina cítrica e de maçã, de NaHCO_3 e de CaCO_3 , onde a melhor formulação foi a de pectina cítrica na concentração de 4%, 96 mM de NaHCO_3 , 40 mM de CaCO_3 e 1% de pilocarpina. Sendo esta a que apresentou melhores características aparentes de viscosidade, estabilidade, geleificação e pH à temperatura ambiente. Além disso, foi realizado um ensaio de liberação controlada in-vitro, usando um espectrofotômetro, onde os hidrogéis apresentaram bons resultados, liberando o fármaco de forma controlada por até 72 horas. Também foram feitas análises de FTIR do hidrogel com e sem o fármaco, que não comprovaram a presença do fármaco com eficiência. Todavia, análises do espectrofotômetro no ensaio de liberação identificaram a presença do mesmo, quando diluído em PBS, o que indica que provavelmente a concentração do fármaco no hidrogel estava abaixo da concentração mínima identificável. Portanto, conclui-se que o hidrogel de pectina cítrica é um sistema de liberação controlada de fármacos promissor e com grande potencial de aplicação no tratamento do glaucoma.

Palavras-chave: Glaucoma, Hidrogel, Pectina Cítrica, Liberação Controlada, Mucoadesividade.

ABSTRACT

Glaucomas are a group of heterogeneous diseases, known for the increase in the intraocular pressure and currently are considered to be the major cause of irreversible blindness in the world. Despite being a disease where its physiological mechanisms are well elucidated, there are still many obstacles concerning the efficiency of the currently available treatments. One of them, are caused by the incorrect use of the eye drops (main way of treatment), this incorrect use concern not only its wrong application, which can bring side-effects to the patient but as well the oblivion on the right time of application, which on a lot of cases, the eye drops have to be applied many times during the day. Among the drugs used to treat glaucoma, pilocarpine stands out in the pharmaceutical scenario as a medicine of national origin. However, problems concerning its bioavailability and solubility hinder its use. Knowing that many controlled release systems of drugs have been arising during the last few years, to contour these problems. One of them are the hydrogels, which were one of the first biomaterials to be developed for human use, due to its many advantages on its use in the ocular area, such as biocompatibility and controlled release of drugs. Among the materials used to produce them, its notorious the use of pectin, due to its mucoadhesive ness and low cost of obtention. Therefore, in this work, it was developed a new controlled release system for pilocarpine, composed for a citric pectin hydrogel, which presented promising results to be implemented in the treatment of glaucoma. For that, it was tested many formulations containing citric and apple peel pectin, of nahco₃ and caco₃, where the best formulation was the one with citric pectin in the concentration of 4%, 96 mm of nahco₃, 40 mm of caco₃, and 1% of pilocarpine. Being this, the one that presented the better apparent characteristics of viscosity, stability, gelification, and room temperature ph. Besides that, it was made an in-vitro controlled release assay using a spectrophotometer, where the hydrogels showed good results, releasing the drug in a controlled way until 72 hours. Ftir analysis were also made in the hydrogel with and without the drug, which didn't prove the presence of the drug with efficiency. However, spectrophotometer analysis in the release assay identified its presence, when diluted in pbs, which suggests that probably, the drug concentration in the hydrogel was below the minimum identifiable concentration. Therefore, it is possible to conclude that hydrogel from citric pectin is a promising controlled release system of drugs, with great potential of application on the treatment of glaucoma.

Keywords: Glaucoma, Hydrogel, Citric Pectin, Controlled release, Mucoadhesiveness.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Formação e Fluxo do Humor aquoso pelos processos ciliares.....	17
Figura 2 - Estrutura química da pilocarpina.....	19
Figura 3 - Estrutura química da HMP e LMP.....	23
Figura 4 - Construção da curva de calibração da Pilocarpina.....	28
Figura 5 - Incubadora de Agitação Orbital usada no experimento de liberação controlada.....	29
Figura 6 - Esquema do ensaio de liberação controlada de Pilocarpina.....	30
Figura 7 - Formulações de Hidrogéis de Pectina Cítrica nas concentrações de 2, 3 e 4% (Da esquerda para a direita respectivamente).....	32
Figura 8 - Teste do Tubo invertido em Hidrogéis de pectina nas concentrações de 2, 3 e 4% (Da direita para a esquerda, respectivamente).....	33
Figura 9 - Espectroscopia no infravermelho da Pectina Cítrica.....	35
Figura 10 - Espectroscopia no Infravermelho da Pilocarpina.....	35
Figura 11 - Espectroscopia no infravermelho do Hidrogel de pectina com e sem Pilocarpina..	36
Figura 12 - Curva de Calibração da Pilocarpina.....	37
Figura 13 - Absorbância da liberação da pilocarpina no hidrogel nos intervalos de 15- 5260 minutos.....	38
Figura 14 - Concentração da Pilocarpina liberada nos intervalos de 15-5260 minutos.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Concentrações das formulações testadas.....	31
Tabela 2 - pH das Formulações escolhidas de Hidrogéis.....	33
Tabela 3 - Tempo de gelificação das Formulações escolhidas de Hidrogéis.....	34

LISTA DE ABREVIATURAS

AGaI	Ácido D-galacturônico
CaCO₃	Carbonato de Cálcio
CAO	Câmara anterior do olho
DE	Grau de esterificação
FTIR	Infravermelho por transformada de Fourier
GC	Glaucoma congênito
GPAB	Glaucoma primário de ângulo aberto
GPAF	Glaucoma primário de ângulo fechado
GS	Glaucoma secundário
GTN	Glaucoma de tensão normal
HA	Humor aquoso
HMP	Pectina de alto grau de metoxilação
HSPs	Proteínas de choque térmico
HV	Humor vítreo
KBr	Brometo de potássio
LMP	Pectina de baixo grau de metoxilação
NaHCO₃	Bicarbonato de Sódio
PBS	Solução fosfato salina tamponada
PCP	Parede celular primária
PCs	Processos ciliares
PEC	Pectina
PIA	Pressão intraocular
RPM	Rotações por minuto
SLC	Sistemas de liberação controlada

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
2.	REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1.	GLAUCOMA	15
2.1.1.	Aspectos Gerais.....	15
2.1.2.	Fisiopatologia	16
2.2.	PILOCARPINA.....	18
2.3.	HIDROGÉIS COMO SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA	20
2.4.	PECTINA	22
2.4.1.	Hidrogéis de Pectina.....	24
3.	OBJETIVOS	25
3.1.	OBJETIVOS GERAIS	25
3.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
4.	PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	26
4.1	PREPARO DO HIDROGEL	26
4.2	AVALIAÇÃO DO PH DAS FORMULAÇÕES.....	26
4.3	MEDIÇÃO DA TEMPERATURA DE GELEIFICAÇÃO.....	27
4.4	CONTEÚDO DE DROGA E CARACTERIZAÇÃO DO HIDROGEL	27
4.5	ANÁLISE DE LIBERAÇÃO CONTROLADA	27
4.5.1	Curva da Calibração	27
4.5.2	Ensaio da Liberação controlada.....	28
4.6.	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	30
5.	RESULTADOS	31
5.1	PREPARO DO HIDROGEL	31
5.2	AVALIAÇÃO DO PH DAS FORMULAÇÕES.....	32
5.3	MEDIÇÃO DA TEMPERATURA DE GELEIFICAÇÃO.....	33
5.4	CONTEÚDO DE DROGA E CARACTERIZAÇÃO DO HIDROGEL	34
5.5	ANÁLISE DE LIBERAÇÃO CONTROLADA	36
5.5.1	Curva da Calibração	36
5.5.2	Ensaio da Liberação Controlada	37
6.	DISCUSSÃO	39
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
8.	REFERÊNCIAS	44
9.	GLOSSÁRIO	54

1. INTRODUÇÃO

Os glaucomas são denominados como um grupo heterogêneo de doenças, caracterizadas pela elevação da pressão intraocular, o que pode provocar lesões no nervo ótico e, como consequência, levar ao comprometimento visual. Atualmente, essas doenças são consideradas como as causas mais frequentes de cegueira irreversível no mundo (JONAS *et al.*, 2017; THYLEFORS; NEGREL, 1994). Não obstante o destaque atual, relatos dessas doenças permeiam desde a antiguidade, sendo descritas pela primeira vez, por Hipócrates (460-370 A.C.), como uma alteração na coloração dos olhos de pacientes idosos, cunhando o termo *glaukos*, que no grego significa brilhante (LEFFLER *et al.*, 2015).

Durante toda a história, diversos indivíduos contribuíram para o entendimento dos glaucomas, todavia, os maiores avanços no seu estudo ocorreram por volta do século XIX e XX, destacando-se o momento em 1857 em que Von Graefe descreveu pela primeira vez o glaucoma de tensão normal (VON GRÄFE, 1857), em 1862, quando Donders descobriu que uma alta na pressão intraocular poderia levar a cegueira (GREWE, 1986), e em 1905, quando o neurocirurgião Harvey Cushing realizou uma fatídica cirurgia que melhorou significativamente o quadro de um paciente grave de glaucoma (LATIMER *et al.*, 2012).

No momento atual estima-se que, para o ano de 2020, tenham-se 79.6 milhões de pessoas diagnosticadas no mundo com esse grupo de doenças (QUIGLEY, H.; BROMAN, 2006). Apesar de não se ter números exatos, no Brasil, estima-se que entre 2-3% da população nacional apresente algum quadro de glaucoma. Todavia, existe uma grande chance de que esse número seja maior, já que cerca de metade dos portadores ignoraram a doença nos seus estágios iniciais (ÁVILA; ALVES; NISHI AM., 2015). Além disso, em 2015 foi constatado que cerca de 2,2 milhões de pessoas buscaram o atendimento pelo SUS para realizar o tratamento contra essa patologia. Isso corresponde a um aumento de 245% quando comparado com as 900 mil pessoas atendidas em 2008, podendo assim, ser um indicativo de que na realidade, o número de pessoas afetadas é bem maior do que imaginamos (LOUREIRO; DA FÉLIX, 2020).

Para os indivíduos afetados e diagnosticados, a principal forma de tratamento empregada é o uso contínuo de colírios, devendo ser aplicado religiosamente todos os dias, em alguns casos com mais de uma aplicação diária (CONLON; SAHEB; AHMED, 2017). Nesse ponto chegamos ao primeiro e talvez um dos principais entraves para o tratamento do glaucoma, já que o uso contínuo de colírios está associado a diversos erros humanos, como esquecimento ou aplicação incorreta do medicamento, o que pode trazer diversos efeitos colaterais para o

paciente ou culminar na ineficiência do tratamento (DE CASTRO; MESQUITA, 2009; RIBEIRO *et al.*, 2016).

Tendo em vista o mencionado, sistemas de liberação controlada (SLC) podem se oferecer como uma opção interessante frente aos tratamentos atualmente disponíveis, já que os mesmos podem prolongar e controlar de forma mais eficiente a administração de fármacos, evitando assim a necessidade do uso diário do medicamento e reduzindo os efeitos colaterais, além de minimizar o erro humano (ALENCAR *et al.*, 2018). No decorrer dos anos, SLC foram desenvolvidos para os mais diversos fins. Dentre os materiais usados para produzir esses sistemas, os poliméricos são os mais empregados devido as suas estruturas simples e propriedades maleáveis, dentre eles pode-se destacar: a quitosana, o ácido poliglicólico, a metilcelulose e a pectina (MACHA *et al.*, 2019; SOWJANYA *et al.*, 2017).

Esses polímeros podem ser usados para obter diversos materiais, um deles são os hidrogéis, que são amplamente usados como SLC. Isso é possível devido ao seu alto conteúdo de água, promovendo um sistema biocompatível, maleável e capaz de minimizar o risco de degradação das drogas (LI, J.; MOONEY, 2016). Basicamente, em hidrogéis, o fármaco estaria disperso numa matriz, onde a medida em que a mesma é degradada pelo organismo o fármaco seria liberado no meio externo, dessa forma ocorrendo uma difusão por gradiente de concentração (BIZERRA; SILVA, 2016; SUNG; KIM, 2020). Dentre os diversos tipos de hidrogéis atualmente empregados, os hidrogéis de pectina tem ganhado destaque, devido as suas propriedades mucoadesivas, já sendo muito empregados como sistemas de entrega de medicamentos direcionado ao cólon (JUNG; ARNOLD; WICKER, 2013; KHOTIMCHENKO, 2020).

A principal vantagem na utilização da pectina está não só nas suas propriedades inerentes, mas também no seu apelo ambiental, já que a mesma é obtida através de resíduos de frutas do gênero citrus (casca de laranja, limão e bagaço de maçã), sendo assim, seu uso é vantajoso por oferecer um novo fim a esses resíduos industriais e trazer à tona um novo produto com um valor agregado (CANTERI *et al.*, 2012). Atualmente, existem alguns trabalhos que trazem a extração de pectina a partir de cascas de frutas nativas do solo brasileiro, o que mostra que a extração de pectina não estaria restrita apenas aos resíduos das frutas mencionadas acima (OLIVEIRA, 2013; ROGRIGUES; SILVA, 2017). Todavia, ainda não existem trabalhos que explicitem o uso de hidrogéis de pectina como sistema de liberação controlada para a região ocular, sendo dessa forma um dos alvos deste trabalho.

Dentre os medicamentos usados para se tratar o glaucoma, a pilocarpina, alcaloide presente nas folhas do Jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), que é uma árvore nativa da flora

brasileira, tem recebido muita atenção da indústria farmacêutica. Isso ocorre devido a sua eficiência no combate ao glaucoma e da xerostomia também conhecida como síndrome da boca seca (ALMEIDA; KOWALSKI, 2010; PAN, 2014). Uma forma de avaliar a sua importância é através dos dados disponibilizados pela ABIQUIF (Associação Brasileira da Indústria Farmoquímica e de Insumos Farmacêuticos), os quais mostram que em 2007 o cloridrato de pilocarpina ocupou o segundo lugar dentre os medicamentos vendidos tanto em solo brasileiro como exportado, acumulando um valor de 8,6 milhões de dólares, e só na primeira metade do ano de 2019 esse valor chegou a mais de 5 milhões (MELLO, 2011).

Todavia, existem dois principais entraves na utilização da pilocarpina, o primeiro deles é a sua baixa biodisponibilidade ocular (1-3%), já que no uso convencional de colírios boa parte do que é aplicado no olho se é perdido pelo reflexo de piscar e o segundo é que, por ser um fármaco muito hidrofílico, ou seja, extremamente solúvel em água, existe uma dificuldade na sua implementação como um dispositivo de liberação controlada, já que o mesmo tende a “escapar” quase que completamente da matriz nas primeiras horas do ensaio de liberação (ANUMOLU *et al.*, 2009; JAIN; VERMA; JAIN, 2020).

Desta forma, neste trabalho buscou-se desenvolver uma nova metodologia de produção de hidrogel de pectina, de forma simples e econômica, tendo em vista uma possível aplicação industrial, e realizar a análise da liberação controlada da pilocarpina. Podendo assim, trazer um novo sistema de liberação controlada mais eficiente e aplicável para o tratamento do glaucoma.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. GLAUCOMA

2.1.1. Aspectos Gerais

Os glaucomas são conhecidos como patologias associada a perda progressiva da visão, caso não se tenha tratamento. Todavia, ao longo do tempo, foi-se possível verificar que eles podem se manifestar de diferentes formas e serem causados por uma miríade de fatores, fazendo com que sejam caracterizados como um grupo de doenças multifatoriais (GRECO *et al.*, 2016). Os principais tipos de glaucomas são divididos em: Glaucoma primário de ângulo aberto (GPAB), glaucoma primário de ângulo fechado (GPAF), glaucoma secundário (GS), glaucoma congênito (GC) e glaucoma de tensão normal (GTN) (BRASIL, 2018).

