



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

FACULDADE DE FARMÁCIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

FLÁVIA ALMADA DO CARMO

PREPARO E AVALIAÇÃO DE FORMULAÇÕES TRANSDÉRMICAS DE
DOXAZOSINA PARA O TRATAMENTO DA HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA

Rio de Janeiro

2011

FLÁVIA ALMADA DO CARMO

PREPARO E AVALIAÇÃO DE FORMULAÇÕES TRANSDÉRMICAS DE
DOXAZOSINA PARA O TRATAMENTO DA HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Orientadores: Prof. Dr. Lucio Mendes Cabral

Prof^a. Dr^a. Patrizia Santi

Rio de Janeiro

2011

C287p Carmo, Flávia Almada do.

Preparo e avaliação de formulações transdérmicas de doxazosina para o tratamento da hiperplasia prostática benigna/ Flávia Almada do Carmo; orientadores Lucio Mendes Cabral, Patrizia Santi. -- Rio de Janeiro : UFRJ, Faculdade de Farmácia, 2011.

xvii, 110f. : il. col. ; 30cm.

Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Farmácia, 2011.

Inclui bibliografia.

1. Doxazosina. 2. Permeação transdérmica. 3. Hiperplasia prostática benigna. I. Cabral, Lucio Mendes. II. Santi, Patrizia. III. Título.

CDD 615.76

FLÁVIA ALMADA DO CARMO

PREPARO E AVALIAÇÃO DE FORMULAÇÕES TRANSDÉRMICAS DE
DOXAZOSINA PARA O TRATAMENTO DA HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em:

Orientador:

Prof. Dr. Lucio Mendes Cabral
Faculdade de Farmácia – UFRJ

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Alexandre dos Santos Pyrrho
Faculdade de Farmácia – UFRJ

Prof. Dr. Antônio Jorge Ribeiro da Silva
Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais – UFRJ

Prof. Dr. José Carlos Saraiva Gonçalves
Faculdade de Farmácia – UFRJ

Prof^ª. Dr^ª. Valéria Pereira de Sousa
Faculdade de Farmácia – UFRJ

Prof. Dr. Wilson da Costa Santos
Faculdade de Farmácia – UFF

*Aos meus pais, Marco e Rosane,
a minha avó Wanda, a minha irmã, Marcela
e ao meu namorado, Felipe.*

AGRADECIMENTOS

*Agradeço, primeiramente, a **Deus**, por me guiar nos caminhos escolhidos, me carregando em Seu colo e por estar presente em todos os momentos da minha vida, inclusive nos mais difíceis.*

*Ao **Prof. Dr. Lucio Mendes Cabral**, pela orientação no trabalho realizado. Agradeço pela amizade, pelos **MUITOS** ensinamentos, pela confiança em mim depositada e por todo o apoio na realização deste sonho. Muito obrigada por cuidar de seus alunos com tanto carinho! Seremos eternamente gratos por isso!*

*A **Profª. Drª. Patrizia Santi**, por me acolher tão gentilmente em seu laboratório, sendo sempre solícita e pela orientação nos experimentos realizados. Muito obrigada por toda a ajuda!*

*Aos meus pais **Marco e Rosane**, meus exemplos de vida! Não há palavras para descrever o amor que sinto por vocês! Muito obrigada por me fazerem sentir tão amada, por me ensinarem os valores mais importantes da vida, por me apoiarem nas minhas escolhas e por vibrarem comigo em todas as conquistas. Muito obrigada por todos os esforços realizados para que eu chegasse até aqui! Esta vitória é de vocês!*

*A minha avó **Wanda**, minha segunda mãe. Muito obrigada por ter tornado esta conquista muito mais fácil, pelas muitas orações e pelo seu grande amor. Te amo!*

*A minha irmã, **Marcela**, amor da minha vida, por cuidar de mim e por tornar minha vida muito mais feliz. Muito obrigada por me fazer rir nos momentos mais difíceis e por me mostrar que a vida pode ser muito mais simples!*

*Ao **Felipe**, grande amigo e companheiro, por entender minhas muitas ausências, por suportar a distância e por me apoiar na realização deste sonho. Obrigada por estar ao meu lado em todos os momentos da minha vida e pelo seu grande amor!*

*A minha tia **Jô** e a minha prima **Carol**, por estarem sempre torcendo por mim.*

A **Dr^a. Cristina Padula** e a **Prof^a. Dr^a. Sara Nicoli**, pelo auxílio na realização dos experimentos, pela amizade e pelo acolhimento.

As minhas grandes amigas **Lidiane Mota, Geisa Sartori, Natalia Bousquet, Natalia Daflon, Leticia Menezes, Isabel Cunha e Marcilaine Pinheiro**. Apesar dos caminhos da vida nos distanciarem, sei que nossa amizade permanece. Adoro vocês!

A **Floriana Tamburello** e a **Enzo Alessi**, “*amici di cuore*”, por terem me acolhido tão amorosamente em sua casa. Obrigada pela “*pasta*”, pelo “*vino*” e pelos muitos “*cannoli*”. Sinto muita falta de vocês!

Aos amigos (que já passaram e que permanecem) do Laboratório de Tecnologia Industrial Farmacêutica: **Aldo, Alex, Aline, Ana Paula, Arídio, Camila Dornelas, Carol (sempre me salvando!), Cide, Cris, Daniel Marinho, Daniel Resende, Felipe, Gabi (obrigada pela ajuda de última hora!), Giani, Giovanni, Helvécio, Jaque, Karla, Letícia, Lilian, Lula, Lulú, Maíra, Maísa, Marcela, Marina, Michele Villardi, Michelle Maria, Neide, Patrícia, Pedro, Professora Rita, Rachel, Renata, Ronan, Thiago Garcia, Thiago Honório, Túlio (obrigada por toda a ajuda!), Vitor e Vivi**. Com vocês tudo se tornou mais fácil! Muito obrigada pela amizade!

A todos os amigos da Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, especialmente a **Camila Siqueira, Eduardo Costa, Maria Cristina Mansur, Mariah Marcondes e Vinícius Borges**. Agradeço pela amizade de todos vocês!

Aos amigos do Laboratório de Permeação Transdérmica – **Università degli Studi di Parma**. Agradeço pela amizade, pelo carinho e por tornarem minha permanência tão prazerosa. Agradeço especialmente a **Silvia Pescina** por toda a ajuda!

A todos os meus **familiares** pelo apoio, pela torcida e pelo carinho.

A **Prof^a. Dr^a. Valéria Pereira de Sousa**, do Laboratório de Controle de Qualidade de Fármacos e Medicamentos (LabCQ – UFRJ), por permitir a realização das análises de infravermelho em seu laboratório.

A **Dr^a. Maria Elizabeth Ferreira Garcia**, do Laboratório de Processos de Separação com Membranas e Polímeros (PAM - COPPE), por permitir a utilização do analisador de tamanho de gotículas.

A **Prof^a. Dr^a. Luzineide Tinoco**, do Laboratório Multiusuário de Análises por RMN (LAMAR - NPPN), por permitir a realização das análises de RMN.

Aos professores da banca de acompanhamento, **Prof. Dr. Eduardo Ricci Júnior e Prof. Dr. Carlos Rangel Rodrigues**, pela disponibilidade e por todo o auxílio.

A **banca examinadora**, que gentilmente aceitou o convite de participar da defesa desta tese.

A todos os **professores e funcionários** do programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

A **CAPES e a FAPERJ** pelo suporte financeiro para a realização da pesquisa.

*“Para ser grande, sê inteiro: nada teu exagera ou exclui.
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és no mínimo que fazes.
Assim em cada lago a lua toda brilha, porque alta vive.”*
(Fernando Pessoa)

RESUMO

CARMO, Flávia Almada do. **Preparo e avaliação de formulações transdérmicas de doxazosina para o tratamento da hiperplasia prostática benigna**. Rio de Janeiro, 2011. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

A Hiperplasia Prostática Benigna (HPB) é caracterizada pela ocorrência de um crescimento benigno da próstata, acompanhado por Sintomas do Trato Urinário Inferior (STUI). A doxazosina é um antagonista do adrenoceptor α_1 que tem demonstrado eficácia na diminuição do STUI associados à HPB, sendo um dos fármacos de primeira escolha para o tratamento desta patologia. Atualmente, a doxazosina é comercialmente disponível apenas na forma sólida oral. Sistemas terapêuticos transdérmicos, como microemulsões, filmes (*patches*) e géis, se caracterizam pela liberação do fármaco através da pele, visando sua ação sistêmica, e são considerados como alternativas às formulações orais e parenterais. O objetivo do presente estudo foi a preparação de formulações inovativas de doxazosina para liberação transdérmica, bem como a avaliação de sua permeação *in vitro*. Preparou-se a doxazosina base (DOXA) a partir do mesilato de doxazosina (DOXA MESIL) e ambas as substâncias foram devidamente caracterizadas. Foram preparadas microemulsões e soluções saturadas, simples e contendo promotores de permeação, com o fármaco. Os filmes Patch-non-Patch® foram preparados através da técnica de laminação. O gel foi obtido através da preparação de uma solução de DOXA em propilenoglicol e azona a 3,00% (p/p). As formulações preparadas foram devidamente caracterizadas. Os ensaios de permeação *in vitro* foram realizados utilizando-se epiderme suína como membrana biológica e células de difusão vertical do tipo *Franz*. Aplicou-se a condição de dose infinita para as microemulsões, para as soluções e para o gel e foram utilizadas condições não oclusivas e oclusivas para os *patches*. Não há até o momento dados na literatura sobre o desenvolvimento de formulações transdérmicas de doxazosina, mas há dados relativos a outro fármaco com estrutura química muito semelhante, a prazosina. Os fluxos de permeação (J), assim como os perfis de permeação, foram muito semelhantes para todas as formulações de microemulsão. Os maiores J foram encontrados para as soluções saturadas de DOXA em pirrolidona e em propilenoglicol, ambas com azona a 3,0% (p/p). Os J obtidos com os *patches*, utilizando-se tanto condições não oclusivas quanto oclusivas, mostraram-se muito baixos, inviabilizando sua utilização. Para o gel obteve-se um J menor do que o obtido para a solução saturada de DOXA. No entanto, o J foi maior do que aquele mostrado para a solução saturada de prazosina, mostrando a viabilidade da utilização deste tipo de formulação para a liberação transdérmica da doxazosina.

Palavras-chave: doxazosina, permeação transdérmica, hiperplasia prostática benigna.

ABSTRACT

CARMO, Flávia Almada do. **Preparation and evaluation of doxazosin transdermal formulations for benign prostatic hyperplasia treatment.** Rio de Janeiro, 2011. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

Benign prostatic hyperplasia (BPH) is characterized by the occurrence of a benign prostatic growth, accompanied by Lower Urinary Tract Symptoms (LUTS). Doxazosin is an α_1 adrenoreceptor antagonist that has demonstrated effectiveness in reducing LUTS associated to BPH, being one of the first choice drugs for this pathology treatment. The doxazosin is only commercially available in oral solid form. Transdermal therapeutic systems such as microemulsions, films (*patches*) and gels are characterized by drug release through the skin for systemic action and they are considered alternatives to oral and parenteral formulations. The aim of this study was to prepare innovative formulations for transdermal delivery of doxazosin and to evaluate its *in vitro* permeation. The doxazosin base (DOXA) was prepared from the doxazosin mesylate (DOXA MESIL) and both substances were properly characterized. It was prepared microemulsions and saturated solutions with the drug and with or without permeation promoters. The Patch-non-Patch® films were prepared using the lamination technique. The gel was prepared from a DOXA solution of propylene glycol and azone 3.00% (w/w). The formulations were properly characterized. The *in vitro* permeation studies were conducted using pig epidermis as a biological membrane and vertical *Franz* type diffusion cells. It was applied the infinite dose condition for microemulsions, solutions and gel and it was used non-occlusive and occlusive conditions for the *patches*. The literature has no information about development of doxazosin transdermal formulations, but there is some for another very similar drug, the prazosin. The permeation fluxes (J), as well as the permeation profiles, were very similar for all microemulsion formulations. The best J were found for the pyrrolidone and propylene glycol DOXA saturated solutions, both with azone 3.0% (w/w). The J obtained with and without occlusion for the patches were very low, making its use impracticable. The gel J was lower compared with the one found for DOXA saturated solution. However, it was higher than the one showed for the prazosin saturated solution, what demonstrates the feasibility of this type of formulation for the transdermal delivery of doxazosin.

Keywords: doxazosin, transdermal permeation, benign prostatic hyperplasia.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	xiii
LISTA DE GRÁFICOS	xiv
LISTA DE TABELAS	xv
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	xvi
1 INTRODUÇÃO	18
1.1 HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA (HPB)	18
1.2 DOXAZOSINA	23
1.3 PERMEAÇÃO TRANSDÉRMICA	25
1.4 FORMULAÇÕES PARA LIBERAÇÃO TRANSDÉRMICA	28
1.4.1 MICROEMULSÕES	28
1.4.2 ADESIVOS TRANSDÉRMICOS (<i>PATCHES</i>)	30
1.4.3 GEL	32
2 OBJETIVOS	33
3 MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1 MATERIAL	34
3.2 MÉTODOS	36
3.2.1 PREPARAÇÃO DA DOXAZOSINA BASE	36
3.2.2 ANÁLISE DE DOXA E DOXA MESIL POR CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC) E POR TERMOGRAVIMETRIA (TGA)	36
3.2.3 ANÁLISE DE DOXA E DOXA MESIL POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)	37
3.2.4 ANÁLISE DE DOXA E DOXA MESIL POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO (IV-TF)	37
3.2.5 ANÁLISE DE DOXA E DOXA MESIL POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)	37
3.2.6 ELABORAÇÃO DAS RETAS DE CALIBRAÇÃO DE DOXA E DOXA MESIL	38
3.2.7 DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE DO FÁRMACO	38