O GPAB é a forma mais comum de glaucoma, sendo responsável por cerca de 90% dos casos, o nome ângulo aberto significa que o ângulo onde a íris encontra a córnea está aberto, como deveria ser, e dessa forma o aumento da pressão é causado somente pela redução do fluxo dos canais de drenagem no olho (WEINREB *et al.*, 2016). O fator mais preocupante no desenvolvimento do GPAB é que o mesmo é majoritariamente assintomático, onde o único sintoma, na maior parte dos casos, é a perda da visão gradual em estados mais evoluídos da doença. Esse quadro é o principal motivo de cerca de 15% dos pacientes chegarem até um estágio mais avançado sem o diagnóstico (QUIGLEY; H. A., 2011).

O GPAF é uma forma menos comum, onde, ao contrário do GPAB, o ângulo entre a íris e a córnea está fechado, dessa forma ocasionando um bloqueio nos canais de drenagem do olho. Esse tipo é mais fácil de diagnosticar, pois se desenvolve mais rápido e os sintomas são mais evidentes (SUN *et al.*, 2017). O GS é um tipo de glaucoma causado por alguma outra condição, como um traumatismo, uso de medicamentos, catarata ou até mesmo diabetes (PANDEY, A. N., 2018). O GC ocorre em bebês com desenvolvimento incompleto dos canais de drenagem do olho, sendo uma condição rara e podendo ser herdada (BADAWI *et al.*, 2019). Por fim, no GTN, o dano ao nervo óptico ocorre, mas sem aumentar a pressão ocular normal (25-30 mmHg) (TRIVLI *et al.*, 2019).

Dentre os fatores de risco para o desenvolvimento dessa patologia, destacam-se: gênero, idade acima de 40 anos, histórico familiar (genética), raça, miopia, alta pressão intraocular, diabetes mellitus e fumo (MCMONNIES, 2017).

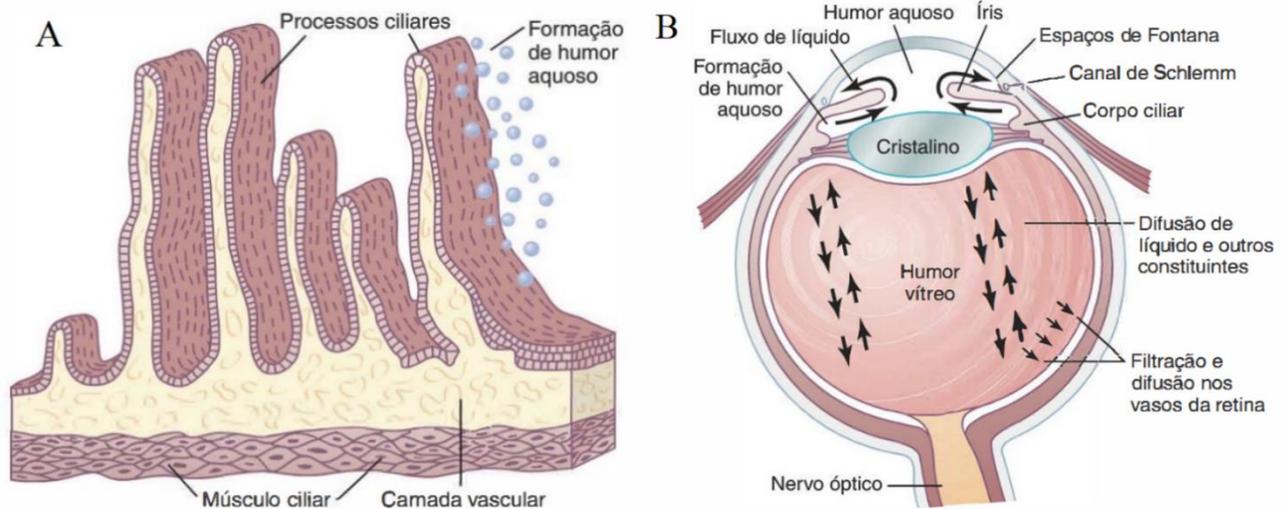
2.1.2. Fisiopatologia

Glaucomas são um grupo de neuropatias ópticas, caracterizadas pela degeneração progressiva das células ganglionares da retina. Essas células fazem parte do sistema nervoso central, apresentando seu corpo na parte interior da retina e axônios no nervo óptico (WEINREB; AUNG; MEDEIROS, 2014). Existem diversos mecanismos que são estudados como possíveis causadores dessa patologia, dentre eles destacam-se: o acúmulo de líquido intraocular e a destruição de células ganglionares da retina por intermédio do sistema imune (GRECO *et al.*, 2016).

O líquido intraocular é responsável por nutrir, dar forma e realizar manutenção da pressão no globo ocular, sendo dividido em dois tipos: humor aquoso (HA), que se situa na frente do cristalino e humor vítreo (HV), caracterizado como uma massa gelatinosa e localizado entre a superfície posterior do cristalino e a retina. O HA está sempre sendo formado e absorvido, e o equilíbrio entre sua formação e reabsorção é essencial para regular o volume total de líquidos intraoculares e, por conseguinte, a pressão intraocular (PIA). Além disso, o mesmo participa no transporte de nutrientes (aminoácidos, ácido ascórbico e glicose). Fundamentalmente, o HA é secretado pelos processos ciliares (PCs), localizados atrás da íris, por um processo de osmose (KING; AZUARA-BLANCO; TUULONEN, 2013; SCHELLACK; SCHELLACK; BEZUIDENHOU, 2015).

Esses PCs são recobertos por células epiteliais muito secretoras, e, abaixo delas, existe uma área rica em vasos sanguíneos (camada vascular). Para que o processo de osmose ocorra, é necessário que se tenha um fluxo de íons bem delimitado nos PCs. Inicialmente, esse processo se inicia com o transporte ativo de íons sódio para os espaços entre as células epiteliais e esses íons sódio atraem íons cloreto e bicarbonato, para assim manter uma neutralidade elétrica. Esses íons então, promovem a osmose da água dos capilares sanguíneos, que estão localizados abaixo das células epiteliais, dando origem assim ao HA, que irá irrigar os processos ciliares localizados na câmara anterior do olho, como representado na figura 1A (GOEL *et al.*, 2010; GUYTON; HALL, 2011).

Figura 1 - Formação e Fluxo do Humor aquoso pelos processos ciliares.



Fonte: Adaptado de GUYTON, 2011.

Com o HA formado, ele irá então fluir pela pupila, entrar na câmara anterior do olho (CAO), seguir para o cristalino, entrar no ângulo entre a córnea e a íris, passando pela malha de trabéculas e, por fim, entrar no canal de Schlemm, que termina em veias extraoculares, como representado na figura 1B. O problema ocorre quando esse fluxo é bloqueado, isso faz com que o HA se acumule na CAO, aumentando assim a PIA. Esse bloqueio pode ocorrer por diversos motivos, como por uma inflamação aguda do olho, que ocasiona um acúmulo de leucócitos e detritos teciduais nos espaços trabeculares, ou pela oclusão fibrosa destes espaços (principalmente em indivíduos mais velhos) (ANDREW; AKKACH; CASSON, 2020; GUYTON; HALL, 2011; HANN; FAUTSCH, 2015).

Vale salientar que, pressões muito altas, acima de 60 a 70 mmHg (onde o normal seria entre 25 a 30 mmHg), se mantidas por um período prolongado, podem comprimir o ponto de saída do globo ocular, gerando um estresse mecânico, que pode danificar o nervo óptico e levar assim à cegueira, iniciada com a perda da visão periférica (ANDREW; AKKACH; CASSON, 2020; GUYTON; HALL, 2011; HANN; FAUTSCH, 2015). Por décadas, acreditou-se que o aumento da PIA ocorresse somente devido ao impedimento do fluxo de HA, todavia, recentemente, tem sido cada vez mais aceito e explanado que um mecanismo autoimune poderia ser um dos responsáveis por essa patologia. A apoptose (morte celular programada) das células ganglionares da retina, por exemplo, é aceita como um importante causador da degeneração do glaucoma (GRECO *et al.*, 2016; TRIVLI *et al.*, 2019).

Essa morte celular programada ocorreria através da proteína supressora de tumor, conhecida como p53, que ativaria o receptor de morte celular CD95, gerando assim a apoptose

(WILSON *et al.*, 2013). Além disso, anticorpos contra antígenos endógenos, como proteínas de choque térmico (HSPs), já foram encontrados no soro de pacientes com glaucoma, podendo assim ser possíveis causadores desse quadro. Dessa forma, na pesquisa foi possível verificar que ratos imunizados com HSP27, mostraram um aumento na taxa de apoptose das células ganglionares da retina, dessa forma aumentando a possibilidade de desenvolver glaucoma (PARK *et al.*, 2001; TSAI *et al.*, 2019). Já se foi também documentado que o aumento da expressão de receptores da família toll-like (principalmente o TLR4) ocorreria em pacientes acometidos por essa patologia (CHAIWIANG; POYOMTIP, 2019). Neurotransmissores como a dopamina (PESCOSOLIDO *et al.*, 2013), serotonina (CHEN *et al.*, 2017) e glutamato, também são capazes de induzir a apoptose dessas células ganglionares, assim como o estresse oxidativo (THOMAS *et al.*, 2017).

Em resumo, fica evidente que a homeostase e sobrevivência das células ganglionares da retina dependem de um intrincado balanço entre diversos sistemas do nosso organismo, onde o desbalanço de algum desses elementos pode gerar uma reação em cadeia e levar o desenvolvimento dessa patologia.

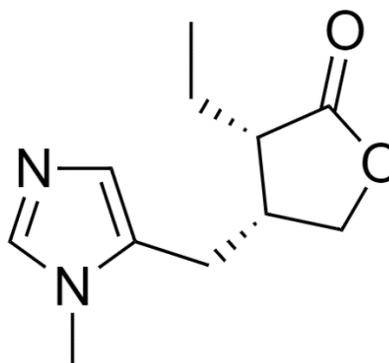
2.2. PILOCARPINA

Dentre as drogas usadas no tratamento do glaucoma, a pilocarpina ganha destaque no cenário nacional por ser uma planta nativa do território brasileiro. A espécie vegetal *Pilocarpus microphyllus*, conhecida popularmente como jaborandi, é um tipo de arbusto originário do Brasil, estando presente principalmente no estado do Maranhão. Das folhas dessa espécie, a pilocarpina é extraída, sendo ela um alcaloide que age como agonista colinérgico muscarínico, ou seja, ligando-se ao sítio de ligação da acetilcolina nos receptores colinérgicos (ARARUNA *et al.*, 2012; BHATTARAI; OH; HWA JANG, 2013; JENSEN *et al.*, 2013).

Dessa forma, a pilocarpina é conhecida devido as suas ações para-simpatomiméticas (simulando o efeito do sistema parassimpático), possuindo um princípio ativo capaz de exercer funções semelhantes à acetilcolina, estimulando, assim, a secreção das glândulas sudoríparas, lacrimais e salivares (BHATTARAI; OH; HWA JANG, 2013; MACKNELLY; DAY, 2009; SAWAYA *et al.*, 2011). Esse alcaloide, inicialmente isolado por Hardy e Gerrard em trabalhos distintos em meados de 1875 (DEWICK, 2009; MAAT; BEYERMAN, 1984) é derivado do aminoácido histidina, representado na figura 2 e apresentando um núcleo imidazólico e outro

pentagonal lactônico. Todavia, foi somente em 1902, que a mesma teve sua estrutura química determinada por Pinner e Schwarz e síntese realizada pelo químico polonês Preobrashenski em 1993 (GRASER, 1968).

Figura 2 - Estrutura química da pilocarpina.



Fonte: Autoria Própria.

A pilocarpina já é usada há mais de um século para reduzir a pressão intraocular no tratamento do glaucoma, atualmente sendo empregada na forma de cloridrato de pilocarpina, como solução oftálmica, nas concentrações de 1 a 4 % (ABREU *et al.*, 2011; CHANG *et al.*, 2013; FRONZA; CAMPOS; TEIXEIRA, 2004). A mesma se apresenta na forma de um pó branco cristalino ou de cristais incolores, caracterizando-se por ser altamente higroscópica (alta absorção de água). Além disso, ela é um princípio ativo altamente solúvel em água e etanol, com coeficiente de partição óleo/água hidrofílico ($\log P = 0,01$), (JÄRVINEN *et al.*, 1991). Essa alta solubilidade em água pode ser considerada como um inconveniente no seu uso em sistemas de liberação controlada, já que ela tende a se dissolver rapidamente para o meio externo, não atingindo assim uma curva de liberação em dosagens terapêuticas (MAHNAMA; NOURBAKSH; GHORBANIASL, 2014).

Apesar de não ser um medicamento recente, segundo um estudo realizado por Souza Filho *et al.* (2003), foi mostrado que mesmo com o aumento nos preços dos medicamentos à base de pilocarpina nos períodos entre 1972 à 2002 e com a introdução de outros medicamentos usados para o tratamento do glaucoma, a pilocarpina ainda continua sendo amplamente prescrita. Usualmente, a posologia capaz de garantir o conforto do paciente é de 5 mg de pilocarpina, na via oral no caso da xerostomia, com 3 a 4 usos por dia, dessa forma não podendo exceder os 20mg diários (NUSAIR; RUBINOW, 1999). No caso do glaucoma, a posologia é feita com a aplicação de duas a três gotas, na região ocular, podendo chegar até 4 aplicações

diárias, todavia, vale salientar que em doses mais altas, foi-se constatado um aumento expressivo dos efeitos colaterais associados a esse medicamento, como demonstrado por Spaeth *et al.* (2009).

Dentre os diversos efeitos adversos associados ao seu uso, pode-se destacar: rubor facial, sudorese excessiva, náuseas, vômitos, distúrbios gastrintestinais, aumento da frequência urinária e alterações cardíacas (BERNARDI *et al.*, 2002; FARAG *et al.*, 2019). Esses problemas podem ocorrer principalmente devido à sua baixa biodisponibilidade, onde acaba sendo necessário empregar dosagens maiores dessa droga para se alcançar o efeito desejado. Todavia, o uso de dosagens maiores também aumenta a quantidade de efeitos colaterais associados (ANUMOLU *et al.*, 2009; JAIN; VERMA; JAIN, 2020). Dessa forma, fica claro que é de vital importância a pesquisa e o desenvolvimento de novos dispositivos de liberação controlada de pilocarpina contra o glaucoma, já que eles podem ajudar a reduzir os efeitos colaterais do medicamento e melhorar a qualidade de vida do paciente.

2.3. HIDROGÉIS COMO SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA

Usualmente, a administração de drogas requer o uso de altas dosagens ou de aplicações repetidas para se alcançar os efeitos terapêuticos desejados, o que acaba resultando em diversos efeitos colaterais para o paciente, incluindo a possibilidade de toxicidade (LANGER, 1998; LIECHTY *et al.*, 2010). Mesmo a rota de aplicação mais usada, que é a oral, está limitada pela falta de especificidade, além de levar algumas horas para alcançar seu o alvo por meio da circulação sanguínea (<12 horas) (FLORENCE; JANI, 1994). Isso pode ser uma grande desvantagem, já que diversos peptídeos e drogas tem um baixo tempo de meia-vida, variando de minutos a horas (ASHLEY *et al.*, 2013).

Para contornar essa problemática, diversos SLC de drogas têm sido desenvolvidos nos últimos anos. De forma geral, SLC são capazes de melhorar a eficácia do tratamento, reduzindo o tempo e a dosagem da administração do medicamento, já que eles tendem a ser mais específicos, dessa forma reduzindo os efeitos colaterais associados, além de serem capazes de administrar o mesmo numa faixa de dosagem terapêutica (TIWARI *et al.*, 2012). Diversos sistemas de liberação controlada já foram produzidos, dentre eles: membranas, nanopartículas, lipossomas, niossomas e hidrogéis (LAFFLEUR; KECKEIS, 2020).

O uso de hidrogéis como SLC tem ganhado bastante atenção nos últimos anos devido a sua biocompatibilidade, redução da degradação da droga e da agregação em solventes mecânicos. Hidrogéis são redes tridimensionais de polímeros totalmente ou parcialmente hidrofílicos que incham quando em contato com água, absorvendo de 20-100% do seu peso total de água e mantendo sua integridade estrutural durante todo o tempo de aplicação (BAHRAM; MOHSENI; MOGHTADER, 2016). Eles foram os primeiros biomateriais projetados para uso no corpo humano, sendo primeiro reportados em 1960 por Wichterle e Lím (WICHTERLE; LÍM, 1960). Além disso, a grande quantidade de água presente neles facilita a transmissão de vapor de água e oxigênio, principalmente na região ocular, característica que torna interessante sua utilização nessa área. Esses materiais já são comumente empregados na produção de lentes de contatos, e, mais recentemente, têm-se realizado pesquisas em que se usam essas lentes na liberação controlada de medicamentos (FILIPE *et al.*, 2016; LI, X.; ZHANG; CHEN, 2013).

Dessa maneira, existem diversas formas de realizar a utilização de hidrogéis na região ocular como SLC, sendo eles usados tanto na parte anterior como na posterior do olho. Como citado anteriormente, um exemplo de aplicação se dá por meio de lentes de contato, outro seria com o uso de formulações com propriedades adesivas que também podem ser aplicadas diretamente na região ocular, sendo esta última o enfoque deste trabalho (KIRCHHOF; GOEPFERICH; BRANDL, 2015). Não obstante, usualmente, quando uma formulação é aplicada na superfície do olho (aplicação tópica), a mesma é rapidamente removida por meio do reflexo de piscar e a drenagem naso-lacrimal, reduzindo assim a permanência da droga no olho (NOKHODCHI; HENTZSCHEL; LEOPOLD, 2011).

Nesse quesito, hidrogéis já demonstraram um aumento da permanência de princípios ativos nessa região, permitindo mais tempo para a droga se difundir pelas camadas do olho. Além disso, devido a sua alta viscosidade, o mesmo é capaz de sustentar o atrito ocasionado pelo reflexo de piscar, todos esses fatores contribuem para o aumento da biodisponibilidade da droga de interesse e deixam claro a importância da pesquisa nesse campo (LI, X.; ZHANG; CHEN, 2013; VASHIST *et al.*, 2014).

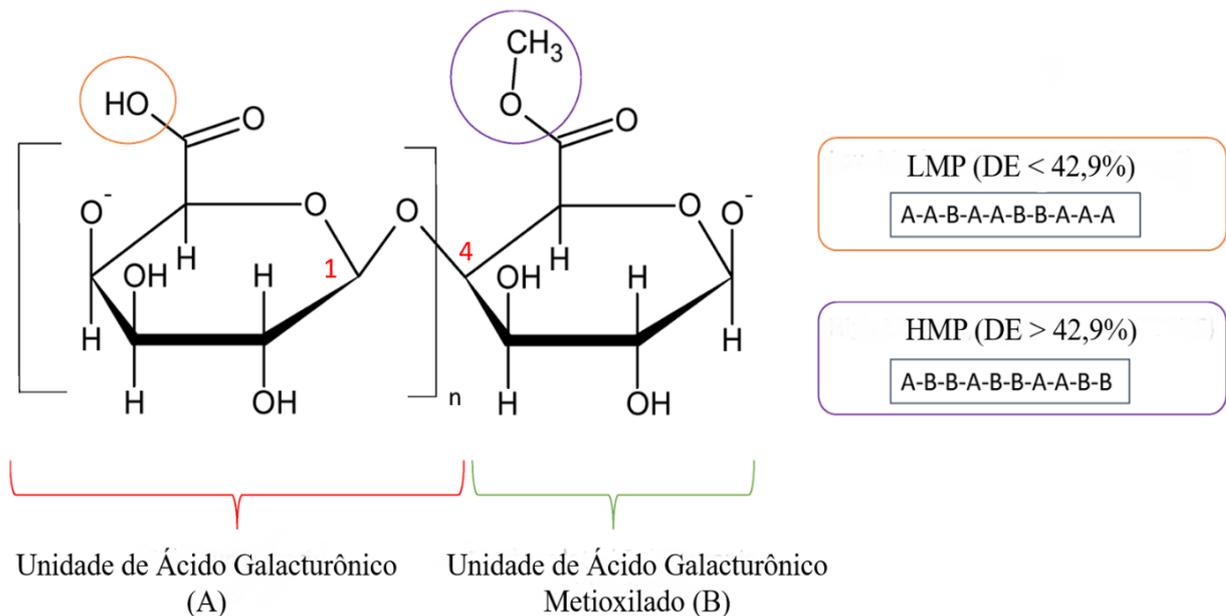
2.4. PECTINA

A pectina (PEC) é caracterizada como um heteropolissacarídeo aniônico complexo e constitui grande parte da parede celular das plantas terrestres (ANDRADE SOUTO-MAIOR *et al.*, 2010). Esse componente é normalmente produzido durante os estágios iniciais de crescimento da parede celular primária (PCP) da planta, chegando a representar até 35% da PCP de dicotiledôneas e monocotiledôneas não-graminosas (JARVIS; FORSYTH; DUNCAN, 1988; NORTHCOTE, 1972). A PEC já é comumente usada na indústria alimentícia como um agente gelificante (GANCZ; ALEXANDER; CORREDIG, 2006), podendo ser extraída da casca e polpa de diversas frutas, principalmente das cítricas, alguns exemplos são: casca da laranja, casca de limão, bagaço da maçã e bagaço de uva. Essas também são as fontes mais utilizadas para a extração desse composto, principalmente as primeiras, por exemplo: o bagaço de maçã tem cerca de 10-15% do seu peso seco em pectina, enquanto a casca de frutas cítricas (como laranja e o limão) apresenta de 20-30% a mais do que o bagaço da maçã (CANTERI *et al.*, 2012; MAY, 1990).

Quanto a composição química, a PEC é constituída por pelo menos 17 monossacarídeos diferentes, sendo os principais: ácido D-galacturônico (AGaI) e açúcares neutros como arabinose, galactose e manose (VICENTE; SILVA, 2020). O AGaI representa cerca de 65% da pectina, formando, assim, seu esqueleto principal, com os monômeros de AGaI ligados entre si, por meio de ligações do tipo α (1,4), enquanto os outros açúcares se projetam da cadeia como “cabelos” em zonas específicas, (MELLINAS *et al.*, 2020; NOREEN *et al.*, 2017; SATO *et al.*, 2011).

Além disso, esse ácido pode ter seus grupos carboxílicos substituídos por grupos metoxilo por um processo de esterificação, valendo salientar que esse grau de esterificação (DE) é variável dentre as diferentes fontes de pectina. O DE, ou o número de grupos metoxilo, influencia não só no mecanismo de gelificação da PEC, mas também nas condições de processamento e propriedades da mesma, sendo assim usado para classifica-la em dois tipos: Pectina de alto grau de metoxilação (HMP), com um DE maior que 42,9% e Pectina de baixo grau de metoxilação (LMP), com um DE menor que 42,9%, representado na figura 3 (MELLINAS *et al.*, 2020; NOREEN *et al.*, 2017; SATO *et al.*, 2011).

Figura 3 - Estrutura química da HMP e LMP.



Fonte: Adaptado de MELLINAS *et al.*, 2020.

O DE influencia na capacidade de formação de géis pela PEC, onde HMP formam géis em um valor de pH baixo (por volta de 3), (GAWKOWSKA; CYBULSKA; ZDUNEK, 2018) e alta concentrações de açúcares, sendo muito sensíveis a variações na acidez. O seu processo de gelificação é complexo, envolvendo a presença de ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas entre as cadeias de pectina. Enquanto isso, a LMP não precisa de uma grande quantidade de açúcar para a gelificação, sendo também menos sensível a acidez. Seu mecanismo de gelificação requer apenas a presença do cálcio para que ocorra sua ligação entre dois grupos carboxílicos de duas cadeias, formando assim o gel. Usualmente esse tipo de pectina é obtida a partir da des-esterificação de HMP (MICARD; RENARD; THIBAUT, 1996; OAKENFULL; SCOTT, 1984; PÉREZ; RODRÍGUEZ-CARVAJAL; DOCO, 2003), sendo o intuito deste trabalho fazer a utilização da última.

Algumas características inerentes da pectina que tem se mostrado como vantagens na sua utilização incluem a biodegradabilidade, biocompatibilidade e baixa toxicidade, se caracterizando como um bom biomaterial para diversas aplicações, como nos campos da: farmacêutica, nutricional, embalagem de comida e cosméticos. Dentre essas aplicações, uma que vem ganhando muito destaque nos últimos anos é a produção de hidrogéis de pectina como

mecanismo de entrega de drogas (LUPI *et al.*, 2015; SUNGTHONGJEEN *et al.*, 1999; VANITHA; KHAN, 2020).

2.4.1. Hidrogéis de Pectina

O uso de hidrogéis de pectina como uma matriz de entrega controlada de drogas tem gerado muito interesse nos últimos anos, principalmente em aplicações biomédicas (NEUFELD; BIANCO-PELED, 2017; SADEGHI, 2011), como na engenharia de tecidos (PEREIRA *et al.*, 2018) e cicatrização de feridas (MARKOV *et al.*, 2019), devido a sua capacidade de formar géis estáveis e por seu mecanismo simples de gelificação. As HMP são usadas em algumas de suas aplicações na entrega de drogas, mas problemas quanto ao alto peso molecular e baixa solubilidade em água, fazem com que a LMP seja a mais utilizada (LARA-ESPINOZA *et al.*, 2018; WICKER *et al.*, 2014).

Outro motivo que faz com que a LMP seja mais vantajosa, além das vantagens citadas acima, é a sua mucoadesividade inerente, sendo uma ótima opção para o uso em áreas com maior teor de água e muco. Essa mucoadesividade pode ocorrer devido a associações por meio de ligações de hidrogênio entre os grupos ácidos livres da pectina e a mucina em meio aquoso, e pela adsorção da pectina na molécula de mucina. O mecanismo de liberação controlada de hidrogéis de pectina ocorreria através da hidratação da sua matriz no tecido mucoso o que culminaria na difusão do princípio ativo. Dessa forma, sua aplicação em regiões como o cólon, nasal, oral e ocular tem sido bastante evidenciada nos últimos anos (CHONKAR; NAYAK; UDUPA, 2015; DAFE *et al.*, 2017; MITTAL; KAUR, 2014; SRIAMORNSAK; WATTANAKORN; TAKEUCHI, 2010).

Todavia, ainda existem poucos trabalhos que direcionem o uso de hidrogéis de pectina no combate ao glaucoma, dessa forma, tendo em vista os fatos explicitados anteriormente, esse sistema aqui proposto pode se caracterizar como uma opção promissora no combate ao glaucoma, podendo dessa forma, aumentar a biodisponibilidade de drogas como a pilocarpina e reduzir a necessidade de inserção de dispositivos na região ocular, que muitas vezes causam desconforto ao paciente.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVOS GERAIS

- Produzir um hidrogel de Pectina para a liberação controlada de Pilocarpina.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estabelecer um protocolo de síntese do hidrogel;
- Verificar o pH dos hidrogéis;
- Determinar o tempo e temperatura de gelificação;
- Realizar a caracterização da pectina, pilocarpina e do hidrogel usando o FTIR;
- Avaliar a Taxa de Liberação do Fármaco e Degradação do hidrogel.

4. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

4.1 PREPARO DO HIDROGEL

Para o preparo do hidrogel, foram testadas diversas formulações, para as quais, foi pesado, em uma balança analítica, diversas concentrações de pectina de casca de frutas cítricas (1-5%) Sigma-Aldrich (BRASIL), de maçã (1-5%) Sigma-Aldrich (BRASIL), de NaHCO_3 (0 mM, 13mM, 15 mM, 23mM, 25mM, 60mM, 96mM) e de CaCO_3 (12.5mM, 25mM, 40mM, 50mM) Dinâmica (BRASIL). Também foi pesada a pilocarpina obtida da Dilecta (BRASIL) na concentração de 1%, baseando-se na concentração comumente utilizada em colírios. Esses componentes foram testados individualmente em cada teste de formulação.

Para preparar o hidrogel, foram dissolvidos em 5 mL de água deionizada diferentes proporções da pectina e do bicarbonato de sódio sob agitação magnética, deixando-se em agitação por 10 minutos a 3000 rpm até uma solução homogênea ser obtida. Por fim, para obter o hidrogel foram adicionados suspensões de CaCO_3 com a Pilocarpina (1%), agitadas previamente, com o auxílio de um vórtex, por 10 segundos. Essa etapa é essencial para promover a ligação cruzada entre as cadeias e a formação do hidrogel. Posteriormente, a solução ficou em agitação magnética até o agitador magnético parar de se movimentar (cerca de 10 minutos), sendo armazenada a 4 °C para posteriores análises.

4.2 AVALIAÇÃO DO PH DAS FORMULAÇÕES

Os hidrogéis foram avaliados quanto seu pH em condição fisiológica (7,4). O pH de todas as formulações foi medido usando um medidor de pH digital (Gehaka PG 1800) e fitas de pH (Qualividros).

4.3 MEDIÇÃO DA TEMPERATURA DE GELEIFICAÇÃO

A determinação da temperatura de gelificação foi realizada por meio do método de inclinação de tubo, no qual um tubo de ensaio transparente contendo 10 ml do hidrogel foi imerso num banho a baixa temperatura. O hidrogel contido no tubo foi aquecido a 1 °C/1-2 min com constante agitação de 100 rpm (rotações por minuto) com um agitador magnético. Posteriormente, em intervalos de 1 minuto, o tubo foi inclinado (90°) e a temperatura na qual a solução parou de fluir foi medida por meio de um termômetro com precisão de medida de 0,1 °C e nomeada temperatura de gelificação. Cada amostra foi medida em triplicata (n = 3).

4.4 CONTEÚDO DE DROGA E CARACTERIZAÇÃO DO HIDROGEL

A estimativa da quantidade de droga e caracterização do hidrogel foi obtida por meio da análise da espectroscopia vibracional na região do infravermelho médio por transformada de Fourier (Do inglês FTIR) das amostras. Foram preparadas pastilhas das amostras com brometo de potássio (KBr) na proporção mássica amostra/KBr de 1:100. Os ensaios foram realizados com espectrofotômetro Shimadzu modelo IR Prestige-21, com as seguintes condições de análise: Região 4000 - 400 cm^{-1} ; Resolução: 4 cm^{-1} ; N° acumulações: 20; Modo: transmitância. Foram analisadas amostras do hidrogel com e sem fármaco, após sua formulação.