3.2.8	PREPARO DOS SISTEMAS TERAPÊUTICOS TRANSDÉRMICOS	39
3.2.8.1	PREPARO DAS MICROEMULSÕES	39
3.2.8.1.1	CONSTRUÇÃO DOS DIAGRAMAS PSEUDOTERNÁRIO DE FASES	41
3.2.8.2	CARACTERIZAÇÃO DAS MICROEMULSÕES	41
3.2.8.2.1	AVALIAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DE GOTÍCULAS	41
3.2.8.2.2	MEDIDA DO ÍNDICE DE REFRAÇÃO (IR)	42
3.2.8.2.3	MEDIDA DA CONDUTIVIDADE ELÉTRICA (CE)	43
3.2.8.3	PREPARO DAS SOLUÇÕES	43
3.2.8.4	CARACTERIZAÇÃO DAS SOLUÇÕES	44
3.2.8.5	PREPARO DOS FILMES (<i>PATCHES</i>)	44
3.2.8.6	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES (<i>PATCHES</i>)	47
3.2.8.7	PREPARO DO GEL	47
3.2.8.8	CARACTERIZAÇÃO DO GEL	47
3.2.9	PREPARO DO TECIDO ANIMAL	48
3.2.10	ENSAIOS DE PERMEAÇÃO <i>IN VITRO</i>	50
3.2.11	ANÁLISE ESTATÍSTICA	52
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
4.1	PREPARAÇÃO DA DOXAZOSINA BASE	53
4.2	ANÁLISE DE DOXA E DOXA MESIL POR DSC E TGA	53
4.3	ANÁLISE DE DOXA E DOXA MESIL POR RMN	57
4.4	ANÁLISE DE DOXA E DOXA MESIL POR IV-TF	60
4.5	ANÁLISE DE DOXA E DOXA MESIL POR CLAE	61
4.6	OBTENÇÃO DAS RETAS DE CALIBRAÇÃO DE DOXA E DOXA MESIL	62
4.7	DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE DO FÁRMACO	63
4.8	PREPARO DOS SISTEMAS TERAPÊUTICOS TRANSDÉRMICOS	65
4.8.1	PREPARO DAS MICROEMULSÕES	65
4.8.1.1	CONSTRUÇÃO DOS DIAGRAMAS PSEUDOTERNÁRIO DE FASES	68
4.8.2	CARACTERIZAÇÃO DAS MICROEMULSÕES	71
4.8.3	PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DAS SOLUÇÕES	74
4.8.4	PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES (<i>PATCHES</i>)	76

4.8.5	PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DO GEL	77
4.9	ENSAIOS DE PERMEAÇÃO <i>IN VITRO</i>	78
5	CONCLUSÕES	94
6	PERSPECTIVAS	95
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	96
8	ANEXOS	109

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Evolução da HPB.	18
Figura 2: Estrutura química do mesilato de doxazosina.	23
Figura 3: Rotas de permeação de fármacos através da epiderme intacta.	27
Figura 4: Sequência de aplicação do Patch-non-Patch®.	31
Figura 5: Técnica de preparação dos filmes Patch-non-Patch®.	46
Figura 6: Dissecção do tecido animal.	49
Figura 7: Célula de difusão vertical do tipo <i>Franz</i> , com o tecido animal posicionado sobre o compartimento receptor.	50
Figura 8: Células de difusão vertical do tipo <i>Franz</i> submetidas a banho com temperatura controlada.	50
Figura 9: Preparação dos filmes para o ensaio de permeação.	51
Figura 10: Análise de DSC de uma amostra de DOXA MESIL.	54
Figura 11: Análise de DSC de uma amostra de DOXA.	54
Figura 12: Análise de TGA de uma amostra de DOXA MESIL.	56
Figura 13: Análise de TGA de uma amostra de DOXA.	56
Figura 14: Estrutura química do mesilato de doxazosina, com a especificação dos carbonos.	57
Figura 15: Espectro de RMN H ¹ da DOXA MESIL.	58
Figura 16: Espectro de RMN H ¹ da DOXA	58
Figura 17: Espectro de RMN C ¹³ da DOXA MESIL.	59
Figura 18: Espectro de RMN C ¹³ da DOXA.	59
Figura 19: Espectro de IV-TF da DOXA MESIL.	60
Figura 20: Espectro de IV-TF da DOXA.	61
Figura 21: Diagrama pseudoternário de fases da F1.	69
Figura 22: Diagrama pseudoternário de fases da F2.	69

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Curva de calibração da DOXA MESIL em meio tampão fosfato (PBS) pH=7,4.	62
Gráfico 2: Curva de calibração da DOXA em meio tampão fosfato (PBS) pH=7,4.	62
Gráfico 3: Perfil de permeação <i>in vitro</i> da FO da F2 em pele e em epiderme isolada de porco.	80
Gráfico 4: Perfis de permeação <i>in vitro</i> das formulações MD-08 e MD-09 em epiderme isolada de porco.	81
Gráfico 5: Perfis de permeação <i>in vitro</i> das formulações MD-06 e MD-07 em epiderme isolada de porco.	81
Gráfico 6: Perfis de permeação <i>in vitro</i> das formulações MD-10 e MD-11 em epiderme isolada de porco.	82
Gráfico 7: Perfis de permeação <i>in vitro</i> das formulações MD-12 e MD-13 em epiderme isolada de porco.	83
Gráfico 8: Perfis de permeação <i>in vitro</i> das formulações MD-14 e MD-15 em epiderme isolada de porco.	83
Gráfico 9: Perfis de permeação <i>in vitro</i> da formulação MD-16 em epiderme isolada de porco.	84
Gráfico 10: Perfis de permeação <i>in vitro</i> das soluções saturadas de DOXA MESIL e DOXA em 2-pirrolidona (PRD) utilizando-se epiderme isolada de porco.	86
Gráfico 11: Perfis de permeação <i>in vitro</i> das soluções saturadas de DOXA em 2-pirrolidona (PRD) e em PRD + azona 3,0% (p/p), utilizando-se epiderme isolada de porco.	87
Gráfico 12: Perfis de permeação <i>in vitro</i> das soluções saturadas de DOXA em propilenoglicol (PPG) e em PPG + azona 3,0% e 5,0% (p/p), utilizando-se epiderme isolada de porco.	88
Gráfico 13: Perfis de permeação <i>in vitro</i> das soluções saturadas de DOXA em propilenoglicol (PPG) e em 2-pirrolidona (PRD), utilizando-se epiderme isolada de porco.	89
Gráfico 14: Perfis de permeação <i>in vitro</i> das soluções saturadas de DOXA em propilenoglicol (PPG) + azona 3,0% (p/p) e em 2-pirrolidona (PRD) + azona 3,0% (p/p), utilizando-se epiderme isolada de porco.	90
Gráfico 15: Perfis de permeação <i>in vitro</i> da formulação PnPD-02 em condição normal e oclusiva, utilizando-se epiderme isolada de porco.	91
Gráfico 16: Perfis de permeação <i>in vitro</i> da formulação PnPD-03 em condição normal e oclusiva, utilizando-se epiderme isolada de porco.	91
Gráfico 17: Perfil de permeação <i>in vitro</i> da formulação GD-01, utilizando-se epiderme isolada de porco.	92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Formulações de microemulsão.	40
Tabela 2: Composição dos <i>patches</i> (% p/p) em massa úmida.	44
Tabela 3: Composição do gel GD-01.	47
Tabela 4: Solubilidade do fármaco em diferentes solventes.	65
Tabela 5: Aparência das formulações de microemulsão.	67
Tabela 6: Determinação do tamanho de gotículas das formulações de microemulsão F1 e F2.	72
Tabela 7: Determinação do tamanho de gotículas das formulações de microemulsão MD-06, MD-07, MD-08 e MD-09.	72
Tabela 8: Determinação do índice de refração (IR) e da condutividade elétrica (CE) das formulações de microemulsão MD-06, MD-07, MD-08 e MD-09.	73
Tabela 9: Solubilidade do fármaco em diferentes solventes.	75
Tabela 10: Teor de fármaco (% p/p) nos filmes.	76
Tabela 11: Fluxos de permeação (J) das formulações de microemulsão.	85
Tabela 12: Fluxos de permeação (J) das soluções saturadas.	88
Tabela 13: Fluxos de permeação (J) das formulações PnPD-02 e PnPD-03.	92

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AA	Anteriormente à Adição de Água
A/O	Água em Óleo
CD	Ciclodextrina
CE	Condutividade Elétrica
Cl	<i>Clearance</i>
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
C _{veh}	Concentração de Fármaco na Formulação
<i>D</i>	Coeficiente de Difusão
DMSO	Dimetilsulfóxido
DOXA	Doxazosina Base
DOXA MESIL	Mesilato de Doxazosina
DP	Desvio Padrão
DSC	<i>Differential Scanning Calorimetry</i>
DTS	<i>Dermal Therapeutic Systems</i>
EPM	Erro Padrão da Média
<i>f_c</i>	Fator de Correção
FA	Fase Aquosa
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FO	Fase Oleosa
GITS	<i>Gastrointestinal Therapeutic System</i>
GD	Gel de Doxazosina
<i>H</i>	Caminho de Difusão
HP	Hidroxipropil
HPB	Hiperplasia Prostática Benigna
HPC	Hidroxipropilcelulose
IBT	Isobutanol
IP	Índice de Polidispersão
IPSS	<i>International Prostate Symptom Score</i>
IR	Índice de Refração
IV-TF	Infravermelho com Transformada de Fourier
<i>J</i>	Fluxo de Permeação
<i>K</i>	Coeficiente de Partição entre Estrato Córneo e Veículo
LUTS	<i>Lower Urinary Tract Symptoms</i>

MD	Microemulsão de Doxazosina
MI	Miristato de Isopropila
O/A	Óleo em Água
<i>P</i>	Coeficiente de Permeabilidade
PnPD	Patch-non-Patch® de Doxazosina
PBS	<i>Phosphate Buffer Solution</i>
PEG	Polietilenoglicol
PA	Posteriormente à Adição de Água
PP	Promotor de Permeação
PPG	Propilenoglicol
PRD	2-Pirrolidona
PSA	Antígeno Prostático Específico
PVA	Polivinil Álcool
PVP	Polivinil Pirrolidona
Q	Quantidade Cumulativa de Fármaco Permeado por Unidade de Área
r	Coeficiente de Correlação
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
S20	Span® 20
S80	Span® 80
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
SF	Solução Fisiológica
STD	Sistemas Terapêuticos Dérmicos
STT	Sistemas Terapêuticos Transdérmicos
STUI	Sintomas do Trato Urinário Inferior
T80	Tween® 80
T _R	Tempo de Retenção
TCC	Triglicerídio cáprico-caprílico
TGA	Análise Termogravimétrica
TTS	<i>Transdermal Therapeutic Systems</i>
V _{ent}	Velocidade de Entrada

1 INTRODUÇÃO

1.1 HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA (HPB)

Doenças da próstata englobam tanto o câncer de próstata, quanto condições benignas como a prostatite ou a HPB. Tanto o câncer de próstata quanto a HPB estão entre as 10 doenças mais diagnosticadas em homens com mais de 65 anos. Embora exista uma grande relação entre os riscos e os sintomas de ambas as doenças, os procedimentos a serem seguidos após o diagnóstico do câncer ou da HPB são bem diferentes (MARBERGER, 2010).

A HPB está relacionada à ocorrência de um processo proliferativo benigno das células do estroma e do epitélio das regiões periuretral e transicional da glândula prostática. É uma condição progressiva caracterizada pelo crescimento benigno da próstata acompanhado por Sintomas do Trato Urinário Inferior (STUI), também conhecidos pela sigla LUTS (do inglês, *Lower Urinary Tract Symptoms*), algumas vezes associados com a ocorrência de incontinência urinária, insuficiência renal, infecções do trato urinário e disfunção sexual (McNAUGHTON-COLLINS & BARRY, 2005; McVARY, 2007; AUFFENBERG, HELFAND & McVARY, 2009; BRIGANTI *et al.*, 2009). A evolução da HPB é representada na Figura 1.

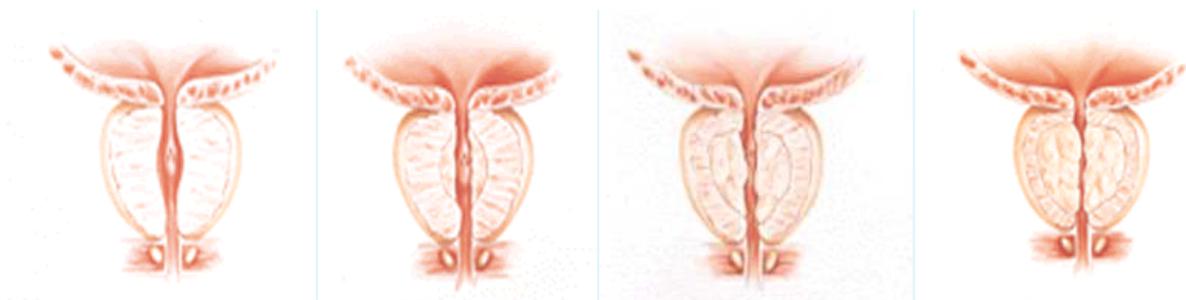


Figura 1: Evolução da HPB (Modificado de Merck Sharp & Dohme do Brasil - <http://www.msdonline.com.br/pacientes>, acesso em: 13/05/11).

Os STUI se caracterizam pela combinação da ocorrência de sintomas como noctúria, hesitação, intermitência e alteração da frequência urinária, além de irritabilidade da bexiga (VERHAMME *et al.*, 2002; AUFFENBERG, HELFAND & McVARY, 2009).

As taxas hormonais e a idade são fatores essenciais para o desenvolvimento da HPB. Apesar da realização de diversos estudos epidemiológicos, ainda não se chegou à conclusão de uma relação entre a frequência de atividade sexual, de fumo e de obesidade com a HPB. Já a prática de atividade física e o consumo moderado de álcool parecem proteger contra esta patologia (KOK *et al.*, 2009).

A sua incidência é maior em homens com idade superior a 40 anos, sendo que a ocorrência aumenta progressivamente com o avançar da idade (VERHAMME *et al.*, 2002; IRANI *et al.*, 2003). Estima-se que aproximadamente 50% da população masculina com cerca de 50 anos desenvolva sintomas relacionados à HPB. A incidência aumenta cerca de 10% por década de vida, chegando a aproximadamente 80% aos 80 anos (IRANI *et al.*, 2003; BRIGANTI *et al.*, 2009). Cerca de 20% a 30% dos homens com 80 anos de idade necessitam de intervenção cirúrgica (BRIGANTI *et al.*, 2009).

O diagnóstico da HPB pode ser realizado baseando-se em uma avaliação dos sintomas através do Escore Internacional de Sintomas Prostáticos, conhecido pela sigla IPSS (do inglês, *International Prostate Symptom Score*), elaborado pela *American Urological Association* (DJAVAN *et al.*, 2010).

O crescimento da frequência de diagnósticos pode ser relacionado com o aumento da expectativa de vida populacional e uma maior tendência dos pacientes a procurar aconselhamento médico ainda nos estágios iniciais da doença (DJAVAN *et al.*, 2010).

A relação entre a HPB e o risco de câncer de próstata, bem como a relação entre a HPB e outros fatores de risco do câncer de próstata, como os níveis de antígeno prostático específico (PSA), não são bem estabelecidas (PETTAWAY *et al.*, 2011). Ainda não há relação molecular e genética clara entre a HPB e o câncer de próstata (NUNZIO *et al.*, 2011).