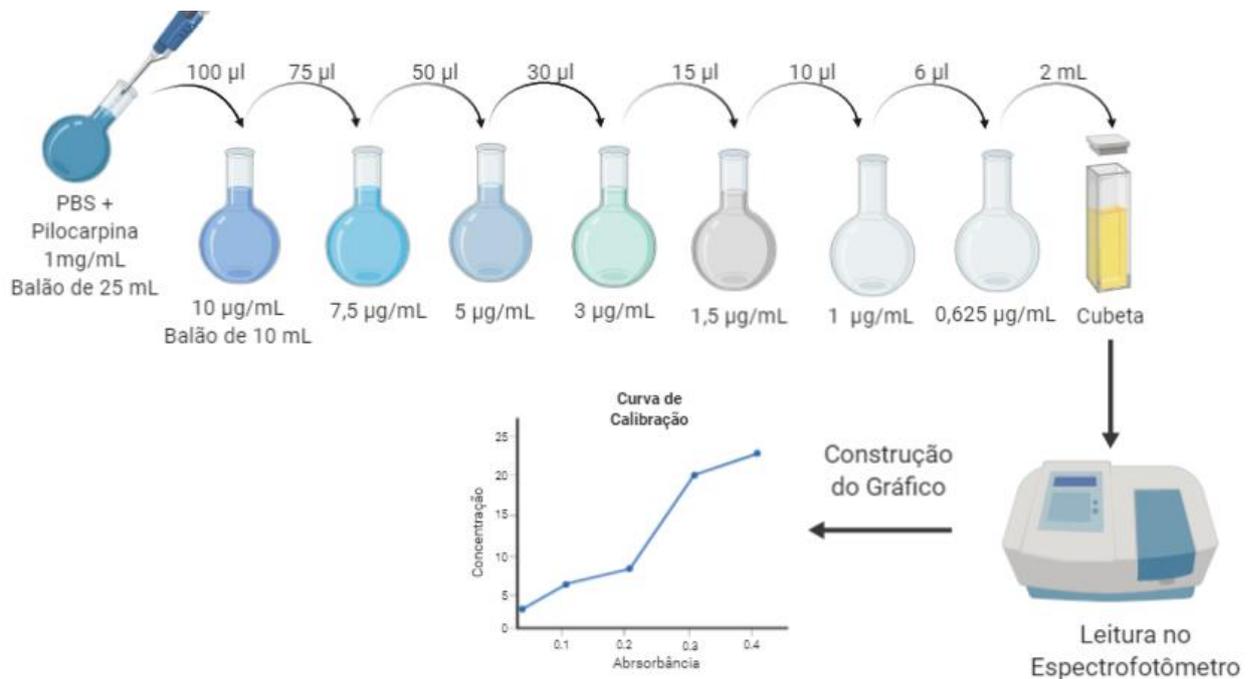
4.5 ANÁLISE DA LIBERAÇÃO CONTROLADA

4.5.1 Curva de Calibração

Antes de realizar o ensaio de liberação controlada deve ser realizada a construção da curva de calibração, que irá auxiliar na quantificação do fármaco liberado posteriormente. Basicamente, a mesma é construída por meio de aferições de diversas concentrações do fármaco

num espectrofotômetro na absorvância de 213 nm. Dessa forma, dissolveu-se 25 mg de pilocarpina num balão de 25 mL, com 25 mL de solução fosfato salina tamponada (PBS), tendo assim, uma concentração de 1 mg/mL. Posteriormente foram realizadas diluições seriadas até a concentração de 0,625 $\mu\text{g/mL}$, retirando-se alíquotas da amostra para uma cubeta de cristal que foram lidas num espectrofotômetro UV-Vis Shimadzu, como representado na figura 4. Vale salientar que nesse processo, a produção da curva de calibração teve com o intuito de obter um coeficiente de correlação, ou seja, o valor de R, o mais próximo possível de 1, visando garantir assim uma maior acurácia na determinação da quantidade de fármaco liberada. Dessa forma, foram analisados o valor do R e o desvio padrão.

Figura 4 - Construção da curva de calibração da Pilocarpina.



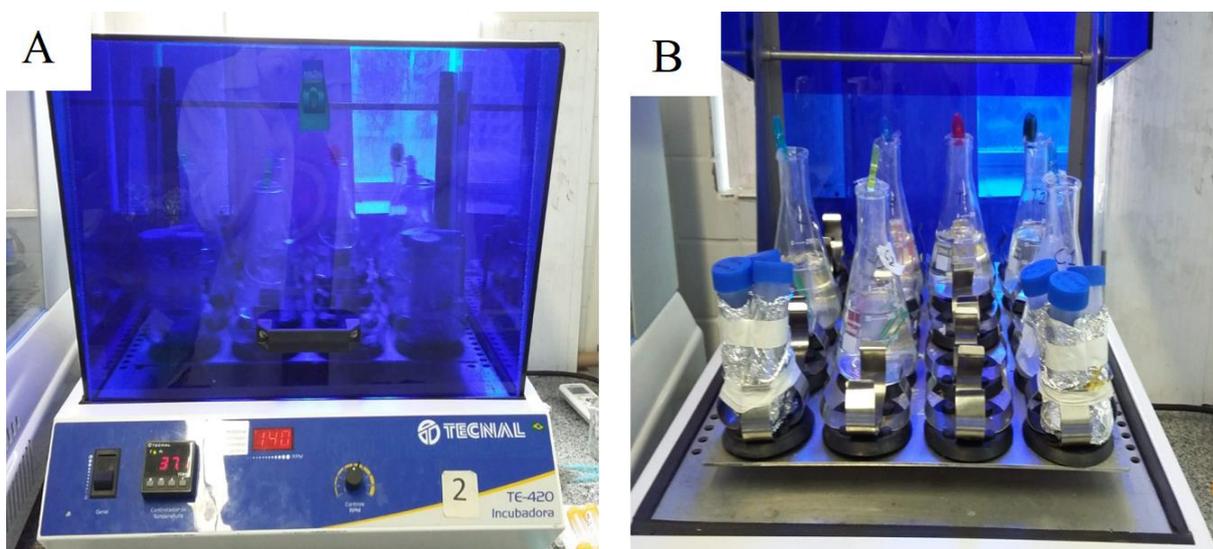
Fonte: Autoria Própria.

4.5.2 Ensaio de Liberação controlada

O ensaio de liberação foi realizado em frascos Erlenmeyer de 250 mL, preenchidos com PBS até 200 ml onde foram prendidos sacos de diálise (Cut off de 14 KD) com 2 g do hidrogel

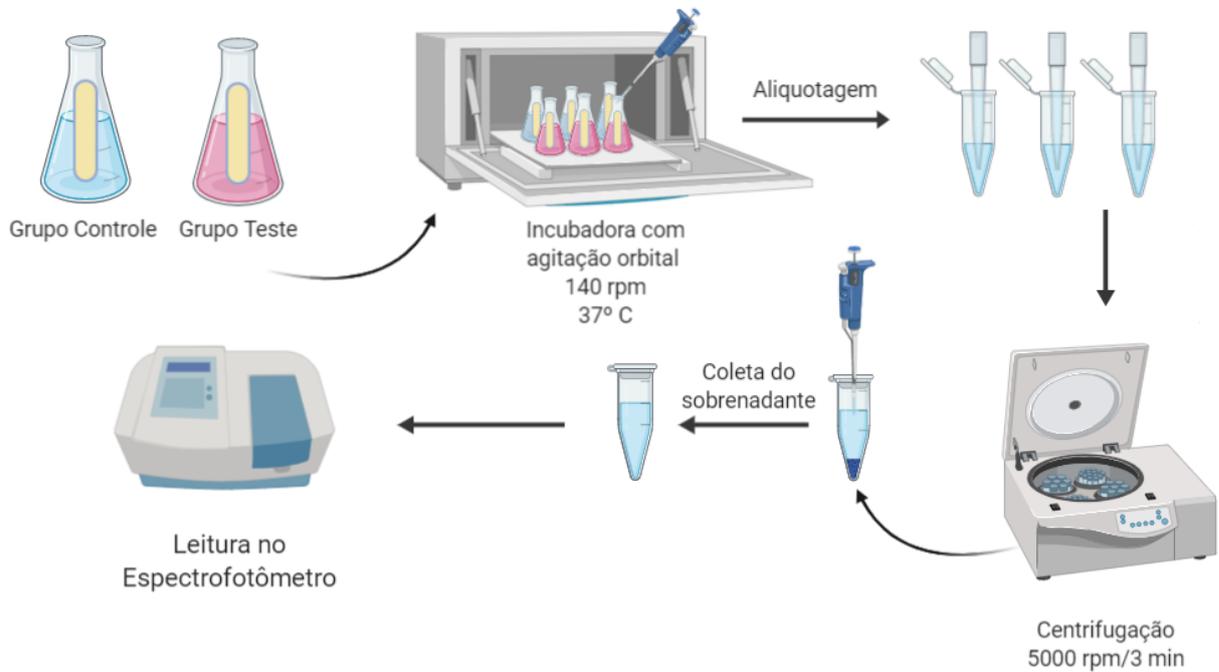
com e sem a droga. As amostras foram pesadas em balança analítica em triplicata para os dois grupos (Grupo teste e controle). Em seguida, os tubos foram incubados em uma incubadora com agitação orbital TE-4200, a 140 rpm e 37° Celsius, representado na figura 5A e 5B. Alíquotas de 3 ml foram retiradas (em triplicata para cada frasco incubado) nos tempos: 15, 30, 90, 120, 180, 240, 300, 1440, 2280, 4320 e 5760 minutos, e após a retirada de cada alíquota, o volume foi repostado com PBS à temperatura ambiente. As alíquotas coletadas foram então centrifugadas em uma centrífuga Solab SL-705 a 5000 rpm, por 3 minutos, a 25 °C, e o sobrenadante foi coletado, essa etapa teve como intuito retirar quaisquer possíveis fragmentos de pectina da solução que possam vir a interferir na leitura. Os sobrenadantes coletados foram então lidos no espectrofotômetro a 213 nm, as etapas estão representadas na figura 6.

Figura 5 - Incubadora de Agitação Orbital usada no experimento de liberação controlada.



Fonte: Autoria Própria.

Figura 6 - Esquema do ensaio de liberação controlada de Pilocarpina.



Fonte: Autoria Própria.

4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Por fim, os dados foram tabulados e as distribuições entre o controle e o hidrogel com o fármaco foram determinadas para posteriores aplicações de testes estatísticos adequados. Esses testes envolveram a análise do valor da correlação de Pearson, valor de R ajustado e análise do desvio padrão, por meio de uma regressão linear simples. O objetivo da análise foi avaliar a liberação do fármaco e a temperatura de gelificação. Os gráficos foram feitos usando o programa OriginPro 8 (OriginPro8 Software Inc., Massachusetts, U.S.A.).

5. RESULTADOS

5.1 PREPARO DO HIDROGEL

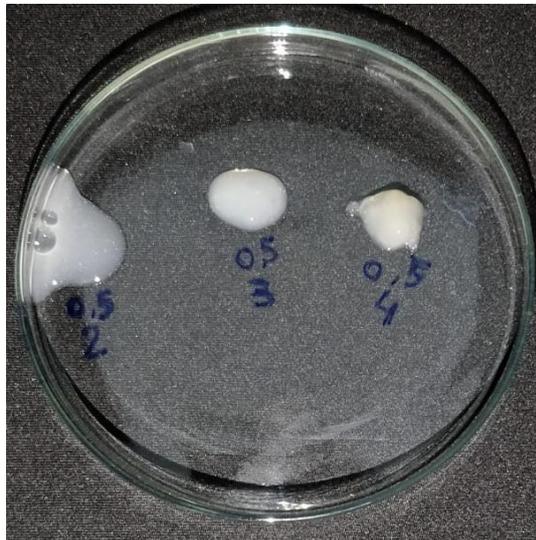
Nas formulações testadas, foi-se possível observar que, quanto maior a concentração usada de pectina de casca de frutas cítricas, menor o tempo de transição sol-gel, já que assim as interações entre os polímeros ocorrem mais rapidamente. Dessa forma, pode-se confirmar que, com o aumento da concentração dessa pectina nas formulações avaliadas, houve uma diminuição no tempo de formação do hidrogel, assim como um aumento aparente da viscosidade. Já com a pectina de maçã não foi possível obter um hidrogel em nenhuma das concentrações testadas, sendo assim, as formulações seguintes a serem testadas envolveram somente a pectina cítrica, estando representadas na tabela 1.

Tabela 1 - Concentrações das formulações testadas.

Formulações	Concentração de Pectina de casca de Frutas cítricas (w.v)	Concentração de NaHCO₃ (mM)	Concentração de CaCO₃ (mM)	Concentração da Pilocarpina
Formulação 1	1 %	0	40	1%
Formulação 2	1 %	15	40	1%
Formulação 3	2 %	23	25	1%
Formulação 4	2 %	0	25	1%
Formulação 5	2 %	13	25	1%
Formulação 6	2 %	23	40	1%
Formulação 7	2 %	25	40	1%
Formulação 8	3 %	25	40	1%
Formulação 9	4 %	25	40	1%
Formulação 10	4 %	96	40	1%
Formulação 11	4 %	60	40	1%
Formulação 12	5 %	96	40	1%

Tendo em vista a aplicação ocular do hidrogel pelo paciente, foi-se escolhido a concentração de 4% para os testes de liberação, pois os hidrogéis demonstraram boa estabilidade à temperatura ambiente e viabilidade de pelo menos 1 mês quando armazenados a 4 °C. As concentrações de 1% e 2% não formaram hidrogéis, como representado na figura 6. Alterações nas concentrações de NaHCO₃ e CaCO₃ também culminaram como um importante fator na obtenção do hidrogel, sendo as concentrações de 96 mM e 40 mM (Formulação 10) , respectivamente, as que apresentaram o melhor resultado quanto ao tempo de gelificação, estabilidade do hidrogel e proximidade com o pH fisiológico.

Figura 7 - Formulações de Hidrogéis de Pectina Cítrica nas concentrações de 2, 3 e 4% (Da esquerda para a direita respectivamente)..



Fonte: Autor.

5.2 AVALIAÇÃO DO PH DAS FORMULAÇÕES

Quanto ao pH das formulações teste, o pH da mesma foi ajustado para próximo de 7, que é próximo ao pH ocular (7.11 ± 1.5), sendo a concentração de 96 mM a que chegou mais próxima do mesmo, apresentando um pH de 6,52, como representado na tabela 2, já que a presença do fármaco deixou a amostra um pouco mais ácida. Vale salientar que concentrações muito altas de NaHCO₃ também influenciam na obtenção dos hidrogéis, já que o mecanismo de

gelificação do mesmo depende do pH da solução, impedindo assim, adições muito altas desse composto.

Tabela 2 - pH das Formulações escolhidas de Hidrogéis.

Concentração das formulações	Concentração de Pectina de casca de Frutas cítricas (w.v)	Concentração de NaHCO ₃ (mM)	Concentração de CaCO ₃ (mM)	Concentração da Pilocarpina	pH da solução
Formulação 1	4 %	96 mM	40 mM	1%	6,52
Formulação Controle	4 %	96 mM	40 mM	N/A	6,7

5.3 MEDIÇÃO DA TEMPERATURA DE GELEIFICAÇÃO

A temperatura de gelificação foi determinada através do método de inversão de tubo, sendo determinada como a temperatura de transição no momento em que a solução no tubo de vidro parou de fluir quando submetida a uma inclinação (90°) e quanto o agitador magnético parou de se movimentar. Soluções na concentração 2% e abaixo não apresentaram essa característica, como consta na figura 8.

Figura 8 - Teste do Tubo invertido em Hidrogéis de pectina nas concentrações de 2, 3 e 4% (Da direita para a esquerda, respectivamente).



Fonte: Autor.

A temperatura de geleificação se deu à temperatura ambiente (25°C), com a degradação da matriz ocorrendo a temperatura corporal (37°C), sendo posteriormente

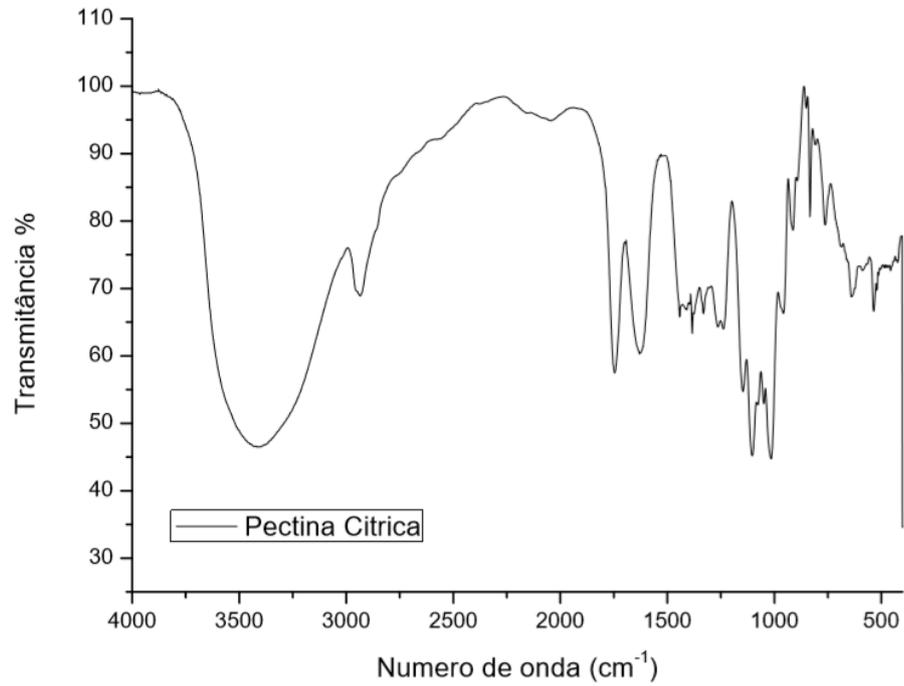
confirmada no teste de liberação. Além disso, o tempo de gelificação variou entre 8-5 minutos entre as formulações, como representado na tabela 3.

Tabela 3 - Tempo de gelificação das Formulações escolhidas de Hidrogéis.

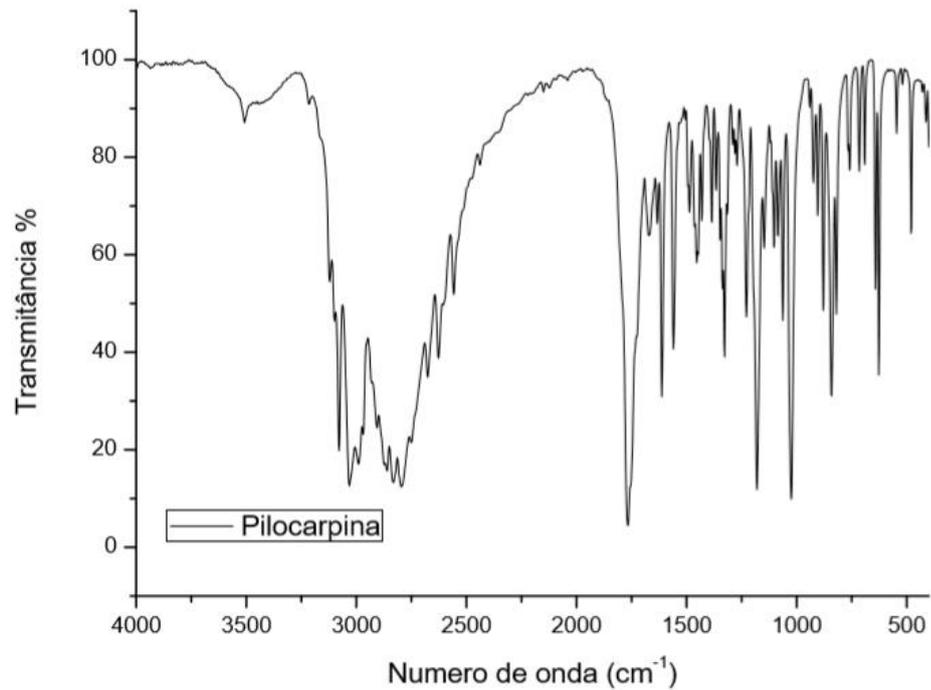
Concentração das formulações	Concentração de Pectina de casca de Frutas cítricas (w.v)	Concentração de NaHCO ₃ (mM)	Concentração de CaCO ₃ (mM)	Concentração da Pilocarpina	Tempo de Gelificação (min)
Formulação 1	4 %	95 mM	40 mM	1%	8
Formulação Controle	4 %	95 mM	40 mM	N/A	5

5.4 CONTEÚDO DE DROGA E CARACTERIZAÇÃO DO HIDROGEL

Inicialmente, para facilitar a identificação das bandas, amostras de pectina cítrica (em pó) e da Pilocarpina (cristal) foram analisadas no FTIR e estão representadas nas figuras 9 e 10, respectivamente, onde o eixo x representa o número de onda e o eixo y a transmitância. Em ambas foi possível identificar os grupos característicos de cada uma, corroborando com o que está presente na literatura. A partir das bandas fornecidas, foi realizado o FTIR das amostras de hidrogel com e sem o fármaco, representados na figura 11. Todavia, não ficou clara a presença do fármaco no hidrogel.

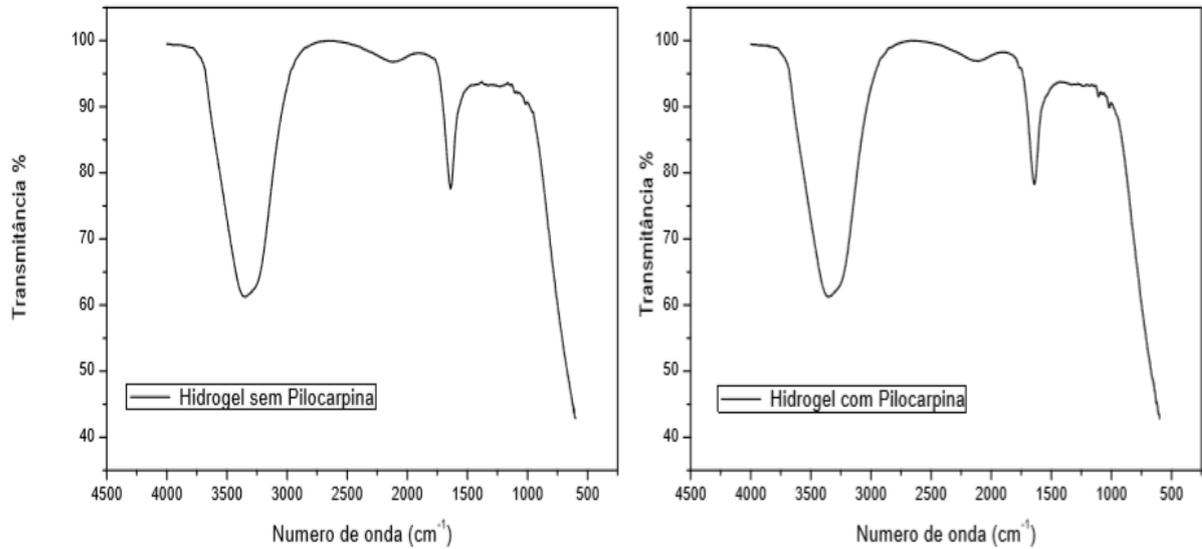
Figura 9 - Espectroscopia no infravermelho da Pectina Cítrica.

Fonte: Autor.

Figura 10 - Espectroscopia no Infravermelho da Pilocarpina.

Fonte: Autor.

Figura 11 - Espectroscopia no infravermelho do Hidrogel de pectina com e sem Pilocarpina.

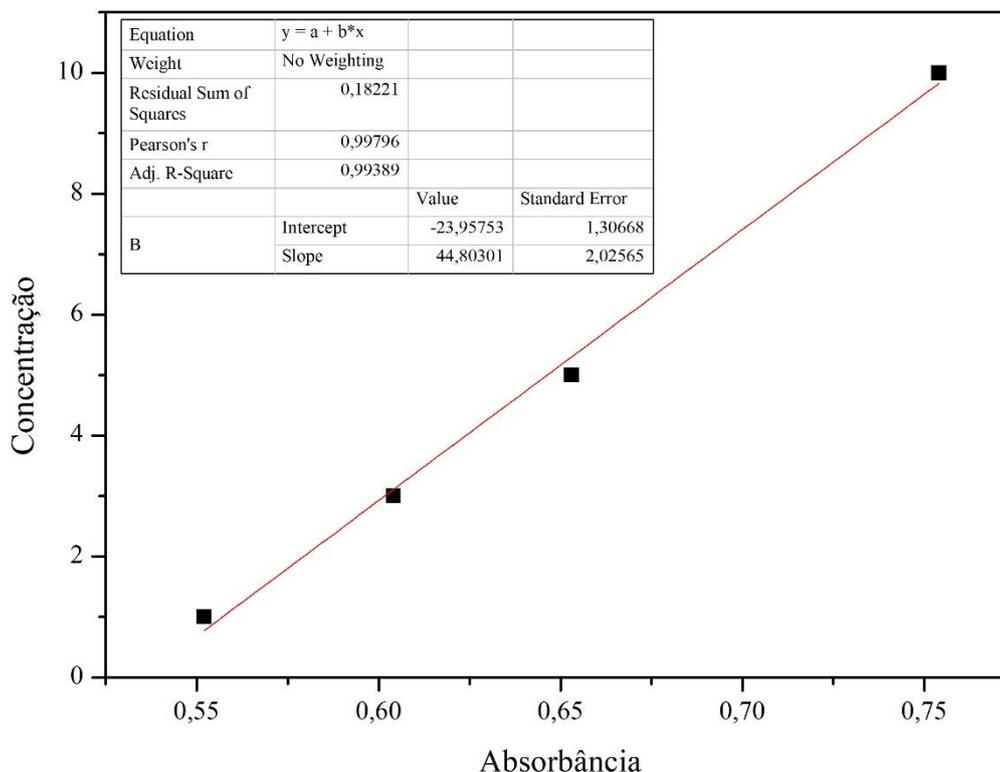


Fonte: Autor.

5.5 ANÁLISE DA LIBERAÇÃO CONTROLADA

5.5.1 Curva de Calibração

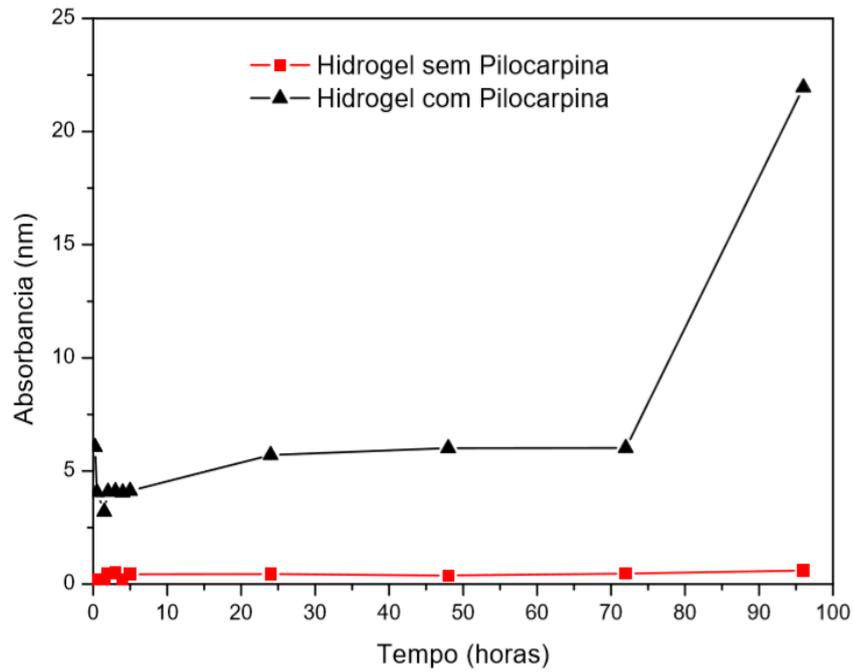
A figura 11 representa a curva de calibração obtida da pilocarpina, na qual está representado no eixo x a concentração e no y a absorvância da mesma. De forma geral, a partir da absorvância é possível inferir a concentração do composto (nesse caso da pilocarpina), sendo possível observar que o valor de R, tanto usando a correlação de Pearson como o valor de R ajustado, atingiu valores aceitáveis (acima de 0.90 - 1.00), com um valor de 99,6%. O valor de R ajustado é basicamente uma reavaliação do valor de R, com alguns cálculos, que oferece mais confiabilidade ao valor. No gráfico também está representado os valores das variáveis 'a' e 'b' da equação, tendo seus valores representados como *intercept* e *slope* respectivamente, juntamente com seus possíveis erros. Por fim, o desvio padrão é mostrado com um valor de 0,18221, sendo um desvio baixo, mostrando que a amostra é bem homogênea. Dessa forma, foi possível determinar o coeficiente de correlação da pilocarpina com eficiência no intervalo de 1 a 10 µg/ml.

Figura 12- Curva de Calibração da Pilocarpina

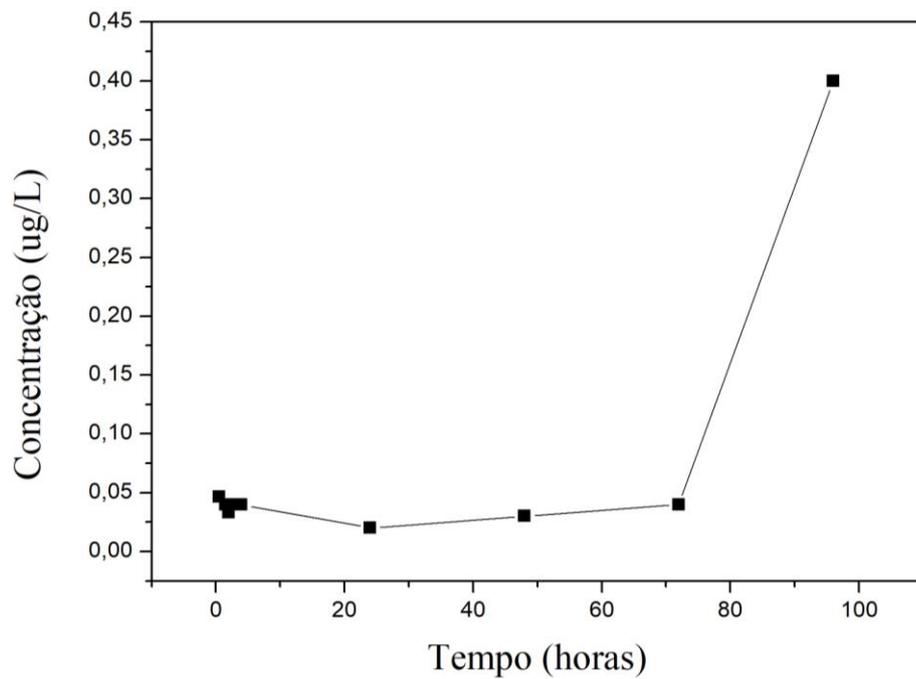
Fonte: Autor.

5.5.2 Ensaio de Liberação controlada

As figuras 12 e 13 representam a liberação da Pilocarpina em PBS nos intervalos de 15-5760 minutos. A figura 13 está correlacionando o tempo (eixo x) com a absorbância (eixo y) e a figura 14 a quantidade liberada (eixo y) com o tempo (eixo x). Observando os gráficos é possível concluir que foi possível obter uma liberação controlada da pilocarpina ao decorrer do tempo, até às 72 horas, ocorrendo um aumento progressivo da liberação do fármaco até chegar a 100% do conteúdo do hidrogel, enquanto no grupo controle, não se liberou nada, como esperado. A quantidade do pilocarpina liberada apresentou valores relativamente constantes, de 0,05 ug/L, além disso, durante a liberação foi possível observar a degradação completa do hidrogel até às 72 horas, que se dissolveu completamente no meio.

Figura 13 - Absorbância da liberação da pilocarpina no hidrogel nos intervalos de 0-96 horas.

Fonte: Autor.

Figura 14 - Concentração da Pilocarpina liberada nos intervalos de 0-96 horas.

Fonte: Autor.

6. DISCUSSÃO

Diversos estudos tem sido realizados para produzir hidrogéis para o tratamento do glaucoma capazes de liberar fármacos de forma progressiva na temperatura corporal (CHENG *et al.*, 2016, 2019; PRASANNAN *et al.*, 2014), como já foi explicitado anteriormente. Todavia, o uso de hidrogéis de pectina para esse fim ainda são pouco citados. No presente trabalho foi realizado a síntese e caracterização de um hidrogel de pectina para ser utilizado como um novo sistema de liberação controlada no tratamento do glaucoma. Inicialmente, foi possível verificar que as características de gelificação e viscosidade dos hidrogéis são influenciadas pela concentração do polímero, onde, no caso da pectina cítrica, apenas concentrações superiores a 2% apresentaram boas características aparentes reológicas.

Não obstante, dentre as pectinas avaliadas foi verificado que a pectina de maçã não formou um hidrogel, se apresentando como um líquido de fluxo livre a 25 °C (temperatura ambiente), ao contrário da pectina cítrica, que formou um gel rígido nessa temperatura, sendo assim mais adequada para as propostas deste estudo. Isso pode ter ocorrido pois a pectina de maçã é uma pectina com um alto grau de esterificação, fazendo com que seu mecanismo de obtenção do hidrogel exija um pH mais baixo e uma alta concentração de sólidos solúveis (MARCON *et al.*, 2005), o que tornou inviável sua aplicação neste trabalho, já que um pH próximo do pH da região ocular (7.11 ± 1.5) é de vital importância para a sua implementação na clínica, como demonstrado por Coles e Jaros (1984). Além disso, diversos outros fatores atuam em conjunto na obtenção do hidrogel, como a disponibilidade de íons cálcio fornecidos pelo CaCO_3 e o pH da solução, regulado pelo NaHCO_3 (STRÖM; SCHUSTER; GOH, 2014).