Pettaway e colaboradores (2011) realizaram um estudo com homens afro-americanos e caucasianos que apresentavam HPB. Foi observado que o risco de desenvolvimento de câncer de próstata é cerca de duas vezes maior no grupo dos afro-americanos, sendo um indício da necessidade de maior educação e da realização de diagnóstico precoce nesta população (PETTAWAY *et al.*, 2011).

Apesar do grande impacto da HPB na saúde humana, sua patogênese ainda não se encontra completamente estabelecida. Diversos mecanismos parecem estar envolvidos com o seu desenvolvimento e a sua progressão. Embora o envelhecimento seja o principal mecanismo conhecido, estudos recentes sugerem que esta também possa estar relacionada à inflamação da próstata, à síndrome metabólica, bem como a alterações a nível vascular e hormonal (KRAMER, MITTEREGGER & MARBERGER, 2007; BRIGANTI *et al.*, 2009).

O envelhecimento é o maior fator de risco relacionado ao desenvolvimento da HPB e à ocorrência de STUI. Em homens idosos, ocorre um processo de remodelagem dos tecidos prostáticos, principalmente da zona transicional. Ocorre uma alteração no equilíbrio do fator de crescimento e interações entre estroma e epitélio geram um aumento do volume prostático. Além disso, há alteração das secreções das células luminais, formação de cálculos prostáticos e calcificação. Todas estas modificações levam a alterações de células altamente especializadas responsáveis pela homeostasia e pelas funções do tecido. Além disso, uma regulação anormal da apoptose pode estar relacionada à HPB (BRIGANTI *et al.*, 2009).

A inflamação crônica da próstata pode ser considerada um fator de risco associado ao crescimento desta glândula e ao desenvolvimento de sintomas da HPB. Apesar de esta inflamação ser observada em 50% dos pacientes com HPB, normalmente, este importante aspecto da doença não recebe muita atenção. Para este tipo de pacientes, um tratamento com anti-inflamatórios poderia ser proposto (ROBERT *et al.*, 2009). Estudos sugerem que a inflamação da próstata esteja envolvida com a patogênese e a progressão tanto da HPB, quanto do câncer de próstata (NUNZIO *et al.*, 2011).

Evidências recentes sugerem que a HPB seja uma doença imuno-inflamatória iniciada por um estímulo ainda não conhecido e que criaria um ambiente pro-inflamatório na próstata (KRAMER, MITTEREGGER & MARBERGER, 2007; BRIGANTI *et al.*, 2009).

A importância dos hormônios androgênicos no aumento da próstata tem sido melhor entendida em evidências como o não desenvolvimento de HPB em homens castrados antes da puberdade e ocorrência de redução no volume da próstata em homens com HPB submetidos à castração (DJAVAN *et al.*, 2010).

Durante vários anos, o tratamento mais recorrente para a HPB era a intervenção cirúrgica. A realização de cirurgia, no entanto, vem sendo substituída pelo tratamento com medicamentos, cada vez mais seguros e eficazes. O primeiro objetivo do tratamento medicamentoso é aliviar os STUI e, mais recentemente, também tem sido direcionado para alterar a progressão da doença e realizar a prevenção das comorbidades que possam estar a ela associadas (AUFFENBERG, HELFAND & McVARY, 2009). Uma grande variedade de classes medicamentosas é usada no tratamento da HPB, como antagonistas α -adrenérgicos, inibidores da 5- α -redutase, antimuscarínicos, fitoterápicos, inibidores da fosfodiesterase e neurotoxinas intraprostáticas. A escolha do tratamento medicamentoso é muitas vezes complexa (AUFFENBERG, HELFAND & McVARY, 2009).

Os antagonistas α -adrenérgicos são eficazes em aliviar os sintomas associados à HPB. A glândula prostática apresenta maior prevalência de receptores adrenérgicos α_1 e α_2 . Acredita-se que os receptores adrenérgicos α_1 exerçam a maior influência na tonicidade do músculo liso prostático, com a ocorrência de constrição uretral. Os receptores adrenérgicos α_2 são tipicamente pré-sinápticos, controlam por mecanismo de *feedback* negativo e, quando estimulados, ocorre o relaxamento do músculo liso. Já os receptores adrenérgicos α_1 são pós-sinápticos e respondem à liberação de neurotransmissores (AUFFENBERG, HELFAND & McVARY, 2009).

Existem diversos subtipos de receptores adrenérgicos α_1 sendo classificados como α_{1A} , α_{1B} e α_{1D} . Os receptores adrenérgicos α_{1A} são predominantes nas células do músculo liso do estroma prostático; os α_{1B} estão predominantemente localizados nos músculos lisos vasculares, inclusive na microvasculatura da glândula prostática;

já os receptores α_{1D} mediam os componentes dos STUI. Devido a sua localização, os receptores α_{1A} são considerados alvos ideais para a terapia da HPB. O bloqueio destes receptores reduz a tonicidade do músculo prostático, aumentando a luz do canal uretral (AUFFENBERG, HELFAND & McVARY, 2009). O antagonismo combinado dos receptores α_{1A} e α_{1D} parece ser a melhor alternativa para o tratamento da HPB, diminuindo a tonicidade do músculo prostático e os componentes dos STUI e evitando os possíveis efeitos adversos cardiovasculares devido ao bloqueio do receptor α_{1B} (AUFFENBERG, HELFAND & McVARY, 2009).

Com o avanço do conhecimento sobre os subtipos de receptores α -adrenérgicos e suas respectivas ações, houve o desenvolvimento de três gerações de fármacos antagonistas α -adrenérgicos ou mais comumente chamados de α -bloqueadores (AUFFENBERG, HELFAND & McVARY, 2009). A primeira geração é composta por fármacos, como a fenoxibenzamina, que são bloqueadores α_1/α_2 não-seletivos inicialmente usados na terapia da HPB, mas responsáveis por causar efeitos adversos como síncope, hipotensão ortostática, taquicardia reflexa e arritmia cardíaca, devido ao bloqueio do receptor α_2 . Por esta razão, foi desenvolvida a segunda geração, composta de fármacos bloqueadores α_1 seletivos, como a prazosina, a doxazosina, a teratozina e a alfuzosina. A terceira geração, composta pela tamsulosina e pela silodosina, é caracterizada pelo antagonismo seletivo dos receptores α_{1A} . Assim, os fármacos da segunda e da terceira geração são os mais utilizados na terapia da HPB (AUFFENBERG, HELFAND & McVARY, 2009).

Os α -bloqueadores aliviam rapidamente os sintomas da HPB, mas não há evidências de redução dos riscos de retenção urinária aguda e de cirurgia a longo prazo visto a incapacidade destes fármacos em reduzirem o volume prostático (DJAVAN *et al.*, 2010). Evidências sugerem que a combinação de α -bloqueadores, como a doxazosina, com inibidores da 5- α -redutase, como a finasterida, traz efeitos benéficos ao tratamento da HPB e de seus sintomas associados (KAPLAN *et al.*, 2006; JOHSON *et al.*, 2007; McVARY, 2007; AUFFENBERG, HELFAND & McVARY, 2009).

1.2 DOXAZOSINA

A doxazosina (Figura 2), 4-amino-2-[4-(1,4-benzodioxan-2-carboxil)-piperazin-1-il]-6,7-dimetiloxiquinazolina, é um fármaco anti-hipertensivo comercialmente disponível na forma de seu sal de mesilato. A doxazosina ($C_{23}H_{25}N_5O_5$) possui peso molecular igual a 451,48 g, enquanto o peso molecular do mesilato de doxazosina ($C_{23}H_{25}N_5O_5 \cdot CH_3SO_3H$) é igual a 547,58 g, sendo o fator de correção (f_c) igual a 1,213 entre as duas moléculas (THE MERCK INDEX, 2001; SRIPALAKIT, NERHOM & MAPHANTA, 2005; HARDMAN, LIMBIRD & GILMAN, 2007). Segundo o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), a doxazosina pertence à Classe Biofarmacêutica 1, sendo um fármaco que apresenta alta permeabilidade nas membranas biológicas e alta solubilidade aquosa (AMIDON *et al.*, 1995; RAMIREZ *et al.*, 2010).

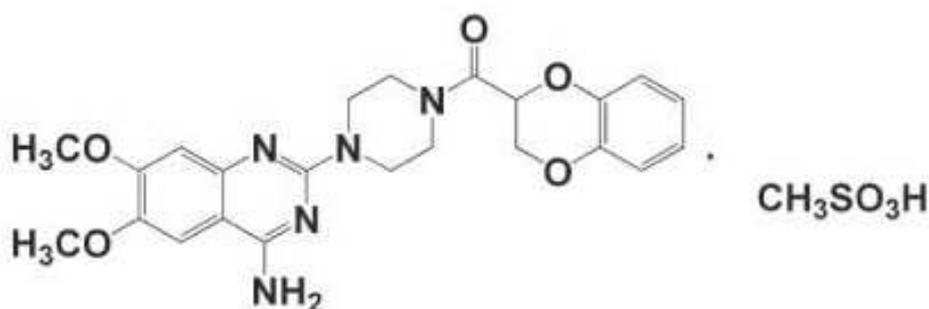


Figura 2: Estrutura química do mesilato de doxazosina (Adaptada de KIM *et al.*, 2006).

Após administração oral, o pico dos níveis plasmáticos de doxazosina ocorre em cerca de 2 a 3 horas. Este fármaco sofre metabolismo de primeira passagem no fígado, principalmente por O-demetilação do núcleo quinazolínico ou hidroxilação do grupamento benzodioxano, e sua biodisponibilidade é de aproximadamente 65%. O tempo de meia vida é de 22 horas e aproximadamente 98% do fármaco circulante está ligado às proteínas plasmáticas. A sua farmacocinética é linear na faixa de 1,0 a 16,0 mg (SRIPALAKIT, NERMHOM & MAPHANTA, 2005).

Este fármaco é um antagonista do receptor adrenérgico α_1 que tem demonstrado eficácia na diminuição dos STUI associados à HPB, sendo um dos

fármacos de primeira escolha para o tratamento desta patologia (AUFFENBERG, HELFAND & McVARY, 2009; ZHANG *et al.*, 2009; SUN *et al.*, 2010). A doxazosina alivia os sintomas e melhora o fluxo urinário em pacientes com HPB. Estudos mostram que a resposta ao fármaco, assim como os efeitos colaterais são dose-dependentes. Para minimizar a frequência dos efeitos adversos, como hipotensão postural e síncope, normalmente a dose diária inicial do fármaco é de 1,0 mg. Dependendo da tolerabilidade do paciente e das respostas à terapia, a dosagem pode ser aumentada até 8,0 mg/dia (MACDIARMID *et al.*, 1999; DJAVAN, 2004; AUFFENBERG, HELFAND & McVARY, 2009).

A doxazosina induz relaxamento do músculo liso da próstata e do trato urinário inferior pelo bloqueio dos receptores adrenérgicos α_1 (FULTON, WAGSTAFF & SORKIN, 1995; KYPRIANOU, 2003; CHENG, 2006). Alguns estudos demonstraram ainda a indução de apoptose em células epiteliais e do estroma prostáticos como um mecanismo de ação adicional (CHON *et al.*, 1999; KYPRIANOU, 2003; CHENG, 2006). Chon e colaboradores (1999) sugerem ainda a utilização deste fármaco no tratamento do câncer de próstata (CHON *et al.*, 1999).

Este fármaco se mostra eficaz no tratamento de pacientes que apresentam a HPB concomitantemente com hipertensão arterial moderada (GUTHRIE & SIEGEL, 1999; BECERRIL *et al.*, 2000; CHENG, 2006). O tratamento com doxazosina também se mostra seguro e eficaz em pacientes com HPB que tenham sofrido transplante renal e façam uso de imunossupressores (ZHANG *et al.*, 2009).

Foi demonstrado que este fármaco, por melhorar os STUI, pode também diminuir o risco de disfunção sexual e melhorar a função sexual em homens que apresentem HPB em concomitância com disfunção erétil (KIRBY, O'LEARY & CARSON, 2005; DEMIR *et al.*, 2006; KUMAR *et al.*, 2009).

Atualmente, a doxazosina é comercialmente disponível apenas na forma sólida oral, podendo esta ser de liberação imediata, de liberação controlada, chamada de GITS (do inglês, *Gastrointestinal Therapeutic System*) liberando especificamente o ativo em intervalos de tempo controlados, ou de liberação prolongada, também chamada de XL (CHUNG *et al.*, 1999; DJAVAN, 2004; KIRBY, O'LEARY & CARSON, 2005; ROEHRBORN *et al.*, 2005; SUN *et al.*, 2010).

Entretanto, considerando a idade dos pacientes que geralmente utilizam este medicamento, associado ao fato de que os mesmos utilizam outros medicamentos em sua rotina diária, a preparação de um sistema transdérmico de liberação prolongada de doxazosina se mostra extremamente interessante, em especial, para minimizar os efeitos da noctúria.

1.3 PERMEAÇÃO TRANSDÉRMICA

A administração transdérmica de fármacos é atualmente considerada uma alternativa válida à administração através rotas oral e parenteral (NICOLI *et al.*, 2008). Sistemas Terapêuticos Transdérmicos (STT), também conhecidos como TTS (do inglês, *Transdermal Therapeutic Systems*) são formas farmacêuticas que visam liberar o fármaco através da pele, para que este exerça ação sistêmica. Já os Sistemas Terapêuticos Dérmicos (STD), também conhecidos como DTS (do inglês, *Dermal Therapeutic Systems*), são similares aos STT, mas visam o tratamento tópico de doenças cutâneas (PADULA *et al.*, 2003).

A administração de fármacos através da via transdérmica permite: substituir a administração oral quando esta via é inadequada; evitar os riscos e a inconveniência da administração parenteral; uma administração rápida e fácil da medicação; a diminuição da frequência de administração; anular o efeito do metabolismo pré-sistêmico; liberar o fármaco de forma prolongada; diminuir as variações plasmáticas do fármaco e possibilidade de interromper imediatamente a administração pela remoção da formulação. Esta via de administração, no entanto, apresenta algumas desvantagens, como a existência de um provável *lag time* na liberação do fármaco e a possibilidade de haver irritação no local de aplicação (MARTINS & VEIGA, 2002; PRAÇA, 2010).