O pH da solução regula não só a salificação dos grupos carboxílicos da pectina, mas também a dissolução dos íons cálcio do CaCO_3 e sua ligação nos grupos carboxílicos. Dessa forma, esses íons cálcio irão formar ligações covalentes entre os grupos de ácido carboxílico livres ligando as cadeias de pectina subsequentes, o que forma uma rede tridimensional, comumente chamada de rede “caixa de ovo” devido ao seu formato semelhante, dessa forma, produzindo o hidrogel. Além disso, o uso de NaHCO_3 foi preferido no lugar de NaOH , já que foi constatado que o NaOH é capaz de precipitar e degradar as cadeias de AGaI com o aumento drástico no pH, comumente atribuído a bases fortes. Ao contrário do uso do NaHCO_3 que, por ser uma base fraca, pode controlar melhor a reação de conversão entre as formas ácidas do ácido carboxílico e sua forma salificada, a sua dissociação está representada na equação 1 (EDER;

LÜTZ-MEINDL, 2008; MOREIRA *et al.*, 2014; PADIVAL; RANGANNA; MANJREKAR, 1979).



Dessa forma, o pH mais próximo ao fisiológico obtido foi o da concentração de 96 mM, na presença do fármaco (6,52), mostrado na tabela 2, que é considerado apropriado para aplicações oftálmicas. Além disso, sabe-se que outras formulações com pH na faixa de 4,0 a 8,0 são toleradas devido as propriedades tamponantes das lágrimas (GÜVEN *et al.*, 2019; MANDAL *et al.*, 2012). O tempo e temperatura de gelificação foi determinados pelo método do tubo invertido, com resultados mostrados na tabela 3. A temperatura de transição sol-gel é aquela na qual se tem a transição do estado líquido para gel, neste caso o hidrogel de pectina apresentou uma temperatura de transição na temperatura ambiente (25°C), com um tempo de obtenção de 8 a 5 minutos. Por outro lado, se a temperatura de transição fosse alta (>37°C) a formulação iria permanecer no estado líquido na temperatura fisiológica, o que inviabilizaria sua aplicação (ALVES, 2016).

Esses fatos indicam uma permanência do hidrogel no estado de gel na sua aplicação e degradação na temperatura corporal. O aumento no tempo de transição na amostra teste provavelmente ocorreu devido ao aumento do pH da formulação, já que as pectinas cítricas preferem um pH levemente ácido para a formação do hidrogel. Esses resultados, associados à trabalhos sobre hidrogéis de pectina atualmente disponíveis, sugerem um comportamento tixotrópico das formulações, o que, em conjunto com a adesividade de hidrogéis de pectinas atualmente comprovadas na literatura, podem garantir uma boa fixação na região ocular (HANAFY; LEPORATTI; EL-KEMARY, 2019; MOREIRA *et al.*, 2014).

Na figura 9, que representa a espectroscopia da pectina cítrica, foi possível identificar as bandas típicas de grupos C-H entre 3000-2800 cm⁻¹, como demonstrado por Monfregola *et al.*, (2011) e absorção fortes e largas entre 3600 e 2500 cm⁻¹, sendo indicativos de estiramentos de grupos O-H nas ligações de hidrogênio inter e intramoleculares da cadeia de ácido galacturônico da pectina (KALAPATHY; PROCTOR, 2001). Também foi possível identificar com maior intensidade as bandas C=O em 1750 cm⁻¹ e o grupo desprotonado COO⁻ (1600-1650 cm⁻¹), que pode estar relacionado com o grau de esterificação da pectina, sendo de grande importância para suas propriedades, como explanado anteriormente (FELLAH *et al.*, 2009).

Na figura 10 está representada a espectroscopia da pilocarpina e nela foi possível identificar uma absorção forte entre 2800 e 3200 cm⁻¹, equivalente as bandas de estiramento do

grupo NH_2 de amina ligada ao carbono aromático. O sinal por volta de 1700 se refere ao estiramento típico de uma carbonila e por volta de 1600 cm^{-1} está presente a banda de ligação carbono-carbono ($\text{C}=\text{C}$) do tipo aromático, que representa a presença do segundo anel constituinte da molécula da pilocarpina, representada na figura 2. As absorções citadas corroboram com os resultados disponíveis na literatura (CORDEIRO *et al.*, 2017; ZOPPI *et al.*, 2012).

Na figura 11, que representa as amostras de hidrogel com e sem o fármaco, é possível identificar em ambas uma banda extensa em 3500 cm^{-1} , que provavelmente é referente a grande presença de água no hidrogel e ao estiramento de grupos O-H na estrutura da pectina. Todavia, não ficou clara a presença do fármaco na malha polimérica, sendo uma possível banda referente à ligação ($\text{COO}-$), localizada nos dois picos entre 1000-1500 cm^{-1} . Uma possível explicação para a não detecção da banda da pilocarpina seria a pequena quantidade acrescentada no hidrogel (1%), o que justificaria o fato do equipamento não identificar a concentração acrescentada. Apesar de não existirem trabalhos atualmente disponíveis que avaliem o limite de detecção da pilocarpina, usualmente, o mesmo pode variar com o tipo de fármaco e equipamento usado, por exemplo, no trabalho de Pandey *et al.*, (2012), a menor quantidade identificada pelo equipamento de FTIR, do antibiótico ciprofloxacina foi de 0.068 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Dessa forma, trabalhos futuros podem ser realizados para analisar o limite de detecção da pilocarpina e avaliar assim a menor concentração detectável do analito.

Na figura 12 foi possível observar que o valor de R apresentou um bom valor para um método linear, com coeficientes de correlação da pilocarpina maiores do que 0.9, e desvio padrão abaixo de 1%, sendo assim um valor aceitável como os recomendados pelo INMETRO (INMETRO, 2016). Todavia, a foto-sensibilidade da pilocarpina (SUNSHINE, 1969) prejudicou levemente a obtenção do valor do coeficiente de correlação, já que em contato com a luz, a mesma pode mudar um pouco a sua estrutura, também modificando sua absorbância pelo espectrofotômetro. Sabendo disso, tomou-se o cuidado de proteger as amostras seguintes da exposição à luz solar.

As figuras 13 e 14 representam a liberação da pilocarpina em PBS nos intervalos de 15-5760 minutos. A figura 13 correlaciona o tempo com a absorção e a figura 14 a quantidade liberada sobre o tempo. Observando os gráficos, é possível concluir que foi possível obter uma liberação controlada da pilocarpina até às 72 horas, quando em comparação com o grupo controle, posteriormente ocorrendo um aumento na liberação até liberar 100% do conteúdo do hidrogel. Durante a liberação foi possível observar a degradação completa do hidrogel até o final do ensaio, se dissolvendo completamente no meio. Esses resultados se mostram

satisfatórios quando em comparação à outros trabalhos presente na literatura, nos quais se realizou a liberação controlada de pilocarpina, como no de Silva (2017), onde foi realizada a síntese de um hidrogel de Poloxamer 407 com um mix de diferentes concentrações de polímeros com propriedades mucoadesivas (quitosana, goma karaya e goma do cajueiro), contendo cloridrato de pilocarpina para tratamento de xerostomia, obtendo a liberação de 100% das formulações aos 240 minutos de ensaio.

Além disso, no trabalho de Casolaro (2012), que produziu uma série de hidrogéis de vinil contendo α -aminoácidos (L-histidina e L-valina) para a liberação controlada de pilocarpina na região ocular, obteve em todas as formulações testadas, uma liberação “explosiva” do fármaco nas primeira 24 horas do ensaio de liberação controlada. Uma possível explicação para esse comportamento díspar do hidrogel deste trabalho, seriam as possíveis interações eletrostáticas entre a pilocarpina e os grupos ionizados do hidrogel. A pilocarpina apresenta um pKa de 7,2 em um pH fisiológico, como o usado no PBS (7,4), e, nesse meio, essa molécula está presente majoritariamente na forma neutra e positiva, dessa forma a mesma poderia interagir com mais afinidade com os grupos de ácido carboxílico livres presentes no hidrogel de pectina, tornando assim sua liberação mais controlada (CASOLARO; CASOLARO; LAMPONI, 2012; MELOUN; ČERNOHORSKÝ, 2000).

Portanto, é possível concluir que o hidrogel de pectina pode ser considerado como um material promissor na liberação controlada de pilocarpina, sendo necessário avaliar em trabalhos futuros, como seria sua interação com organismos biológicos, por meio de testes *in-vitro* e *in-vivo*. Além disso, outras análises que são muito importantes na caracterização de hidrogéis, como testes de viscosidade e de degradação da malha polimérica (reologia e termogravimetria respectivamente). E em substituição ao uso do FTIR, o uso de um HPLC (do inglês: *High performance liquid chromatography*), poderia ajudar na detecção com maior especificidade do fármaco, já que o mesmo não foi identificado por meio do uso da primeira técnica. Assim, o uso dessas técnicas também ajudaria a entender melhor como funciona o comportamento desse material.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dessa forma, é possível concluir que o hidrogel de pectina a uma concentração de 4% conseguiu liberar a pilocarpina (1%) de forma controlada, por até 3 dias, se auto-degradando completamente no PBS. Sendo uma possível explicação para isso o mecanismo de interação entre a pilocarpina e os grupos de ácido carboxílico da pectina. Apesar de as análises de FTIR não deixarem evidentes a presença do fármaco no hidrogel, foi-se observada uma clara diferença entre os grupos controle e teste quando analisados no espectrofotômetro, cuja não detecção provavelmente se deu devido à baixa concentração do fármaco presente no hidrogel, impossibilitando assim sua detecção. Além disso, o hidrogel apresentou boas características aparentes de viscosidade e gelificação à temperatura ambiente, com uma degradação a 37 °C, sendo bastante solúvel em água. Tendo em vista o mencionado, o hidrogel de pectina pode ser considerado como um sistema promissor para a liberação controlada da pilocarpina na região ocular, não apenas pelo período de liberação, mas também pelo preço de aquisição dos materiais e alto nível de biocompatibilidade da pectina exposto na literatura.

REFERÊNCIAS

- ABREU, I. N. *et al.* Metabolic alterations in different developmental stages of *Pilocarpus microphyllus*. **Planta Medica**, Nova York, v. 77, n. 3, p. 293–300, 2011.
- ALENCAR, G. D. O. *et al.* Liberação Prolongada De Fármacos E Suas Aplicações Farmacológicas: Revisão Sistemática. **Revista E-Ciência**, v. 6, n. 1, 25 jul. 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.19095/rec.v6i1.317>>. Acesso em: 25 ago. 2020.
- ALMEIDA, J. P.; KOWALSKI, L. P. Pilocarpine used to treat xerostomia in patients submitted to radioactive iodine therapy: A pilot study. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 76, n. 5, p. 659–662, 2010. Disponível em: <<http://www.bjorl.org/>>. Acesso em: 25 ago. 2020.
- ALVES, T. F. R. **Desenvolvimento E Avaliação De Hidrogéis Termorresponsivos Para Administração Vaginal E Veiculação De Curcumina**. 2016. 139 f. Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de Sorocaba, São Paulo, 2016.
- ANDRADE SOUTO-MAIOR, J. F. *et al.* Phosphated crosslinked pectin as a potential excipient for specific drug delivery: Preparation and physicochemical characterization. **Polymer International**, v. 59, n. 1, p. 127–135, jan. 2010.
- ANDREW, N. H.; AKKACH, S.; CASSON, R. J. A review of aqueous outflow resistance and its relevance to microinvasive glaucoma surgery. **Survey of Ophthalmology**, v. 65, n. 1, p. 18–31, 1 jan. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2019.08.002>>. Acesso em: 26 ago. 2020.
- ANUMOLU, S. N. S. *et al.* Design and evaluation of novel fast forming pilocarpine-loaded ocular hydrogels for sustained pharmacological response. **Journal of Controlled Release**, v. 137, n. 2, p. 152–159, 20 jul. 2009. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2694223/?report=abstract>>. Acesso em: 25 ago. 2020.
- ARARUNA, M. K. A. *et al.* Evaluation of antibiotic & antibiotic modifying activity of pilocarpine & rutin. **Indian Journal of Medical Research**, v. 135, n. 2, p. 252–254, fev. 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3336860/>>. Acesso em: 31 ago. 2020.
- ASHLEY, G. W. *et al.* Hydrogel drug delivery system with predictable and tunable drug release and degradation rates. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, n. 6, p. 2318–2323, 5 fev. 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23345437/>>. Acesso em: 1 set. 2020.
- ÁVILA, M.; ALVES, M.; NISHI AM. **As condições de saúde ocular no Brasil**. 1. ed. São Paulo: Conselho Brasileiro de Oftalmologia, 2015. Disponível em: <http://www.cbo.net.br/novo/publicacoes/Condicoes_saude_ocular_IV.pdf>. Acesso em: 24 ago. 2020.
- BADAWI, A. H. *et al.* Primary congenital glaucoma: An updated review. **Saudi Journal of**

Ophthalmology, v. 33, n. 4, p. 382–388, 1 out. 2019. Disponível em: </pmc/articles/PMC6950954/?report=abstract>. Acesso em: 27 ago. 2020.

BAHRAM, M.; MOHSENI, N.; MOGHTADER, M. An Introduction to Hydrogels and Some Recent Applications. **Emerging Concepts in Analysis and Applications of Hydrogels**, 24 ago. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5772/64301>. Acesso em: 1 set. 2020.

BERNARDI, R. *et al.* Effect of pilocarpine mouthwash on salivary flow. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, n. 1, p. 105–110, 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2002000100015&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. Acesso em: 31 ago. 2020.

BHATTARAI, S.; OH, T.-J.; HWA JANG, J. Enzymatic Extraction of Pilocarpine from *Pilocarpus jaborandi*. **Korean Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 41, n. 2, p. 236–241, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4014/kjmb.1303.03005pISSN1598-642XeISSN2234-7305>. Acesso em: 31 ago. 2020.

BIZERRA, A.; SILVA, V. Sistemas De Liberação Controlada: Mecanismos e aplicações | Revista Saúde e Meio Ambiente. **Revista Saúde e Meio Ambiente**, v. 3, n. 2, p. 1–12, 7 jul. 2016. Disponível em: <https://periodicos.ufms.br/index.php/sameamb/article/view/1943>. Acesso em: 25 ago. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Portaria Conjunta Nº 11, De 02 De Abril De 2018**. Imprensa Nacional. Brasília, DF: Ministério da Saúde. 2 abr. 2018. Disponível em: <https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/9579448/do1-2018-04-09-portaria-conjunta-n-11-de-02-de-abril-de-2018--9579444>. Acesso em: 27 ago. 2020.

CANTERI, M. H. G. *et al.* Pectina: da Matéria-Prima ao Produto Final. **Polimeros**, v. 22, n. 2, p. 149–157, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-14282012005000024>. Acesso em: 25 ago. 2020.

CASOLARO, M.; CASOLARO, I.; LAMPONI, S. Stimuli-responsive hydrogels for controlled pilocarpine ocular delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 80, n. 3, p. 553–561, 1 abr. 2012.

CHAIWIANG, N.; POYOMTIP, T. The association of toll-like receptor 4 gene polymorphisms with primary open angle glaucoma susceptibility: A meta-analysis. **Bioscience Reports**, v. 29, n. 4, 2 abr. 2019. Disponível em: </pmc/articles/PMC6443948/?report=abstract>. Acesso em: 26 ago. 2020.

CHANG, L. *et al.* A review of the medical treatment of pediatric glaucomas at Moorfields eye hospital. **Journal of Glaucoma**, v. 22, n. 8, p. 601–607, out. 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22411019/>. Acesso em: 31 ago. 2020.

CHEN, V. C. H. *et al.* Effects of selective serotonin reuptake inhibitors on glaucoma: A nationwide population-based study. **Plus One**, v. 12, n. 3, 1 mar. 2017. Disponível em: </pmc/articles/PMC5336262/?report=abstract>. Acesso em: 26 ago. 2020.

CHENG, Y. H. *et al.* Thermosensitive chitosan-based hydrogel as a topical ocular drug

delivery system of latanoprost for glaucoma treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 144, p. 390–399, 25 jun. 2016.

CHENG, Y. H. *et al.* Thermosensitive chitosan-gelatin-based hydrogel containing curcumin-loaded nanoparticles and latanoprost as a dual-drug delivery system for glaucoma treatment. **Experimental Eye Research**, v. 179, p. 179–187, 1 fev. 2019.

CHONKAR, A.; NAYAK, U.; UDUPA, N. Smart Polymers in Nasal Drug Delivery. **Indian journal of pharmaceutical sciences**, v. 77, n. 4, p. 367–75, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26664051>>. Acesso em: 3 set. 2020.

COLES, W. H.; JAROS, P. A. Dynamics of ocular surface pH. **British Journal of Ophthalmology**, v. 68, n. 8, p. 549–552, 1984. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC1040411/?report=abstract](http://pmc/articles/PMC1040411/?report=abstract)>. Acesso em: 21 set. 2020.

CONLON, R.; SAHEB, H.; AHMED, I. I. K. Glaucoma treatment trends: a review. **Canadian Journal of Ophthalmology**, v. 52, n. 1, p. 114–124, 1 fev. 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28237137/>>. Acesso em: 25 ago. 2020.

CORDEIRO, M. S. F. *et al.* Biopolymers and pilocarpine interaction study for use in drug delivery systems (DDS). **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 127, n. 2, p. 1777–1785, 1 fev. 2017. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s10973-016-5796-9>>. Acesso em: 21 set. 2020.

DAFE, A. *et al.* Investigation of pectin/starch hydrogel as a carrier for oral delivery of probiotic bacteria. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 97, p. 536–543, 1 abr. 2017.

DE CASTRO, A. N. B. V.; MESQUITA, W. A. Noncompliance with drug therapy of glaucoma: A review about intervening factors. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 3, p. 453–459, jul. 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1984-82502009000300010&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. Acesso em: 25 ago. 2020.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**. 3. ed. [S.l.: s.n.], 2009. Disponível em: <<https://www.wiley.com/en-us/Medicinal+Natural+Products%3A+A+Biosynthetic+Approach%2C+3rd+Edition-p-9780470741689>>. Acesso em: 31 ago. 2020.

EDER, M.; LÜTZ-MEINDL, U. Pectin-like carbohydrates in the green alga *Micrasterias* characterized by cytochemical analysis and energy filtering TEM. **Journal of Microscopy**, v. 231, n. 2, p. 201–214, 1 ago. 2008. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2818.2008.02036.x>>. Acesso em: 17 set. 2020.

FARAG, A. M. *et al.* Comparing the effectiveness and adverse effects of pilocarpine and cevimeline in patients with hyposalivation. **Oral Diseases**, v. 25, n. 8, p. 1937–1944, 8 nov. 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/odi.13192>>. Acesso em: 31 ago. 2020.

FELLAH, A. *et al.* Determining the degree of methylesterification of pectin by ATR/FT-IR:

- Methodology optimisation and comparison with theoretical calculations. **Carbohydrate Polymers**, v. 78, n. 4, p. 847–853, 17 nov. 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861709003609>>. Acesso em: 21 set. 2020.
- FILIPE, H. P. *et al.* Contact lenses as drug controlled release systems: A narrative review. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 75, n. 3, p. 241–247, 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-72802016000300241&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. Acesso em: 1 set. 2020.
- FLORENCE, A. T.; JANI, P. U. Novel Oral Drug Formulations: Their Potential in Modulating Adverse Effects. **Drug Safety**, v. 10, n. 3, p. 233–266, 1994. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8043223/>>. Acesso em: 1 set. 2020.
- FRONZA, T.; CAMPOS, A.; TEIXEIRA, H. Nanoemulsões como Sistemas de Liberação para Fármacos Oftálmicos. **Acta Farm. Bonaerense**, v. 23, n. 4, p. 558–66, 2004.
- GANCZ, K.; ALEXANDER, M.; CORREDIG, M. In situ study of flocculation of whey protein-stabilized emulsions caused by addition of high methoxyl pectin. **Food Hydrocolloids**, v. 20, n. 2- 3 SPEC. ISS., p. 293–298, mar. 2006.
- GAWKOWSKA, D.; CYBULSKA, J.; ZDUNEK, A. Structure-related gelling of pectins and linking with other natural compounds: A review. **Polymers**, v. 10, n. 7, 11 jul. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30000000/>>. Acesso em: 2 set. 2020.
- GOEL, M. . *et al.* Aqueous Humor Dynamics: A Review. **The Open Ophthalmology Journal**, v. 4, n. 1, p. 52–59, 22 set. 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20000000/>>. Acesso em: 26 ago. 2020.
- GRASER, M. **Química farmacêutica**. [S.l.]: Melhoramentos, 1968. v. 1. Disponível em: <[http://doi.wiley.com/10.1002/ardp.19683010425](https://doi.org/10.1002/ardp.19683010425)>. Acesso em: 31 ago. 2020.
- GRECO, A. *et al.* Emerging Concepts in Glaucoma and Review of the Literature. **The American Journal of Medicine**, v. 129, n. 9, p. 7–13, set. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.amjmed.2016.03.038>>. Acesso em: 26 ago. 2020.
- GREWE, R. Zur Geschichte des Glaukoms. **Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde**, v. 188, n. 02, p. 167–169, 11 fev. 1986. Disponível em: <<http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-2008-1050606>>. Acesso em: 24 ago. 2020.
- GÜVEN, U. M. *et al.* Development and in vitro/in vivo evaluation of thermo-sensitive in situ gelling systems for ocular allergy. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 55, 23 set. 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/s2175-97902019000117511>>. Acesso em: 21 set. 2020.
- GUYTON, A. C. .; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.
- HANAFY, N.; LEPORATTI, S.; EL-KEMARY, M. Mucoadhesive Hydrogel Nanoparticles as Smart Biomedical Drug Delivery System. **Applied Sciences**, v. 9, n. 5, p. 825, 26 fev. 2019. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/2076-3417/9/5/825>>. Acesso em: 21 set. 2020.

HANN, C. R.; FAUTSCH, M. P. Recent Developments in Understanding the Role of Aqueous Humor Outflow in Normal and Primary Open Angle Glaucoma. **Current Ophthalmology Reports**, v. 3, n. 2, p. 67–73, 1 jun. 2015. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC4520696/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26111111/)>. Acesso em: 26 ago. 2020.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA – INMETRO. NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**. Rio de Janeiro: INMETRO, 2011. (DOQ-CGCRE-008).

JAIN, N.; VERMA, A.; JAIN, N. Formulation and investigation of pilocarpine hydrochloride niosomal gels for the treatment of glaucoma: intraocular pressure measurement in white albino rabbits. **Drug Delivery**, v. 27, n. 1, p. 888–899, 1 jan. 2020. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10717544.2020.1775726>>. Acesso em: 25 ago. 2020.

JÄRVINEN, T. *et al.* Determination of physicochemical properties, stability in aqueous solutions and serum hydrolysis of pilocarpic acid diesters. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 9, n. 9, p. 737–745, 1 jan. 1991. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/073170859180215U>>. Acesso em: 31 ago. 2020.

JARVIS, M. C.; FORSYTH, W.; DUNCAN, H. J. A Survey of the Pectic Content of Nonlignified Monocot Cell Walls. **Plant Physiol**, v. 88, p. 309–314, 1988. Disponível em: <www.plantphysiol.org>. Acesso em: 2 set. 2020.

JENSEN, S. B. *et al.* Systematic review of miscellaneous agents for the management of oral mucositis in cancer patients. **Supportive Care in Cancer**, v. 21, n. 11, p. 3223–3232, nov. 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23900593/>>. Acesso em: 31 ago. 2020.

JONAS, J. B. *et al.* Glaucoma. **The Lancet**, v. 390, n. 10108, p. 2183–2193, 11 nov. 2017. Disponível em: <<http://www.thelancet.com/article/S0140673617314691/fulltext>>. Acesso em: 24 ago. 2020.

JUNG, J.; ARNOLD, R. D.; WICKER, L. Pectin and charge modified pectin hydrogel beads as a colon-targeted drug delivery carrier. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 104, p. 116–121, 1 abr. 2013.

KALAPATHY, U.; PROCTOR, A. Effect of acid extraction and alcohol precipitation conditions on the yield and purity of soy hull pectin. **Food Chemistry**, v. 73, n. 4, p. 393–396, jun. 2001.

KHOTIMCHENKO, M. Pectin polymers for colon-targeted antitumor drug delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 158, p. 1110–1124, 1 set. 2020.
KING, A.; AZUARA-BLANCO, A.; TUULONEN, A. Glaucoma. **BMJ**, v. 346, n. 7912, 20 jun. 2013. Disponível em: <<https://www.bmj.com/content/346/bmj.f3518>>. Acesso em: 26 ago. 2020.

KIRCHHOF, S.; GOEPFERICH, A. M.; BRANDL, F. P. Hydrogels in ophthalmic applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 95, n. Pt B, p.

227–238, 1 set. 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26032290/>>. Acesso em: 1 set. 2020.

LAFFLEUR, F.; KECKEIS, V. Advances in drug delivery systems: Work in progress still needed? **International Journal of Pharmaceutics**, v. 2, 1 dez. 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39111111/>>. Acesso em: 1 set. 2020.

LANGER, R. Drug delivery and targeting - PubMed. **Nature**, p. 5–10, 1998. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9579855/>>. Acesso em: 1 set. 2020.

LARA-ESPINOZA, C. *et al.* Pectin and pectin-based composite materials: Beyond food texture. **Molecules**, v. 23, n. 4, 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31111111/>>. Acesso em: 3 set. 2020.

LATIMER, K. *et al.* Insight into glaucoma treatment in the early 1900s: Harvey Cushing's 1905 operation. **Archives of Ophthalmology**, v. 130, n. 4, p. 510–513, 1 abr. 2012. Disponível em: <<https://jamanetwork.com/>>. Acesso em: 24 ago. 2020.

LEFFLER, C. T. *et al.* The early history of glaucoma: The glaucous eye (800 BC to 1050 AD). **Clinical Ophthalmology**, v. 9, p. 207–215, 2 fev. 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26032290/>>. Acesso em: 24 ago. 2020.

LI, J.; MOONEY, D. J. Designing hydrogels for controlled drug delivery. **Nature Reviews Materials**, v. 1, n. 12, 18 out. 2016. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31111111/>>. Acesso em: 25 ago. 2020.

LI, X.; ZHANG, Z.; CHEN, H. Development and evaluation of fast forming nano-composite hydrogel for ocular delivery of diclofenac. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 448, n. 1, p. 96–100, 1 maio 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23524120/>>. Acesso em: 1 set. 2020.

LIECHTY, W. B. *et al.* Polymers for drug delivery systems. **Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering**, v. 1, p. 149–173, 15 jul. 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22432577/>>. Acesso em: 1 set. 2020.

LOUREIRO, F. L. B.; DA FÉLIX, K. A. C. Clinical and epidemiological profile of patients with glaucoma attended at a clinic in the interior of the amazon. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 79, n. 1, p. 12–20, 1 jan. 2020. Disponível em: <<https://orcid.org/0000-0002-2231-9835>>. Acesso em: 24 ago. 2020.

LUPI, F. R. *et al.* Rheological investigation of pectin-based emulsion gels for pharmaceutical and cosmetic uses. **Rheologica Acta**, v. 54, n. 1, p. 41–52, 1 jan. 2015.

MAAT, L.; BEYERMAN, H. C. Chapter 5 The Imidazole Alkaloids. **Alkaloids: Chemistry and Pharmacology**, v. 22, n. C, p. 281–333, 1 jan. 1984.

MACHA, I. J. *et al.* Drug Delivery From Polymer-Based Nanopharmaceuticals—An Experimental Study Complemented by Simulations of Selected Diffusion Processes. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 7, 8 mar. 2019. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fbioe.2019.00037/full>>. Acesso em: 25 ago.

2020.

MACKNELLY, A.; DAY, J. A survey of techniques to reduce and manage external beam radiation-induced xerostomia in British oncology and radiotherapy departments.

Radiography, v. 15, n. 4, p. 283–291, 1 nov. 2009. Disponível em:

<<http://www.radiographyonline.com/article/S1078817409000030/fulltext>>. Acesso em: 31 ago. 2020.

MAHNAMA, A.; NOURBAKHS, A.; GHORBANIASL, G. A Survey on the Applications of Implantable Micropump Systems in Drug Delivery. **Current Drug Delivery**, v. 11, n. 1, p. 123–131, 25 mar. 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24533725/>>.

Acesso em: 31 ago. 2020.

MANDAL, S. *et al.* Formulation and evaluation of an in situ gel-forming ophthalmic formulation of moxifloxacin hydrochloride. **International Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 2, n. 2, p. 82, 2012. Disponível em:

<[/pmc/articles/PMC3482769/?report=abstract](http://pmc/articles/PMC3482769/?report=abstract)>. Acesso em: 21 set. 2020.

MARCON, M. V. *et al.* Pectins from apple pomace. **Polímeros**, v. 15, n. 2, p. 127–129, jun. 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-14282005000200012&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. Acesso em: 21 set. 2020.

MARKOV, P. A. *et al.* Mechanical properties of the pectin hydrogels and inflammation response to their subcutaneous implantation. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 107, n. 9, p. 2088–2098, 22 set. 2019. Disponível em:

<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jbm.a.36721>>. Acesso em: 3 set. 2020.

MAY, C. D. Industrial pectins: Sources, production and applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 12, n. 1, p. 79–99, 1 jan. 1990.

MCMONNIES, C. W. Glaucoma history and risk factors. **Journal of Optometry**, v. 10, n. 2, p. 71–78, 1 abr. 2017. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC5383456/?report=abstract](http://pmc/articles/PMC5383456/?report=abstract)>. Acesso em: 27 ago. 2020.

MELLINAS, C. *et al.* Recent trends in the use of pectin from agro-waste residues as a natural-based biopolymer for food packaging applications. **Materials**, v. 13, n. 3, p. 673, 1 fev. 2020. Disponível em: <www.mdpi.com/journal/materials>. Acesso em: 2 set. 2020.

MELLO, J. O. **Desenvolvimento de uma nova metodologia de extração para análise do teor de Pilocarpina das folhas do Jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*) utilizando fatores fracionados**. 2011. 83 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Química) - Universidade de São Paulo, Lorena, 2011. Disponível em: <<https://sistemas.eel.usp.br/bibliotecas/monografias/2011/MEQ11005.pdf>>. Acesso em: 25 ago. 2020.

MELOUN, M.; ČERNOHORSKÝ, P. Thermodynamic dissociation constants of isocaine, physostigmine and pilocarpine by regression analysis of potentiometric data. **Talanta**, v. 52, n. 5, p. 931–945, 16 ago. 2000.

MICARD, V.; RENARD, C. M. G. C.; THIBAUT, J. F. Enzymatic saccharification of

sugar-beet pulp. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 19, n. 3, p. 162–170, 15 ago. 1996.

MITTAL, N.; KAUR, G. In situ gelling ophthalmic drug delivery system: Formulation and evaluation. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 131, n. 2, p. n/a-n/a, 15 jan. 2014. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/app.39788>>. Acesso em: 3 set. 2020.

MONFREGOLA, L. *et al.* Physical and water sorption properties of chemically modified pectin with an environmentally friendly process. **Biomacromolecules**, v. 12, n. 6, p. 2311–2318, 13 jun. 2011. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bm200376c>>. Acesso em: 21 set. 2020.