A pele é basicamente constituída pela epiderme e pela derme. A derme possui capilares sanguíneos, glândulas sebáceas e sudoríparas, folículos capilares e terminais nervosos em sua estrutura, enquanto a epiderme é avascular (MOSER *et al.*, 2001). A epiderme possui uma estrutura multilamelar devido aos diferentes estágios de diferenciação celular que ela apresenta. As células mais basais são

metabolicamente ativas e se encontram em estado proliferativo, enquanto as células mais apicais são metabolicamente inativas e queratinizadas, sendo chamadas de corneócitos. As células presentes nestas últimas camadas são cobertas por camadas de lipídios multilamelares, constituindo o estrato córneo (MOSER *et al.*, 2001).

Um dos principais fatores limitantes para a permeação transdérmica ou percutânea de um fármaco está relacionado à estrutura da pele. Esta apresenta certa impermeabilidade devido à presença do estrato córneo, que atua como uma barreira à permeação de fármacos (MARTINS & VEIGA, 2002). A propriedade de barreira desta camada da epiderme se deve à disposição e à composição dos lipídios presentes. Estes envolvem os corneócitos, formando uma matriz lipídica intercelular basicamente composta por ceramidas, colesterol, ésteres de colesterol e ácidos graxos (MOSER *et al.*, 2001).

Desta forma, torna-se interessante estudar alternativas para remover, reversivelmente, a resistência desta barreira da pele (MARTINS & VEIGA, 2002). Entre as alternativas disponíveis para aumentar a permeação de fármacos na pele está a utilização de promotores de permeação, de tensoativos e de métodos elétricos, como a iontoforese, a sonoforese e a eletroporação (MOSER *et al.*, 2001; MARTINS & VEIGA, 2002).

A permeação de fármacos através da pele pode ocorrer através dos apêndices cutâneos ou, mais comumente, através da epiderme intacta. Duas rotas podem ser identificadas para a permeação de fármacos através da epiderme intacta (Figura 3): a rota paracelular ou intercelular, entre os corneócitos e através da matriz lipídica intercelular e a rota transcelular, através dos corneócitos e também da matriz lipídica (MOSER *et al.*, 2001).

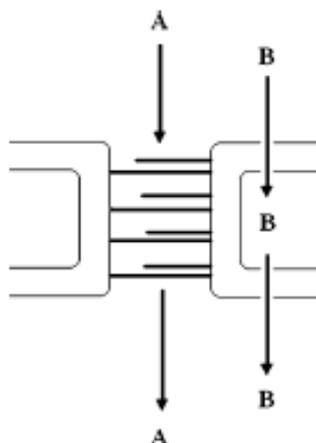


Figura 3: Rotas de permeação de fármacos através da epiderme intacta: A) rota paracelular ou intercelular; B) rota transcelular (Modificado de LIU, TESTA & FAHR, 2011).

A permeação de fármacos através do estrato córneo, considerando-o como uma barreira permeável, pode ser descrita pela Primeira Lei de Fick (MOSER *et al.*, 2001; MARTINS & VEIGA, 2002). A primeira etapa para a avaliação de uma formulação transdérmica é a realização de estudos de permeação *in vitro*. A membrana biológica de referência para esses estudos é a pele humana, a qual muitas vezes apresenta disponibilidade de utilização limitada. Desta forma, alguns modelos de pele artificiais foram produzidos. No entanto, eles não representam uma boa alternativa, visto que a sua permeabilidade é maior que a da pele humana (NICOLI *et al.*, 2008).

A pele de orelha de porco, devido a sua maior similaridade estrutural e bioquímica com a pele humana, é atualmente considerada o melhor modelo a ser utilizado nos ensaios de permeação *in vitro* (MONTEIRO-RIVIERE & RIVIERE, 1996; NICOLI *et al.*, 2008; BARBERO & FRASCH, 2009).

Observando-se as principais características e as vantagens obtidas com a administração transdérmica de um fármaco, pode-se propor a utilização desta via de administração no tratamento da HPB. Até o presente momento, não há relatos na literatura sobre o desenvolvimento de formulações transdérmicas de doxazosina e sobre estudos de sua permeação *in vitro*. Alguns estudos, no entanto, já foram realizados com outro fármaco pertencente à mesma classe farmacológica e com estrutura química similar, a prazosina (TENJARLA & TSEGGAI, 1993; HSU &

ROOS, 1997; HOSNY, HADY & NIAZY, 1998; KULKARNI *et al.*, 2010). Levando-se em consideração que a doxazosina é um dos fármacos de primeira escolha para o tratamento da HPB, torna-se interessante formulá-la em sistemas transdérmicos de liberação e realizar os estudos de sua permeação *in vitro*, verificando-se, assim, a viabilidade da aplicação destes novos sistemas no tratamento desta patologia. Para isso, deve-se selecionar as formulações mais promissoras para a veiculação do fármaco.

1.4 FORMULAÇÕES PARA LIBERAÇÃO TRANSDÉRMICA

1.4.1 MICROEMULSÕES

As microemulsões são sistemas homogêneos, pouco viscosos e termodinamicamente estáveis. Estes sistemas apresentam dimensões variando entre a escala micrométrica e nanométrica, transparência óptica, capacidade de veicular fármacos hidrofílicos e lipofílicos, além de serem formadas espontaneamente pela mistura de seus componentes (YUAN *et al.*, 2006; DIXIT & NAGARSENKER, 2010; JAIN, FERNANDES & PATRAVALE, 2010), sendo consideradas sistemas líquidos ideais para a liberação de fármacos (MAGHRABY, 2008).

Estes sistemas são formados basicamente por óleo, água, tensoativos e cossolvente. Pode-se definir a proporção necessária destes componentes para a formação de uma microemulsão através da construção do diagrama de fases (ROSSI *et al.*, 2007). O diagrama de fases pode ser classificado como pseudoternário, ternário ou quaternário, de acordo com o tipo e o número de componentes utilizados na sua elaboração (ROSSI *et al.*, 2007). Com a sua preparação, se define as prováveis composições de diferentes microemulsões que podem ser preparadas com os constituintes inicialmente escolhidos.

As microemulsões podem ser administradas por diversas vias. As vias de administração de microemulsões mais comuns são a oral, a parenteral, a tópica, a ocular e a nasal. Atualmente, tem sido também estudada a administração deste tipo

de formulação através de vias mais modernas como a pulmonar, a transdérmica, e a intratecal (KOGAN & GARTI, 2006; YUAN *et al.*, 2006; TALEGAONKAR *et al.*, 2008).

A administração transdérmica de microemulsões tem sido amplamente estudada (KREILGAARD, PEDERSEN & JAROSZEWSKI, 2000; SINTOV & BOTNER; 2006; ZHAO *et al.*, 2006; MAGHRABY, 2008; NAOUI *et al.*, 2011; TSAI *et al.*, 2011). Kreilgaard e colaboradores (2000) estudaram a veiculação de um fármaco hidrofílico e outro lipofílico em uma microemulsão. Foi observado um aumento da liberação transdérmica desses fármacos a partir da microemulsão, provavelmente devido ao aumento da solubilidade dos fármacos neste sistema. As microemulsões provocaram ainda baixa irritabilidade na pele (KREILGAARD, PEDERSEN & JAROSZEWSKI, 2000).

Sintov e Botner (2006) observaram que sistemas microemulsionados são capazes de aumentar a permeação transdérmica do diclofenaco (SINTOV & BOTNER; 2006). Zhao e colaboradores (2006) observaram que sistemas microemulsionados de teofilina também podem ser promissores na sua liberação transdérmica (ZHAO *et al.*, 2006).

Maghraby (2008) estudou a liberação transdérmica de hidrocortisona através de uma microemulsão. Neste estudo, observou-se que um sistema microemulsionado constitui um promissor STT e que a incorporação de um cossolvente a este sistema afeta tanto as características físicas da formulação, quanto a liberação do fármaco (MAGHRABY, 2008).

Naoui e colaboradores (2011) realizando estudos com a cafeína, um fármaco hidrofílico, observaram que a permeação transdérmica deste a partir de microemulsões óleo em água foi maior que a encontrada com a solução aquosa e com a microemulsão água em óleo, mostrando que a estrutura da microemulsão é relevante para a permeação do fármaco (NAOUI *et al.*, 2011).

Tsai e colaboradores (2011) estudaram a variação dos componentes de uma microemulsão de buspirona, sendo observados diferentes perfis de permeação. Isto demonstra que a composição da microemulsão é um importante fator a ser observado em sua formulação como um STT (TSAI *et al.*, 2011).

1.4.2 ADESIVOS TRANSDÉRMICOS (*PATCHES*)

O primeiro adesivo transdérmico, contendo escopolamina, foi aprovado em 1981 pelo *Food and Drug Administration* (FDA). Após esta data, tem sido observado o desenvolvimento deste tipo de formulação contendo diversos outros fármacos (PADULA *et al.*, 2007). Tanto os STT quanto os STD são comumente formulados na forma de adesivos transdérmicos, também conhecidos como *patches*. Os *patches* são basicamente constituídos por um suporte impermeável, por um reservatório de fármaco, por uma camada adesiva permeável ao fármaco e por uma membrana protetora removível (PADULA *et al.*, 2003).

Os *patches* transdérmicos podem ser de três tipos. O primeiro sistema contém o fármaco dentro de um reservatório e o contato com a pele é realizado através de uma membrana adesiva polimérica, no entanto, este tipo possui a fabricação mais difícil e cara. O segundo sistema possui uma camada adesiva e o fármaco disperso em uma matriz polimérica, não sendo necessária a presença de um reservatório, apresentando maior facilidade de produção. O terceiro sistema é o mais simples, apresentando o fármaco incluído diretamente na camada adesiva, sendo mais aceito pelos pacientes por ser mais sutil e flexível (PADULA *et al.*, 2007).

Uma nova tecnologia para a liberação transdérmica de fármacos, chamada Patch-non-Patch®, foi desenvolvida visando simplificar a formulação e melhorar sua aparência (PADULA *et al.*, 2007). O Patch-non-Patch® é um filme bioadesivo monolaminado, no qual os componentes usuais de um *patch* transdérmico foram condensados em uma única camada. As principais características deste sistema são: se tornar adesivo apenas quando aplicado sobre a pele umedecida, secar poucos minutos após sua aplicação, se tornar praticamente invisível e se ajustar perfeitamente à pele. Este filme não é oclusivo, sendo permeável à água e evitando a ocorrência de irritação cutânea devido à oclusão (PADULA *et al.*, 2007). A sua preparação ocorre através da técnica de laminação, onde uma solução aquosa contendo todos os componentes é estendida sobre papel siliconizado e seca em estufa (COLOMBO *et al.*, 2002).

A aplicação do Patch-non-Patch®, demonstrada na Figura 4, é simples, devendo-se umedecer o local de aplicação na pele; aplicar o filme ainda coberto com o papel siliconizado, exercendo pressão por alguns segundos e remover o papel siliconizado, deixando o filme sobre a pele (PADULA *et al.*, 2007).

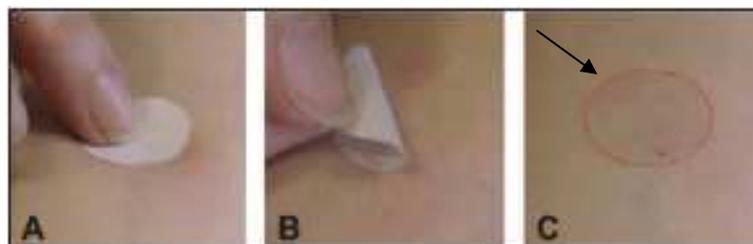


Figura 4: Sequência de aplicação do Patch-non-Patch®: A) o filme é aplicado sobre a pele previamente umedecida, exercendo-se pressão por alguns segundos; B) realiza-se a remoção do papel siliconizado; C) o filme permanece sobre a pele (Modificado de PADULA *et al.*, 2007).

Padula e colaboradores (2003) e Padula e colaboradores (2010) testaram esta tecnologia para o estudo da liberação transdérmica de lidocaína. Femenía-Font e colaboradores (2006) realizaram testes com o sumatriptano. Nicoli e Santi (2006) a testaram para a liberação de aminoglicosídeos. Nicoli e colaboradores (2006) a testaram para a liberação da oxibutinina. Padula e colaboradores (2009) avaliaram a permeação de microemulsões de levotiroxina a partir deste adesivo transdérmico. Em todos os casos foram obtidos resultados satisfatórios de permeação apontando para o sucesso deste novo sistema (PADULA *et al.*, 2003; FEMENÍA-FONT *et al.*, 2006; NICOLI *et al.*, 2006; NICOLI & SANTI, 2006; PADULA, NICOLI & SANTI, 2009; PADULA, FULGONI & SANTI, 2010).

O Patch-non-Patch® também pode ser utilizado em condições oclusivas, com a aplicação de uma película impermeável sobre o *patch* (PADULA *et al.*, 2007). Nesta condição, a permeação dos fármacos sumatriptano, oxibutinina e levotiroxina aumentou consideravelmente (FEMENÍA-FONT *et al.*, 2006; NICOLI *et al.*, 2006; PADULA, NICOLI & SANTI, 2009).

1.4.3 GEL

Os géis são formulações farmacêuticas semi-sólidas. A utilização de géis transdérmicos é uma alternativa à utilização dos *patches* com a vantagem de permitir um maior ajuste da dose (JÄRVINEN *et al.*, 2000).

Walters e colaboradores (1998) estudaram a liberação transdérmica do estradiol a partir de duas formulações de gel. Foi observado que as reações cutâneas com este tipo de formulação são menores se comparadas aos *patches* transdérmicos, com eficiência similar (WALTERS *et al.*, 1998). Järvinen e colaboradores (2000) também estudaram a liberação do estradiol a partir de um gel transdérmico. Foi observado que a permeação do fármaco é proporcional à dose, podendo-se ajustá-la variando a quantidade de formulação aplicada (JÄRVINEN *et al.*, 2000). Järvinen e colaboradores (2001) compararam a absorção do estradiol a partir de um gel e de um *patch* transdérmico. Foi observada uma correspondência de absorção entre ambas as formulações (JÄRVINEN *et al.*, 2001). Atualmente, a grande maioria das formulações transdérmicas comerciais de estradiol se encontra na forma de gel.

Rhee e colaboradores (2008) preparam um gel transdérmico de ibuprofeno e Kim e colaboradores (2011) prepararam um gel transdérmico de testosterona. Foi observada boa eficácia de ambas as formulações, mostrando a viabilidade da utilização deste tipo de formulação para a liberação transdérmica de fármacos (RHEE *et al.*, 2008; KIM, HOWLES e LEE, 2011).

Outros sistemas terapêuticos mais sofisticados podem ser propostos para a liberação transdérmica de fármacos. Entretanto, a combinação de microemulsões ou soluções, com géis ou adesivos se mostra como a alternativa mais barata e adaptável para escala industrial, superando até o momento, em número, todas as demais formulações transdérmicas existentes.

2 OBJETIVOS

O objetivo principal deste trabalho consiste no desenvolvimento de formulações para a liberação transdérmica da doxazosina, visando a sua aplicação principalmente na terapia da Hiperplasia Prostática Benigna. A administração transdérmica da doxazosina seria uma alternativa a sua administração oral, permitindo maior facilidade de administração a pacientes idosos ou com dificuldade de deglutição, anular o efeito do metabolismo de primeira-passage, além de proporcionar uma liberação prolongada e de diminuir as variações plasmáticas do fármaco.

Como objetivos específicos podem ser considerados os seguintes aspectos:

- Preparar as microemulsões de doxazosina e caracterizá-las;
- Preparar os *patches* transdérmicos de doxazosina e caracterizá-los;
- Preparar o gel transdérmico de doxazosina e caracterizá-lo;
- Avaliar o perfil de permeação transdérmica *in vitro* da doxazosina (base e mesilato) a partir das formulações preparadas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

As matérias-primas, solventes e os reagentes utilizados possuíam grau analítico e os equipamentos foram previamente calibrados. Todas as soluções e tampões foram preparados com água MilliQ.

EQUIPAMENTOS:

- Analisador de tamanho de gotícula - Horiba LB 550
- Analisador termogravimétrico – Shimadzu TGA-50
- Balança analítica - Mettler Toledo AG 204
- Calorímetro de varredura diferencial – Shimadzu DSC-60
- Células de difusão vertical do tipo *Franz* - DISA
- Condutivímetro - Quimis
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência – Perkin Elmer Isocratic LC 250
- Detector espectrofotométrico UV/Vis – Perkin Elmer 785 A
- Espectrofotômetro FT-IR - Perkin Elmer
- Espectrômetro de ressonância magnética nuclear - Varian MR-400
- Estufa – Heraeus Function Line
- Faca moldadora de 0,45 μm - BYK Gardner
- Garras para Célula de *Franz* - Pyrex
- Pipeta ajustável- Eppendorf
- Placa aquecedora com agitação - Corning PC 230
- Potenciômetro - Quimis
- Refratômetro de Abbe - Analikjena
- Software Chemix®
- Software Statistica® 7.1 – STATSOFT, Inc (2005)
- Vidraria – Pyrex
- Viscosímetro Brookfield - Model DV- II , acoplado ao Helipath Stand

MATÉRIAS-PRIMAS E REAGENTES:

- Ácido láurico – Sigma Aldrich
- Ácido perclórico 70% - Sigma Aldrich
- α -Ciclodextrina – Sigma Aldrich
- β -Ciclodextrina – Sigma Aldrich
- 2-Hidroxiopropil- β -ciclodextrina – Sigma Aldrich
- Cloreto de sódio P.A. - Spectrum
- Doxazosina Mesilato – NOSCH Laboratories, Lote DM0020806 99,8% de pureza por CLAE
- Fosfato de potássio dibásico P.A. - Vetec
- Fosfato de sódio hidratado P.A. – Vetec
- Heptanosulfonato de sódio – Sigma Aldrich
- Hidróxido de sódio P.A. – Vetec
- Hidroxipropilcelulose EXF –Klucel® - Hercules
- Isobutanol - Tedia
- Laurocapram – Azona - Nelson Research
- Metanol grau CLAE – Sigma Aldrich
- Miristato de isopropila P.A. - Vetec
- 2-Pirrolidona –Soluphor®P – Basf
- Plastoid® E 35 H - Rofarma
- Polietilenoglicol 400 – Fluka Chemie
- Polivinil álcool 83400 – Nippon Ghosei
- Polivinil pirrolidona K90 - Basf
- Propilenoglicol – Basf
- Sorbitol - Vetec
- Span® 80 - Sigma Aldrich
- Span® 20 - Sigma Aldrich
- Transcutol® - Sigma Aldrich
- Triglicerídio cáprico-caprílico -Miglyol® - Sasol
- Tween® 80 - Sigma Aldrich

3.2 MÉTODOS

3.2.1 PREPARAÇÃO DA DOXAZOSINA BASE

A partir do mesilato de doxazosina (DOXA MESIL), foi preparada a doxazosina base (DOXA). Aproximadamente 20,0 g de DOXA MESIL foram adicionados a 500 mL de água MilliQ, formando-se uma solução que foi deixada sob agitação por cerca de 30 min. A esta preparação, foi adicionada solução de NaOH a 10,0% (m/v) até se atingir um pH próximo a 12, no qual a DOXA precipita. A DOXA obtida foi filtrada em funil de Buchner com o auxílio de vácuo, lavada com 500 mL de água MilliQ e seca em dessecador por 72 horas. Posteriormente, esta foi pulverizada e calibrada em tamiz malha 40 mesh.

3.2.2 ANÁLISE DE DOXA E DOXA MESIL POR CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC) E POR TERMOGRAVIMETRIA (TGA)

As análises de DSC foram realizadas no Laboratório de Tecnologia Industrial Farmacêutica (LabTIF) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), utilizando-se equipamento SHIMADZU Differential Scanning Calorimeter DSC-60. Amostras de cerca de 1,5 – 2 mg foram pesadas em recipiente de alumínio e analisadas sob atmosfera de nitrogênio na faixa de temperatura de 10 – 350°C, com taxa de aquecimento de 10°C/min.

As análises de TGA foram também realizadas no LabTIF - UFRJ, utilizando-se equipamento SHIMADZU Thermogravimetric Analyzer TGA-50. Amostras de cerca de 4 – 5 mg foram analisadas na faixa de temperatura de 10 – 700°C, com taxa de aquecimento de 10°C/min.

3.2.3 ANÁLISE DE DOXA E DOXA MESIL POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)

As análises foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Análises por RMN (LAMAR) do Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais (NPPN) – UFRJ. Os espectros de RMN H^1 e C^{13} foram obtidos em espectrômetro Varian RMN MR-400 (400 MHz), utilizando o composto tetrametil silano como padrão de referência. Soluções a 1,0% m/v de DOXA e DOXA MESIL foram preparadas em dimetilsulfóxido (DMSO) deuterado e analisadas para caracterização dos compostos obtidos.

3.2.4 ANÁLISE DE DOXA E DOXA MESIL POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO (IV-TF)

As análises foram realizadas no Laboratório de Controle de Qualidade de Fármacos e Medicamentos (LabCQ) – UFRJ e foram conduzidas em espectrofotômetro FT-IR Perkin Elmer. As posições das bandas nos espectros foram apresentadas em número de ondas (ν) cuja unidade é o centímetro inverso (cm^{-1}) e as intensidades das bandas estão expressas como transmitância (T). Foram pesados aproximadamente 3 mg de amostra, sendo a mesma misturada com KBr e tal mistura foi compactada em prensa hidráulica sob 15 bar de pressão por 2 minutos.

3.2.5 ANÁLISE DE DOXA E DOXA MESIL POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

As análises do fármaco por CLAE foram realizadas segundo metodologia descrita por KIM e colaboradores (2006). Foi utilizada coluna Alltech Hypersil BDS C18 (150,0 x 4,6 mm, 5 μm) mantida a 40°C e fase móvel composta de água contendo 10 mM de ácido perclórico e 1,8 mM de heptanosulfonato de sódio –

metanol (50:50 v/v), utilizando-se eluição isocrática (KIM *et al.*, 2006). O fluxo utilizado foi de 1,0 mL/min. e a detecção foi realizada com detector UV com comprimento de onda igual a 250 nm. As mesmas condições de análise foram utilizadas para a base livre e para o sal.

3.2.6 ELABORAÇÃO DAS RETAS DE CALIBRAÇÃO DE DOXA E DOXA MESIL

Para a construção da curva de calibração da DOXA MESIL e da DOXA, utilizou-se água MilliQ e metanol, respectivamente, como solventes para a preparação das soluções-mãe. Com a utilização da DOXA MESIL, foi preparada uma solução-mãe com concentração de 50,0 µg/mL de DOXA MESIL, o equivalente a uma concentração de 41,22 µg/mL de DOXA, utilizando-se $f_c=1,213$. Com a DOXA, foi preparada uma solução-mãe com concentração de 50,0 µg/mL de DOXA.

A partir da solução-mãe contendo DOXA MESIL ou DOXA, foram preparadas soluções em tampão fosfato pH=7,4 (PBS, do inglês *Phosphate Buffer Solution*) com as concentrações de DOXA: 0,008 µg/mL; 0,041 µg/mL; 0,412 µg/mL; 0,824 µg/mL; 4,122 µg/mL; 16,488 µg/mL e 0,01 µg/mL; 0,5 µg/mL; 1,0 µg/mL; 5,0 µg/mL; 10,0 µg/mL; 20,0 µg/mL, respectivamente.

Estas soluções foram analisadas em triplicata por CLAE e as médias das áreas encontradas nos cromatogramas foram plotadas em função de sua respectiva concentração.

3.2.7 DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE DO FÁRMACO

A solubilidade da DOXA MESIL foi determinada em água MilliQ, em solução fisiológica (SF) 0,9% (m/v) e em PBS pH=7,4. Já a solubilidade da DOXA foi determinada em água MilliQ, em SF, em PBS e em diferentes soluções de ciclodextrinas (CD). As soluções de CD utilizadas foram: α-CD a 5,0% (m/v) em PBS; β-CD a 0,5% e a 1,0% (m/v) em PBS e a 1,0% (m/v) em SF e em água MilliQ e 2-hidroxiopropil-β-CD (2-HP-β-CD) a 1,0%, a 2,5% e a 5,0% (m/v) em PBS.

Para a realização do ensaio de solubilidade, um excesso de fármaco (aproximadamente 100 mg) foi adicionado a 1 mL da respectiva solução e o sistema foi deixado sob agitação por 15 horas à temperatura ambiente. A suspensão obtida foi filtrada com o auxílio de filtro de celulose regenerada com poro de 0,45 µm. Foram realizadas as diluições necessárias no solvente adequado e a solução diluída foi analisada por CLAE para determinação da quantidade de insumo dissolvida.

A determinação da solubilidade do fármaco foi realizada comparando-se com uma solução padrão de concentração conhecida. Esta foi preparada pesando-se 6,06 mg de DOXA MESIL ou 5,00 mg de DOXA e dissolvendo-se o fármaco em 100,0 mL de água MilliQ ou em 100,0 mL de metanol, respectivamente. A partir das respectivas soluções, foi retirada uma alíquota de 1,0 mL e estas foram diluídas em 10,0 mL do solvente adequado, obtendo-se uma solução de concentração final igual a 5,00 µg/mL de DOXA. A concentração da solução amostra ($C_{amostra}$) foi determinada com o auxílio da Equação (1):

$$C_{amostra} = \frac{A_{amostra} \times C_{padrão}}{A_{padrão}} \quad \text{Equação (1)}$$

3.2.8 PREPARO DOS SISTEMAS TERAPÊUTICOS TRANSDÉRMICOS

3.2.8.1 PREPARO DAS MICROEMULSÕES

Para o preparo das microemulsões, foram utilizados os tensoativos Tween® 80 (T 80), Span® 80 (S 80) e Span® 20 (S 20), os cossolventes isobutanol (IBT), 2-pirrolidona (PRD) e triglicerídio cáprico-caprílico (TCC) e, como componente de fase oleosa, foram utilizados miristato de isopropila (MI) e PRD. As proporções utilizadas foram baseadas na formulação de referência descrita por Nandi e colaboradores (2003) (NANDI, BARI & JOSHI, 2003). A dose diária máxima de doxazosina que deve ser utilizada no tratamento da HPB é de 8,0 mg (MACDIARMID *et al.*, 1999; DJAVAN, 2004; JOHNSON *et al.*, 2007; AUFFENBERG, HELFAND & McVARY, 2009). Para a realização deste estudo foi considerada uma dose diária ideal de 4,0 mg.

Em algumas formulações, acrescentou-se também um promotor de permeação, como o Ácido Láurico, o Transcutol® ou a Azona. A DOXA MESIL foi acrescentada de forma a se obter 4,0 mg de DOXA em um total de 300,0 mg de formulação, podendo-se acrescentar o fármaco antes ou após a adição de água.

O preparo das microemulsões seguiu o procedimento descrito por Nandi e colaboradores (2003), realizando-se primeiramente a mistura dos tensoativos, seguida pela adição do óleo e do cossolvente, sob agitação magnética, e, por último, adicionou-se o promotor de permeação, o fármaco e a água (NANDI, BARI & JOSHI, 2003).

As microemulsões foram classificadas como MD-01 a MD-16 (Tabela 1).

Tabela 1: Formulações de microemulsão.

Formulação	T 80	S 80	S 20	IBT	TCC	PRD	MI	PP	ÁGUA	FÁRMACO
MD-01	20,5%	---	20,5%	4,5%	---	---	36,3%	---	18,2%	DM / PA
MD-02	20,5%	---	20,5%	4,5%	---	---	36,3%	---	18,2%	DM / AA
MD-03	20,5%	20,5%	---	4,5%	---	---	36,3%	---	18,2%	DM / AA
MD-04	20,5%	---	20,5%	---	---	4,5%	36,3%	---	18,2%	DM / AA
MD-05	20,5%	---	20,5%	---	---	4,5%	36,3%	---	18,2%	DM / PA
MD-06	20,5%	---	20,5%	---	4,5%	36,3%	---	---	18,2%	DM / AA
MD-07	20,5%	---	20,5%	---	4,5%	36,3%	---	---	18,2%	DM / PA
MD-08	20,5%	---	20,5%	4,5%	---	36,3%	---	---	18,2%	DM / PA
MD-09	20,5%	---	20,5%	4,5%	---	36,3%	---	---	18,2%	DM / AA
MD-10	20,5%	---	20,5%	4,5%	---	33,0%	---	Ácido Láurico 3,3%	18,2%	DM / PA
MD-11	20,5%	---	20,5%	---	4,5%	33,0%	---	Ácido Láurico 3,3%	18,2%	DM / PA
MD-12	20,5%	---	20,5%	4,5%	---	33,0%	---	Transcutol® 3,3%	18,2%	DM / PA
MD-13	20,5%	---	20,5%	---	4,5%	33,0%	---	Transcutol® 3,3%	18,2%	DM / PA
MD-14	20,5%	---	20,5%	4,5%	---	23,2%	---	Transcutol® 13,1%	18,2%	DM / PA
MD-15	20,5%	---	20,5%	---	4,5%	23,2%	---	Transcutol® 13,1%	18,2%	DM / PA
MD-16	20,5%	---	20,5%	4,5%	---	33,8%	---	Azona 2,5%	18,2%	DM / PA

T 80 = Tween 80®; S 80 = Span 80®; S 20 = Span 20®; IBT = isobutanol; TCC = triglicerídio cáprico-caprílico; PRD = 2-pirrolidona; MI = miristato de isopropila; PP = Promotor de Permeação; DM = Doxazosina Mesilato; AA = Anteriormente à Adição de Água; PA = Posteriormente à Adição de Água.