MOREIRA, H. R. *et al.* Injectable pectin hydrogels produced by internal gelation: PH dependence of gelling and rheological properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 103, n. 1, p. 339–347, 15 mar. 2014.

NEUFELD, L.; BIANCO-PELED, H. Pectin–chitosan physical hydrogels as potential drug delivery vehicles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 101, p. 852–861, 1 ago. 2017.

NOKHODCHI, A.; HENTZSCHEL, C. M.; LEOPOLD, C. S. Drug release from liquisolid systems: Speed it up, slow it down. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 8, n. 2, p. 191–205, fev. 2011. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1517/17425247.2011.548801>>. Acesso em: 1 set. 2020.

NOREEN, A. *et al.* Pectins functionalized biomaterials; a new viable approach for biomedical applications: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 101, p. 254–272, 1 ago. 2017.

NORTHCOTE, D. H. Chemistry of the Plant Cell Wall. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 23, n. 1, p. 113–132, 28 jun. 1972. Disponível em: <<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.pp.23.060172.000553>>. Acesso em: 2 set. 2020.

NUSAIR, S.; RUBINOW, A. The use of oral pilocarpine in xerostomia and Sjogren's syndrome. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, v. 28, n. 6, p. 360–367, 1999. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10406404/>>. Acesso em: 31 ago. 2020.

OAKENFULL, D.; SCOTT, A. Hydrophobic Interaction in the Gelation of High Methoxyl Pectins. **Journal of Food Science**, v. 49, n. 4, p. 1093–1098, 1 jul. 1984. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2621.1984.tb10401.x>>. Acesso em: 2 set. 2020.

OLIVEIRA, A. DO N. **Pectinas De Casca De Manga (Mangífera Índica L.) Cv. Ubá: Otimização Da Extração, Caracterização Físico-Química e Avaliação Das Propriedades Espessantes e Gelificantes**. 2013. 174 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

PADIVAL, R. A.; RANGANNA, S.; MANJREKAR, S. P. Mechanism of gel formation by low methoxyl pectins. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 14, n. 3, p.

277–287, 28 jun. 1979. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.1979.tb00871.x>>. Acesso em: 18 set. 2020.

PAN, Y. Pilocarpine on the Clinical Research in Treating Glaucoma. 1 jan. 2014, [S.l.]: **Atlantis Press**, 1 jan. 2014. p. 260–262. Disponível em: <<https://www.atlantispress.com/proceedings/gecss-14/10984>>. Acesso em: 25 ago. 2020.

PANDEY, A. N. Secondary Glaucoma: A Review. **EC Ophthalmology**, v. 9, p. 243–245, 27 mar. 2018.

PANDEY, S. *et al.* FTIR spectroscopy: A tool for quantitative analysis of ciprofloxacin in tablets. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 74, n. 1, p. 86–90, jan. 2012. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22111111/>>. Acesso em: 22 set. 2020.

PARK, K. *et al.* Induction of heat shock protein 72 protects retinal ganglion cells in a rat glaucoma model - PubMed. **Invest Ophthalmol Vis Sci**, v. 42, n. 7, jun. 2001. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11381056/>>. Acesso em: 26 ago. 2020.

PEREIRA, R. F. *et al.* A single-component hydrogel bioink for bioprinting of bioengineered 3D constructs for dermal tissue engineering. **Materials Horizons**, v. 5, n. 6, p. 1100–1111, 1 nov. 2018. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2018/mh/c8mh00525g>>. Acesso em: 3 set. 2020.

PÉREZ, S.; RODRÍGUEZ-CARVAJAL, M. A.; DOCO, T. A complex plant cell wall polysaccharide: Rhamnogalacturonan II. A structure in quest of a function. **Biochimie**, v. 85, n. 1–2, p. 109–121, 4 fev. 2003.

PESCOSOLIDO, N. *et al.* Role of dopaminergic receptors in glaucomatous disease modulation. **BioMed Research International**, v. 2013, jun. 2013.

PRASANNAN, A. *et al.* A thermally triggered in situ hydrogel from poly(acrylic acid-co-N-isopropylacrylamide) for controlled release of anti-glaucoma drugs. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 2, n. 14, p. 1988–1997, 14 abr. 2014. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2014/tb/c3tb21360a>>. Acesso em: 17 set. 2020.

QUIGLEY, H. A. Glaucoma. **The Lancet**, v. 377, n. 9774, p. 1367–1377, 16 abr. 2011.

QUIGLEY, H.; BROMAN, A. T. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. **British Journal of Ophthalmology**, v. 90, n. 3, p. 262–267, mar. 2006.

RIBEIRO, M. V. M. R. *et al.* Adherence assessment of eye drops in patients with glaucoma using 8 item Morisky Score: A cross sectional study. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 75, n. 6, p. 432–437, 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-72802016000600432&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. Acesso em: 25 ago. 2020.

SADEGHI, M. Pectin-Based Biodegradable Hydrogels with Potential Biomedical Applications as Drug Delivery Systems. **Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology**, v. 02, n. 01, p. 36–40, 2011.

RODRIGUES, G.M.; SILVA, C. Extração Ácida De Pectina De Casca De Maracujá Amarelo Assistida por Ultrassom. **Revista E-Xacta**. v. 10, n. 01. 2017.

SATO, M. DE F. *et al.* Caracterização química e instrumental de pectinas isoladas de bagaço de 11 cultivares de maçã. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 33, n. 3, p. 383–389, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1807-86212011000300001&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. Acesso em: 2 set. 2020.

SAWAYA, A. C. H. F. *et al.* Screening species of *Pilocarpus* (Rutaceae) as sources of pilocarpine and other imidazole alkaloids. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 58, n. 3, p. 471–480, mar. 2011.

SCHELLACK, N.; SCHELLACK, G.; BEZUIDENHOU, S. Glaucoma: A brief review. **SA Pharmaceutical Journal**, v. 85, n. 5, p. 18–22, jan. 2015. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/282792352_Glaucoma_A_brief_review>. Acesso em: 26 ago. 2020.

SILVA, C. M. B. **Formulação De Gel Termossensível Mucoadesivo Contendo Cloridrato De Pilocarpina Para Tratamento De Xerostomia**. 2017. 87f. Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

SOUZA FILHO, J. P. DE *et al.* A evolução do mercado farmacêutico brasileiro no tratamento do glaucoma nos últimos 30 anos. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 66, n. 6, p. 811–817, dez. 2003. Disponível em: <www.ai.com.br>. Acesso em: 31 ago. 2020.

SOWJANYA, M. *et al.* Polymers used in the Designing of Controlled Drug Delivery System. **Research Journal of Pharmacy and Technology**, v. 10, n. 3, p. 912, 28 jan. 2017.

SPAETH, G. L. *et al.* Pilocarpine: The Dosage Dogma. **Current Journal of Glaucoma Practice with DVD**, p. 4–7, maio 2009.

SRIAMORNSAK, P.; WATTANAKORN, N.; TAKEUCHI, H. Study on the mucoadhesion mechanism of pectin by atomic force microscopy and mucin-particle method. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n. 1, p. 54–59, 5 jan. 2010.

STRÖM, A.; SCHUSTER, E.; GOH, S. M. Rheological characterization of acid pectin samples in the absence and presence of monovalent ions. **Carbohydrate Polymers**, v. 113, p. 336–343, 26 nov. 2014.

SUN, X. *et al.* Primary angle closure glaucoma: What we know and what we don't know. **Progress in Retinal and Eye Research**, v. 57, p. 26–45, 1 mar. 2017.

SUNG, Y. K.; KIM, S. W. Recent advances in polymeric drug delivery systems. **Biomaterials Research**, v. 24, n. 1, p. 1–12, 6 dez. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s40824-020-00190-7>>. Acesso em: 25 ago. 2020.

SUNGTHONGJEEN, S. *et al.* Studies on pectins as potential hydrogel matrices for controlled-release drug delivery. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 25, n. 12, p. 1271–1276, 1999. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10612023/>>. Acesso em: 2 set. 2020.

SUNSHINE, I. **Handbook of analytical toxicology**. Cleveland: Chemical Rubber Co., 1969. Disponível em: <<https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300471172>>. Acesso em: 6 out. 2020

THOMAS, C. N. *et al.* Caspases in retinal ganglion cell death and axon regeneration. **Cell Death Discovery**, v. 3, n. 1, p. 1–13, 4 dez. 2017. Disponível em: <www.nature.com/cddiscovery>. Acesso em: 26 ago. 2020.

THYLEFORS, B.; NEGREL, A. D. The global impact of glaucoma. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 72, n. 3, p. 323–326, 1994. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC2486713/?report=abstract](http://pmc/articles/PMC2486713/?report=abstract)>. Acesso em: 24 ago. 2020.

TIWARI, G. *et al.* Drug delivery systems: An updated review. **International Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 2, n. 1, p. 2, 2012. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23071954/>>. Acesso em: 1 set. 2020.

TRIVLI, A. *et al.* Normal-tension glaucoma: Pathogenesis and genetics (review). **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 17, n. 1, p. 563–574, 1 jan. 2019. Disponível em: <<http://www.spandidos-publications.com/10.3892/etm.2018.7011/abstract>>. Acesso em: 26 ago. 2020.

TSAI, T. *et al.* Role of heat shock proteins in glaucoma. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 20, 2 out. 2019. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC6834184/?report=abstract](http://pmc/articles/PMC6834184/?report=abstract)>. Acesso em: 26 ago. 2020.

VANITHA, T.; KHAN, M. Pectins - Extraction, Purification, Characterization and Applications. *In*: VANITHA, T.; KHAN, M. **Role of Pectin in Food Processing and Food Packaging**. [S.l.]: IntechOpen, 2020. Disponível em: <www.intechopen.com>. Acesso em: 2 set. 2020.

VASHIST, A. *et al.* Recent advances in hydrogel based drug delivery systems for the human body. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 2, n. 2, p. 147–166, 14 jan. 2014. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2014/tb/c3tb21016b>>. Acesso em: 1 set. 2020.

VICENTE, M.; SILVA, B. **Estudo Da Formação De Hidrogéis Da Blenda De Chia/Pectina Por Radiação Ionizante**. 2020. 88 f. Tese (Mestrado em Química) - Universidade Federal De Uberlândia, Uberlândia, 2020.

VON GRÄFE, A. Ueber die Iridectomie bei Glaucom und über den glaucomatösen Process. **Archiv für Ophthalmologie**, v. 3, n. 2, p. 456–555, set. 1857. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/BF02720732>>. Acesso em: 24 ago. 2020.

WEINREB, R. N. *et al.* Primary open-angle glaucoma. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 2, n. 1, p. 1–19, 22 set. 2016. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nrdp201667>>. Acesso em: 27 ago. 2020.

WEINREB, R. N.; AUNG, T.; MEDEIROS, F. A. The pathophysiology and treatment of glaucoma: A review. **JAMA - Journal of the American Medical Association**, v. 311, n. 18, p. 1901–1911, 2014. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC4523637/?report=abstract](http://pmc/articles/PMC4523637/?report=abstract)>. Acesso

em: 26 ago. 2020.

WICHTERLE, O.; LÍM, D. Hydrophilic Gels for Biological Use. **Nature**, v. 185, n. 4706, p. 117–118, 1960. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/185117a0>>. Acesso em: 1 set. 2020.

WICKER, L. *et al.* Pectin as a bioactive polysaccharide - Extracting tailored function from less. **Food Hydrocolloids**, v. 42, n. P2, p. 251–259, 5 dez. 2014.

WILSON, A. M. *et al.* ASPP1/2 regulate p53-dependent death of retinal ganglion cells through PUMA and Fas/CD95 activation In Vivo. **Journal of Neuroscience**, v. 33, n. 5, p. 2205–2216, 30 jan. 2013. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC6619125/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22349054/)>. Acesso em: 26 ago. 2020.

ZOPPI, A. *et al.* Studies of pilocarpine: Carbomer intermolecular interactions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 427, n. 2, p. 252–259, 10 maio 2012. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22349054/>>. Acesso em: 21 set. 2020.

GLOSSÁRIO

Adsorção	É a adesão de uma molécula à um fluido, conhecido como adsorvido, por uma superfície sólida, chamada de adsorvente.
Agonista	É uma substância capaz de se ligar a um receptor celular e gerar uma resposta biológica.
Alcaloide	É um conjunto de compostos de caráter básico, usualmente extraído de plantas.
Alíquotas	É a retirada de pequenos volumes de uma amostra de interesse para a análise.
Antígenos Endógenos	Quando o sistema imunológico reconhece alguma estrutura da pessoa como invasora, passando a tentar eliminar a mesma.
Apoptose	Evento de morte celular, usualmente ocorre de forma intencional e programada.
Assintomático	É a ausência de sintomas.
Autoimune	Processo em que, por uma falha, o sistema imunológico do paciente passa a se atacar.
Biocompatível	Algo que não causa danos ou elicitava uma resposta negativa pelo organismo.
Biodisponibilidade	Quantidade e tempo em que o fármaco vai estar realmente disponível no corpo para fazer sua ação no sítio alvo.
Coefficiente de Partição	Relação da concentração da substância em óleo e água, para analisar se o fármaco tem afinidade a um desses meios.
Colinérgico	Agente que imita a ação da acetilcolina.
Difundir	Fazer com que algo se espalhe para o exterior.
Difusão	Processo físico em que ocorre o transporte de uma substância de uma região mais concentrada para uma menos concentrada, esse processo usualmente ocorre a favor do gradiente de concentração.
Diluições seriadas	São diluições em série, ou seja, uma atrás da outra.
Dissolução	Ato de se dissolver, ou seja, de se misturar completamente.
Esterificação	Reação química entre um ácido carboxílico e álcool, produzindo éster e água.

Estresse Oxidativo	Condição biológica caracterizada pelo excesso de produção de radicais livres, usualmente sinalizando algum problema no organismo.
Heteropolissacarídeo	São polissacarídeos, ou seja, açúcares grandes formados por diferentes tipos de açúcares.
Hidrofílico	Se refere a afinidade de alguns compostos pela água.
Higroscópico	Material que absorve água do ar.
Homeostase	Manutenção do funcionamento normal do organismo.
Imidazólico	Composto químico aromático de fórmula: $C_3H_4N_2$.
Leucócitos	São as células de defesa do corpo humano, também conhecidas como glóbulos brancos.
Matriz	É uma dispersão ou solução, como um hidrogel, usualmente apresentando um fármaco dentro de si.
Meia-vida	Tempo necessário para a concentração de um fármaco no corpo de reduzir para a metade da concentração original.
Mucoadesivo	Algo que se liga ou adere a uma superfície com muco.
Muscarínico	É uma família de receptores celulares capazes de se ligar a acetilcolina.
Neurotransmissores	Substâncias produzida pelos neurônios para transmitir alguma informação para outras células, um deles é a acetilcolina.
Oclusão Fibrosa	É a obstrução de algo, impedindo um fluxo natural.
Osmose	Movimento da água de uma solução com mais soluto para uma solução com menos soluto.
Patologia	É a ciência que estuda as doenças.
Peptídeos	Estruturas formadas pela ligação de duas ou mais aminoácidos, geralmente eles não apresentam um grande tamanho, apresentando menos de 70 aminoácidos. Acima disso o mesmo passa a ser denominado como proteína.
Polímero	São macromoléculas formadas de partes menores chamadas monômeros, que se ligam entre si para formar o polímero.
Princípio Ativo	Componente responsável pelo efeito farmacológico do medicamento.
Reologia	Área da ciência que estuda as propriedades elásticas, viscosas e do escoamento da matéria (Principalmente dos fluidos).

Salificação	Nome dado a reação de neutralização entre um ácido e uma base.
Suspensões	É uma mistura formada por uma ou mais fases, também conhecida como heterogênea.
Tamponante	São substâncias capazes de controlar o pH, impedindo que ele varie muito.
Tixotrópico	Caracterizada pelo aumento da viscosidade quando o fluido está em estado de repouso e diminuição quando o mesmo está em estado de agitação (Sob pressão).
Visão periférica	Capacidade de ver objetos fora do campo de visão principal, ou seja, objetos ao lado do observador.