3.2.8.1.1 CONSTRUÇÃO DOS DIAGRAMAS PSEUDOTERNÁRIO DE FASES

A construção do diagrama pseudoternário de fases foi realizada visando-se determinar as proporções exatas de cada componente da formulação para obtenção da microemulsão desejada (NORNOO *et al.*, 2009). Para sua construção, representou-se a mistura de dois tensoativos, na proporção de 1:1, em um vértice do triângulo; no segundo vértice, representou-se a mistura de óleo e cossolvente, na proporção 8:1, respectivamente, e no último vértice representou-se a água (NANDI, BARI & JOSHI, 2003). Foram variadas as proporções de fase oleosa – cossolvente (I) e de mistura de tensoativos (II). Foram utilizadas as seguintes proporções de I para II: 90:10, 80:20, 70:30, 60:40, 50:50, 40:60, 30:70, 20:80 e 10:90. Em cada uma dessas proporções, titulou-se a água até ocorrer turvação e, por fim, as proporções de cada componente da formulação foram recalculadas.

A água foi titulada de 10,0 em 10,0 μL , com o auxílio de uma pipeta ajustável. A quantidade máxima de água adicionada é aquela que mantém o sistema límpido e pouco viscoso, características essenciais das microemulsões (ROSSI *et al.*, 2007). Esses experimentos foram realizados em triplicata e considerou-se a média entre os três resultados. A partir dos dados obtidos, os diagramas pseudoternário de fases foram construídos com o auxílio do software Chemix®.

3.2.8.2 CARACTERIZAÇÃO DAS MICROEMULSÕES

3.2.8.2.1 AVALIAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DE GOTÍCULAS

A avaliação da distribuição do tamanho das gotículas das microemulsões foi realizada por espalhamento dinâmico de luz, também conhecido por espectroscopia de correlação de fótons (MOULIK & PAUL, 1998). O fenômeno da dispersão da luz é eficaz para calcular o tamanho de gotículas de uma microemulsão, pois considera o espalhamento fotodinâmico de luz da formulação e, desta maneira, fornece informações sobre o movimento translacional das gotículas da formulação, o que permite calcular o seu tamanho (ABOOFAZELI, BARLOW & LAWRENCE, 2000). A medida do coeficiente de difusão é usada para calcular o raio hidrodinâmico das

gotículas, utilizando a equação de *Stokes-Einstein* (Equação 2) (GODDEERIS *et al.*, 2006).

$$R_h = \frac{kT}{6\pi\eta D}$$

Equação 2: Equação de *Stokes Einstein*, sendo R_h = raio hidrodinâmico; k = constante de Boltzmann; T = temperatura absoluta; $\pi = 3,14$; η = viscosidade da fase contínua e D = coeficiente de difusão (Adaptada de GODDEERIS *et al.*, 2006).

Previamente à realização das análises, foi determinado o índice de refração (IR) da fase contínua da formulação, utilizando-o no cálculo do coeficiente de difusão, fundamental na determinação do tamanho de gotículas (ABOOFAZELI, BARLOW & LAWRENCE, 2000). As análises foram realizadas em triplicata e à temperatura ambiente.

3.2.8.2.2 MEDIDA DO ÍNDICE DE REFRAÇÃO (IR)

A determinação do IR das amostras é importante, pois através desse parâmetro pode-se avaliar a estabilidade das microemulsões, além de auxiliar na determinação do tipo de microemulsão, água em óleo (A/O) ou óleo em água (O/A) (KAMILA, *et al.*, 2009). O IR das amostras foi determinado pelo refratômetro de Abbe. O aparelho foi calibrado com água destilada, à 25°C, obtendo-se o valor de 1,325 (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1988). As medidas do IR foram feitas em triplicata, à temperatura ambiente. O IR das amostras foram comparados ao IR da fase oleosa e da água.

3.2.8.2.3 MEDIDA DA CONDUTIVIDADE ELÉTRICA (CE)

A CE é uma ferramenta muito utilizada na determinação de domínios contínuos aquosos ou oleosos da formulação. Ela também é empregada na observação de modificações estruturais das microemulsões (LAWRENCE & REES, 2000).

A medida da CE das formulações foi realizada em triplicata com o uso de um condutímetro previamente calibrado, por uma solução de cloreto de sódio (NaCl) de concentração igual a 5,0 mg/L, que apresenta condutividade igual a 10,0 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Para determinar se o tipo de sistema obtido se caracteriza como uma microemulsão O/A ou A/O, avaliou-se, primeiramente, a CE do solvente aquoso isolado e do solvente oleoso isolado. Em seguida, realizou-se a medida de CE da amostra. Esses valores foram comparados com os obtidos para a água e para o óleo. Quando a CE da amostra era mais próxima à da água, a formulação foi designada como O/A; se o valor encontrado era mais próximo ao do óleo, a formulação foi caracterizada como A/O (LAWRENCE & REES, 2000; AULTON, 2005).

3.2.8.3 PREPARO DAS SOLUÇÕES

Foram preparadas soluções saturadas de DOXA MESIL em água MilliQ e em PRD e de DOXA em MI, em PRD e em Propilenoglicol (PPG). Foram ainda preparadas soluções saturadas de DOXA em PRD + Azona (3,0% m/m), em PPG + Azona (3,0% m/m) e em PPG + Azona (5,0% m/m). O preparo das soluções foi realizado acrescentando-se um excesso de fármaco (aproximadamente 800 mg) a 10 mL do respectivo solvente e deixando-se o sistema sob agitação durante 15 horas à temperatura ambiente. A suspensão obtida foi filtrada com o auxílio de filtro de celulose regenerada com poro de 0,45 μm , obtendo-se uma solução límpida e saturada.

3.2.8.4 CARACTERIZAÇÃO DAS SOLUÇÕES

Para se determinar o teor de fármaco nas soluções saturadas obtidas e, conseqüentemente, a solubilidade do fármaco no respectivo solvente, foram realizadas as diluições necessárias da solução saturada em água MilliQ e a solução diluída foi analisada por CLAE.

A determinação da solubilidade foi realizada comparando-se a solução amostra com uma solução padrão de concentração conhecida, com o auxílio da Equação (1).

3.2.8.5 PREPARO DOS FILMES (PATCHES)

Os filmes Patch-non-Patch® (Tabela 2) foram preparados através da técnica de laminação (COLOMBO *et al.*, 2002; FEMENÍA-FONT *et al.*, 2006; PADULA, NICOLI & SANTI, 2009).

Tabela 2: Composição dos patches (% m/m) em massa úmida.

Componentes	PnPD-01	PnPD-02	PnPD-03
Solução PVA 20,0% (m/m)	62,00%	62,00%	62,00%
Plastoid® E 35 H	27,00%	---	---
Adesivo	---	27,00%	27,00%
PRD	6,82%	---	---
PRD + Azona (3,0%)	---	6,37%	---
PPG + Azona (3,0%)	---	---	6,37%
Solução sorbitol 70,0% (m/m)	4,00%	4,00%	4,00%
DOXA MESIL	0,18%	---	---
DOXA	---	0,63%	0,63%
Adesivo			
Água	66,70%		
PVP K90	21,30%		
PEG 400	12,00%		

PVA = polivinil álcool; PRD = 2-pirrolidona; PPG = propilenoglicol; PVP = polivinil pirrolidona; PEG = polietilenoglicol.

Primeiramente, o polivinil álcool (PVA) foi hidratado em água a uma concentração de 20,0% (m/m), sendo deixado sob agitação magnética *overnight*. Realizou-se o aquecimento desta solução em banho-maria a 90°C para finalizar a solubilização do PVA. O sistema adesivo foi preparado dissolvendo-se a polivinil pirrolidona – PVP K90 (21,3% m/m) em polietilenoglicol – PEG 400 (12% m/m) e em água (66,7% m/m). A preparação do *patch* foi realizada adicionando-se, primeiramente, o fármaco (DOXA MESIL ou DOXA) ao solvente [PRD, PRD + Azona (3,0%) ou PPG + Azona (3,0%)], deixando-se este sistema sob agitação magnética. Posteriormente, foram adicionados a este sistema a solução de sorbitol 70,0% (m/m) em água, o Plastoid® E 35 H ou o sistema adesivo e a solução de PVA 20,0% (m/m).

Este sistema foi deixado em repouso para a eliminação das bolhas de ar que, porventura, foram formadas durante a agitação magnética. As misturas foram estendidas sobre papel siliconizado, utilizando-se uma faca moldadora de 0,45 µm (BYK Gardner, Silverspring, MD, USA), e submetidas à secagem em estufa a 60°C por 30 minutos (Figura 5). Após a secagem, os filmes foram cobertos com outro papel siliconizado e foram individualmente embalados em envelopes de alumínio (COLOMBO *et al.*, 2002; FEMENÍA-FONT *et al.*, 2006; PADULA, NICOLI e SANTI, 2009).



Figura 5: Técnica de preparação dos filmes Patch-non-Patch®: a) a mistura obtida é depositada dentro da faca moldadora; b e c) é, então, estendida sobre papel siliconizado com o auxílio da faca de 0,45 μm ; d) obtém-se um filme sobre o papel siliconizado; e) o filme é submetido à secagem em estufa a 60°C durante 30 minutos; f) obtenção do Patch-non-Patch®.

Antes de se realizar a secagem em estufa, foi avaliada a estabilidade do fármaco a esta temperatura, submetendo-se uma solução amostra a estufa aquecida a 60°C durante 30 minutos. Após este intervalo de tempo, esta foi comparada a uma solução deixada à temperatura ambiente, sendo ambas analisadas, em triplicata, por CLAE.

3.2.8.6 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES (PATCHES)

Os teores dos filmes Patch-non-Patch® preparados foram determinados cortando-se um círculo de 0,6 cm² do filme, com massa conhecida, e dissolvendo-o em 10,0 mL de PBS ou de solução de 2-HP-β-CD a 2,5% (m/v) em PBS. A concentração desta solução foi obtida, através de análise em triplicata por CLAE, comparando-a com uma solução padrão de concentração conhecida, com o auxílio da Equação (1). Posteriormente, determina-se a massa de fármaco presente em 0,6 cm² do filme, o qual teve sua massa previamente conhecida e, conseqüentemente, em 1,0 mg e em 100,0 mg do filme. Desta forma, pode-se calcular o teor do fármaco presente.

3.2.8.7 PREPARO DO GEL

O gel de DOXA GD-01 (Tabela 3) foi preparado a partir de uma solução de DOXA em PPG + Azona (3,0%) com concentração de 7,0 mg/mL de fármaco, a qual foi acrescentada lentamente a hidroxipropilcelulose EXF (HPC - EXF), submetendo-se o sistema à agitação magnética. Após a completa homogeneização, o sistema foi deixado em repouso para a eliminação das bolhas de ar formadas.

Tabela 3: Composição do gel GD-01.

Componentes	Composição (% m/m)
PPG + Azona (3,0% m/m)	89,37
DOXA	0,63
HPC (EXF)	10,00

PPG = propilenoglicol; HPC = hidroxipropilcelulose.

3.2.8.8 CARACTERIZAÇÃO DO GEL

Foi realizado o doseamento do gel obtido, pesando-se 0,496 g da formulação e diluindo-a em 25,0 mL de metanol. Desta solução, retirou-se uma alíquota de 1,0 mL e esta foi diluída em 25,0 mL de água MilliQ, obtendo-se uma solução de concentração teórica próxima a da solução padrão, ou seja, de 5,0 µg/mL.

A determinação da concentração da solução amostra foi realizada comparando-se a área obtida pela análise por CLAE desta solução com a da solução padrão de concentração conhecida, com o auxílio da Equação (1).

Foi utilizado um viscosímetro Brookfield, que se trata de um viscosímetro de rotação tipo cone e placa, com cone de 60 mm e ângulo de 2° para determinação da viscosidade. Uma amostra de 3 g foi colocada na placa com aquecimento de 37°C e o cone rotatório começa a girar sobre velocidades crescentes e decrescentes ajustáveis. A análise de determinação da viscosidade foi realizada em triplicata. Foi observado o comportamento da viscosidade do gel em função do tempo, durante 120 minutos, realizando-se análises com intervalos de 20 minutos.

3.2.9 PREPARO DO TECIDO ANIMAL

O tecido animal foi fornecido pelo matadouro “Annone di Madonna dei Prati” (Parma, Itália). A pele de orelha de porco foi obtida a partir de animais jovens, com até 6 meses de idade, albinos e recém-abatidos. O tecido suíno foi selecionado para a realização dos experimentos de permeação, pois é o tecido animal que mais se assemelha estruturalmente ao tecido humano (MEYER *et al.*, 1978; CALABRESE, 1984; MONTEIRO-RIVIERE & RIVIERE, 1996; BARBERO & FRASCH, 2009).

As orelhas foram lavadas em água corrente, secas com papel absorvente e posicionadas sobre papel alumínio. Realizou-se incisão com bisturi cirúrgico para delimitação da área de pele íntegra, descartando-se as áreas onde eram observadas lesões, manchas ou arranhões.

Utilizando-se uma pinça anatômica e um bisturi, foi realizada a dissecação, extraindo-se a epiderme juntamente com a derme e descartando-se a hipoderme. Os pêlos foram, então, aparados com o auxílio de uma tesoura. As amostras de pele dissecadas foram cortadas em tamanhos padronizados que se adequassem à área de permeação de 0,6 cm² das células de difusão vertical. Para a obtenção da epiderme isolada, a pele dissecada já cortada nos tamanhos padronizados, foi submetida a banho-maria em água MilliQ a 60°C durante 2 minutos. A epiderme foi

separada da derme com o auxílio de uma espátula. As amostras de pele e de epiderme isoladas foram posicionadas sobre papel de filtro, seladas em papel alumínio e acondicionadas em freezer, onde foram mantidas por, no máximo, 1 mês. A dissecação do tecido animal é demonstrada na Figura 6.

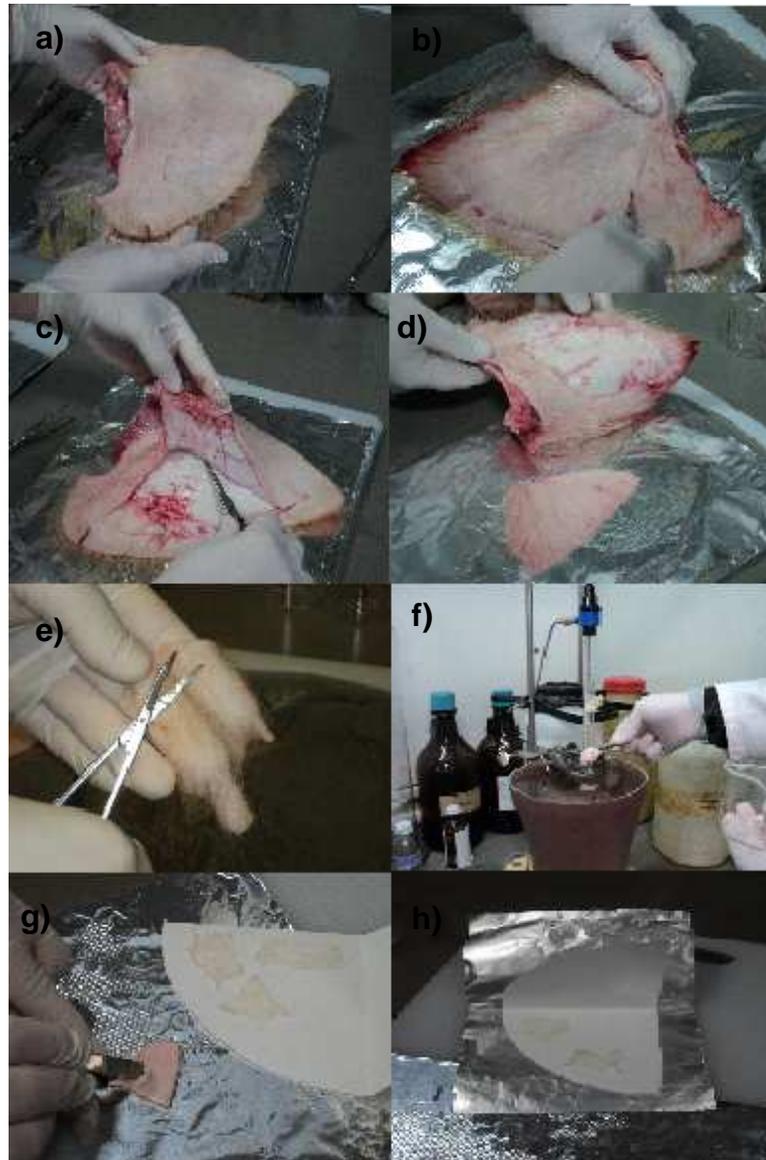


Figura 6: Dissecção do tecido animal: a) orelha de porco limpa; b, c, d) extração da derme e da epiderme; e) corte dos pêlos; f) tecido submetido a banho-maria; g) separação da epiderme; h) acondicionamento em papel alumínio.

No momento de utilização, as amostras de tecido desejadas foram descongeladas à temperatura ambiente em solução fisiológica 0,9% (m/v).

3.2.10 ENSAIOS DE PERMEAÇÃO *IN VITRO*

Os experimentos de permeação foram realizados utilizando células de difusão vertical do tipo *Franz* com 0,6 cm² de área de difusão, compartimento doador e receptor com capacidades aproximadas de 1 mL e 4 mL, respectivamente. O tecido biológico animal foi posicionado sobre o compartimento receptor, como mostrado na Figura 7, com o estrato córneo voltado para o compartimento doador. Adicionou-se cerca de 4 mL da respectiva solução no compartimento receptor. Para cada ensaio de permeação realizado, foram utilizadas quatro células de *Franz*, cada uma contendo tecido da orelha de animais diferentes. As células de difusão foram submetidas a banho com temperatura controlada de 37°C, como mostra a Figura 8 (PADULA, NICOLI & SANTI, 2009).



Figura 7: Célula de difusão vertical do tipo *Franz*, com o tecido animal posicionado sobre o compartimento receptor.

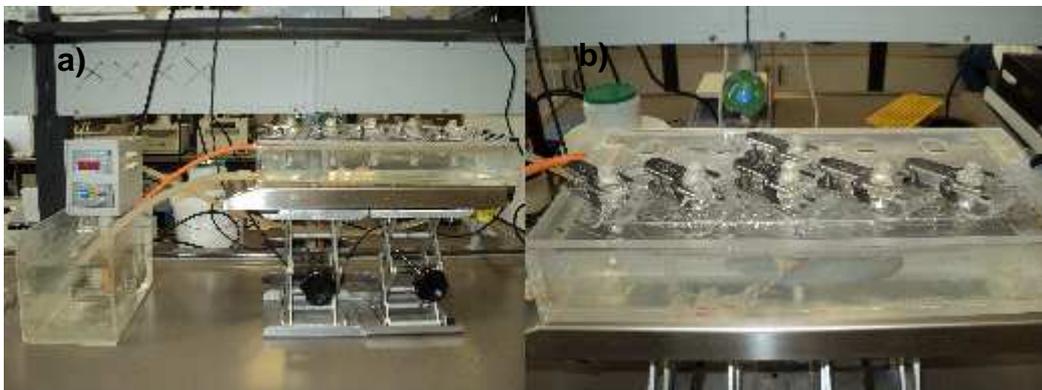


Figura 8: Células de difusão vertical do tipo *Franz* submetidas a banho com temperatura controlada: a) sistema completo montado para a realização do experimento; b) disposição das células de *Franz*.

Inicialmente, foi realizado o teste de interferência da pele no ensaio de permeação. A pele suína foi posicionada entre os compartimentos receptor e doador e a estes foi adicionada a solução receptora. O sistema foi deixado sob agitação durante toda a noite. Foi recolhida alíquota para análise na manhã seguinte. Foi observado se há a formação, no cromatograma, de algum pico referente à pele com o mesmo tempo de retenção do pico referente ao fármaco.

Quatro diferentes tipos de formulações foram utilizados nos ensaios. Nos experimentos utilizando as microemulsões, as soluções e o gel, foram adicionados 1 mL de cada formulação no compartimento doador, aplicando-se a condição de dose infinita. Já quando se utilizou os filmes, estes foram cortados em círculos de 0,9 cm² (Figura 9), aplicando-se a condição de dose finita, e posicionados sobre o tecido, previamente umedecido com 15 µL/cm² de água MilliQ, para auxiliar a adesão (PADULA *et al.*, 2003). Foram realizados ensaios de permeação utilizando-se condições não oclusivas e oclusivas; nesta última, uma película de polietileno foi aplicada sobre o filme (PADULA, NICOLI & SANTI, 2009).

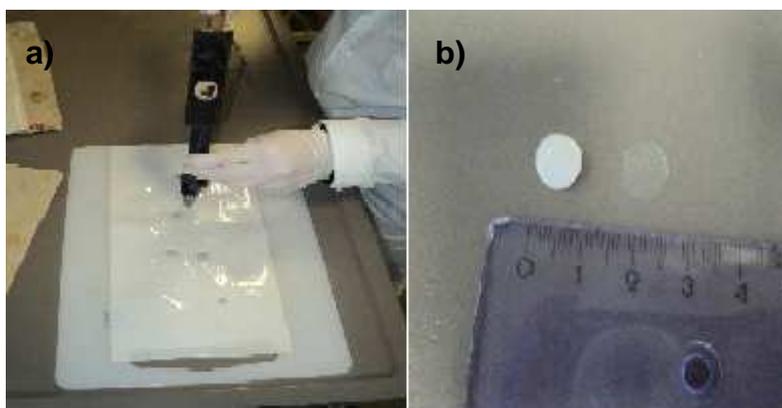


Figura 9: Preparação dos filmes para o ensaio de permeação: a) corte do filme; b) filme pronto para o ensaio de permeação *in vitro*.

Cada experimento teve 24 horas de duração, realizando-se o recolhimento de alíquotas de 0,3 mL, com reposição, no tempo zero (antes da adição da formulação, exceto para os ensaios com o filme) e após 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 22, 23 e 24 horas de ensaio. As alíquotas recolhidas foram analisadas por CLAE, com a determinação da

quantidade de fármaco permeada por comparação com uma solução padrão, através da Equação (1).

Os perfis de permeação foram enquadrados à Equação (3) (MOSER *et al.*, 2001):

$$Q = (KH)C_{veh} \left[\frac{D}{H^2}t - \frac{1}{6} - \frac{2}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n^2} \exp\left(\frac{-Dn^2\pi^2t}{H^2}\right) \right] \quad \text{Equação (3)}$$

onde Q é a quantidade cumulativa de fármaco permeado por unidade de área no tempo t , C_{veh} é a concentração de fármaco na formulação, K é o coeficiente de partição entre estrato córneo/veículo, D é o coeficiente de difusão e H é o caminho de difusão. O coeficiente de permeabilidade P é calculado como o produto entre KH e D/H^2 e o fluxo de permeação J como o produto entre P e C_{veh} .

Os dados foram representados graficamente como a média da Q entre as células de *Franz* \pm o erro padrão da média (EPM) em função do tempo t (NICOLI *et al.*, 2008; PADULA, NICOLI & SANTI, 2009).

3.2.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada aplicando-se o teste t de Student, utilizando-se o software Statistica® 7.1 – STATSOFT, Inc. (2005).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PREPARAÇÃO DA DOXAZOSINA BASE

Ao se adicionar a DOXA MESIL à água, sob agitação magnética, formou-se uma solução, a qual foi adicionada a solução de NaOH 10,0% (m/v). Ao se atingir um valor de pH próximo a 12, houve a completa precipitação do fármaco, com a formação de uma fase mais densa, pastosa e branca e de outra fase menos densa, líquida e transparente. Este foi já um indício da formação da DOXA. A fase pastosa foi filtrada em funil de Buchner, lavada com 500 mL de água MilliQ e seca em dessecador, ambos sob vácuo. Houve a formação de grumos de um pó branco, o qual foi tamizado. O rendimento de precipitação não foi calculado uma vez que se buscava apenas obter material para as formulações e não se ajustar um processo de preparação da base livre. Este procedimento é recorrente na preparação de ácidos ou bases livres a partir de seus sais derivados, em especial, quando a espécie não ionizada é pouco ou praticamente insolúvel em água (VOGEL, 1989). Posteriormente, a DOXA foi caracterizada para confirmar sua obtenção.

4.2 ANÁLISE DE DOXA E DOXA MESIL POR DSC E TGA

A análise da DOXA MESIL por DSC foi comparada com os resultados obtidos por Sohn e Lee (2005) e por Pavli e colaboradores (2010). Sohn e Lee (2005) analisaram oito formas polimórficas, sendo uma forma metastável de DOXA MESIL. Os pontos de fusão para as oito isoformas variaram entre 238,14° até 282,17°C, enquanto a forma metastável, analisada em duplicata, apresentou ponto de fusão igual a 260,74° e 280,22°C (SOHN & LEE, 2005). Já Pavli e colaboradores (2010) analisaram somente uma amostra cristalina, encontrando um ponto de fusão igual a 280,00°C para esta forma metastável (PAVLI, VRECER & BAUMGARTNER, 2010). Tais resultados apontam para existência de diferentes polimorfos ou politipos para este fármaco. Os resultados encontrados nas análises de DSC para a DOXA MESIL e para a DOXA, mostrados nas Figuras 10 e 11, respectivamente, reforçam a hipótese da presença de dois polimorfos na amostra de DOXA MESIL analisada.

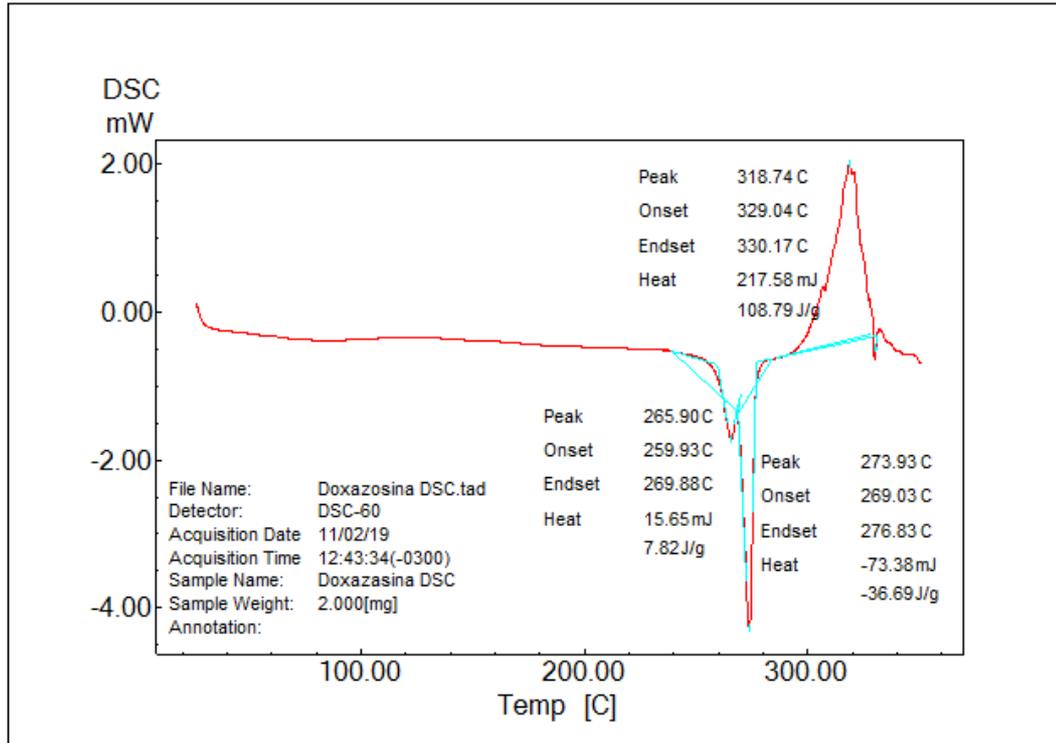


Figura 10: Análise de DSC de uma amostra de DOXA MESIL.

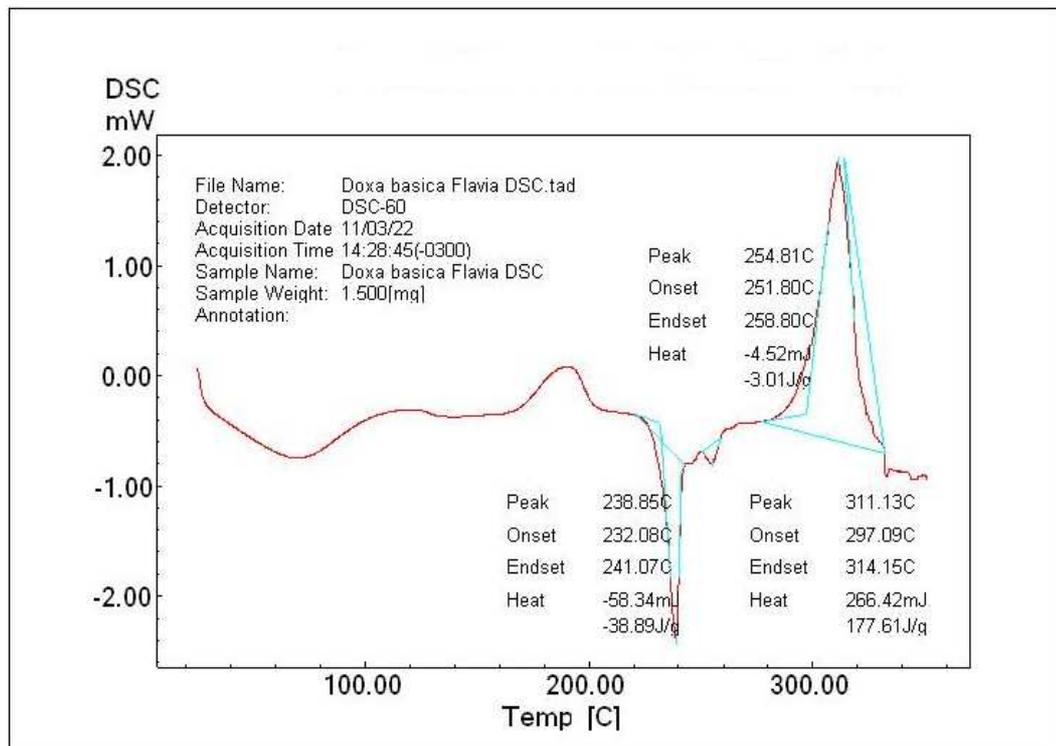


Figura 11: Análise de DSC de uma amostra de DOXA.

Foi observada a ocorrência de dois eventos endotérmicos muito próximos para a amostra de DOXA MESIL, um menor a 265,90°C e outro maior a 273,93°C, valores muito próximos aos observados por Sohn e Lee (2005) e por Pavli e colaboradores (2010) para as formas metastáveis de DOXA MESIL. Entretanto, a endoterma a 273,93°C se mostra majoritária, indicando ser a amostra composta majoritariamente do polimorfo metastável com algum grau de amorfização. O ponto de fusão da amostra, no entanto, encontra-se próximo àquele descrito na literatura. Quando se realiza a precipitação da DOXA MESIL, se verifica uma diminuição no ponto de fusão, sendo observados dois eventos endotérmicos, um maior a 238,85°C, provavelmente associado à fusão da base livre e outro bem menor a 254,81°C, resíduo do polimorfo menos estável ainda presente. Pode-se observar uma diminuição de aproximadamente 35°C no ponto de fusão da DOXA em relação à DOXA MESIL, indicando o sucesso da precipitação.

As curvas de TGA obtidas para a DOXA MESIL e para a DOXA são mostradas nas Figuras 12 e 13, respectivamente. A partir desta análise, observa-se que não houve perda de massa na região de temperatura onde se observam os picos na análise de DSC, provando que estas formas são não-solvatadas e que a mudança de massa observada, em ambos os casos, se associa à provável desacilação da molécula inicial, idêntica para ambas as estruturas (SOHN & LEE, 2005).

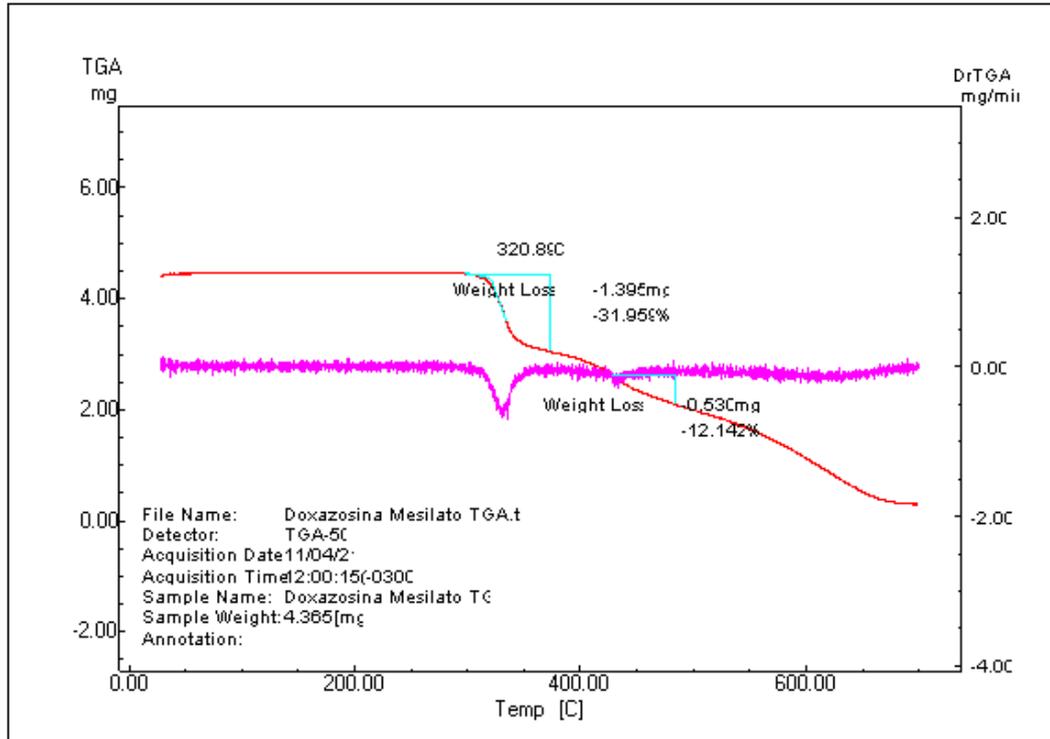


Figura 12: Análise de TGA de uma amostra de DOXA MESIL.

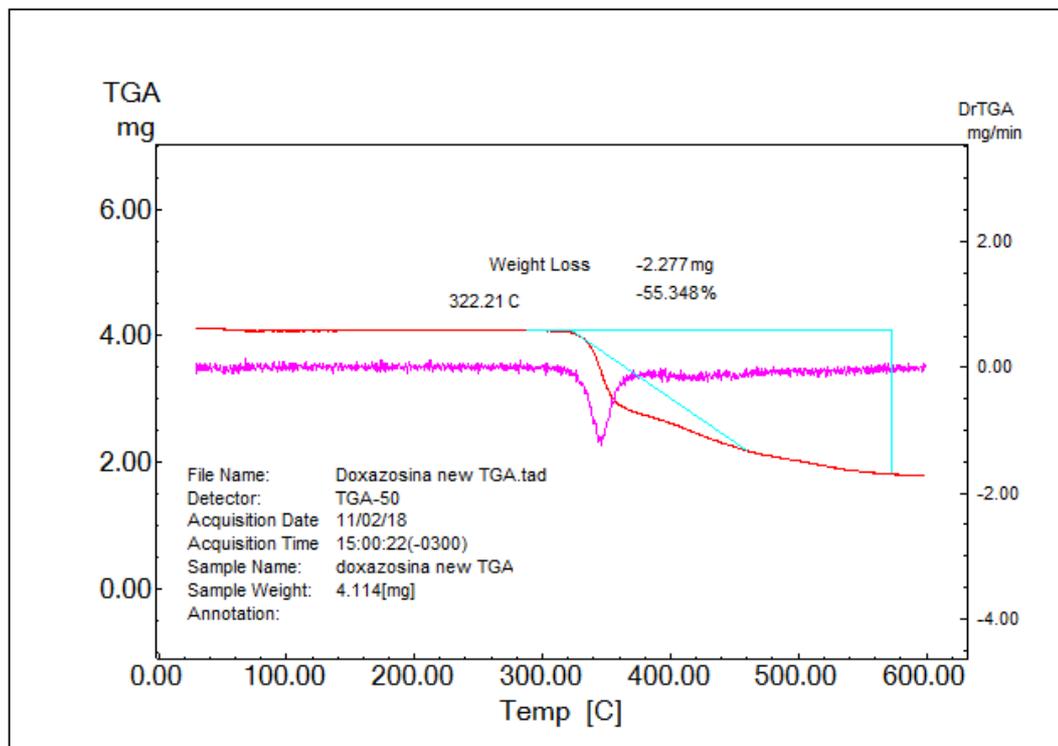


Figura 13: Análise de TGA de uma amostra de DOXA.

4.3 ANÁLISE DE DOXA E DOXA MESIL POR RMN

A confirmação da obtenção da DOXA pode ser obtida a partir da análise de RMN H^1 e C^{13} das substâncias em estudo. Yuan e colaboradores (2008) elucidaram a estrutura da DOXA tanto por RMN de H^1 como C^{13} . Analisando-se a estrutura da DOXA MESIL (Figura 14) e os espectros de RMN de H^1 obtidos (Figuras 15 e 16), observa-se a presença de um singlete em 11,753 ppm no espectro da DOXA MESIL. Este sinal, ausente no espectro da DOXA, se refere ao hidrogênio muito desblindado da hidroxila do mesilato, confirmando a obtenção da DOXA. O singlete em 8,113 ppm no espectro da DOXA e o dublete em 8,7 ppm da DOXA MESIL podem ser atribuídos ao hidrogênio ligado ao C_3 que pode estar sofrendo influência do hidrogênio do mesilato, alterando a multiplicidade do sinal. Os singletes em 7,492 ppm no espectro da DOXA e em 7,635 ppm no da DOXA MESIL podem ser relacionados aos hidrogênios do grupamento NH_2 , o qual se mostra protonado na DOXA MESIL, sofrendo uma desblindagem. No espectro da DOXA, tem-se um dublete em aproximadamente 5,2 ppm relacionado ao hidrogênio do C_{18} ; já no espectro da DOXA MESIL, tem-se um multiplete que parece ser deste mesmo sinal caindo no mesmo deslocamento dos hidrogênios ligados ao carbono do mesilato, que se encontra diretamente ligado a um átomo eletronegativo. A alteração na multiplicidade dos hidrogênios do C_{19} na DOXA mostra a perda da influência do sal na estrutura reforçando a obtenção da base. O espectro de C^{13} mostra praticamente o mesmo número de sinais para ambas as substâncias (Figuras 17 e 18), confirmando não haver impurezas na amostra de DOXA. A presença do mesilato próximo ao anel heteroaromático da DOXA MESIL leva a um número maior de sinais na região de carbonos aromáticos sp^2 . Não se pode observar os sinais do carbono ligado ao enxofre do mesilato porque estes se encontram junto ao sinal do DMSO, em aproximadamente 39 - 40 ppm, podendo-se somente observar uma maior multiplicidade deste sinal no espectro da DOXA MESIL, reforçando a confirmação da obtenção da DOXA. Os demais sinais tanto de hidrogênio quanto de carbono observados para DOXA são coincidentes com os descritos por Yuan e colaboradores (2008) (YUAN *et al.*, 2008).

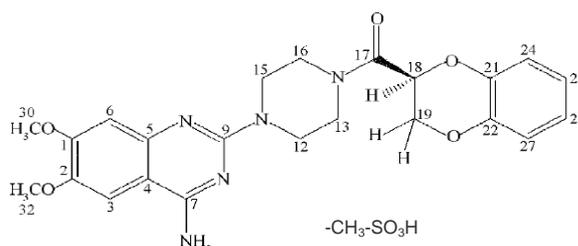


Figura 14: Estrutura química do mesilato de doxazosina, com a especificação dos carbonos (Modificada de YUAN *et al.*, 2008).

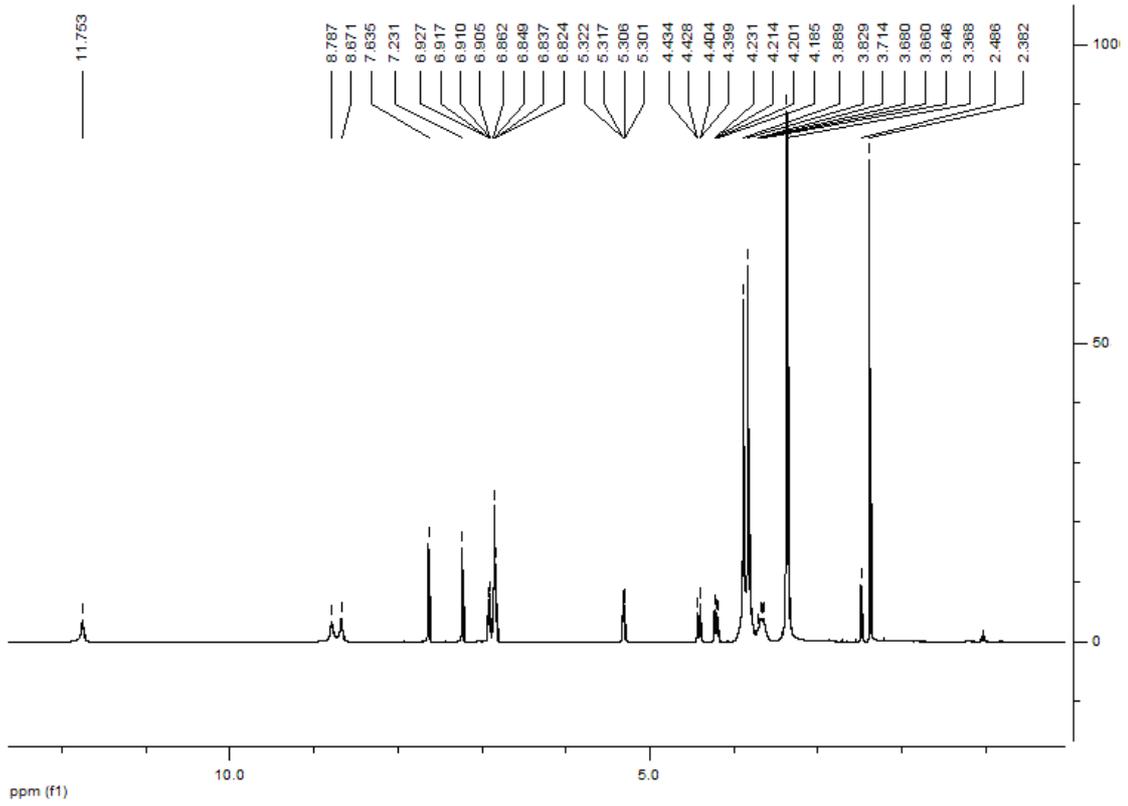


Figura 15: Espectro de RMN H^1 da DOXA MESIL.

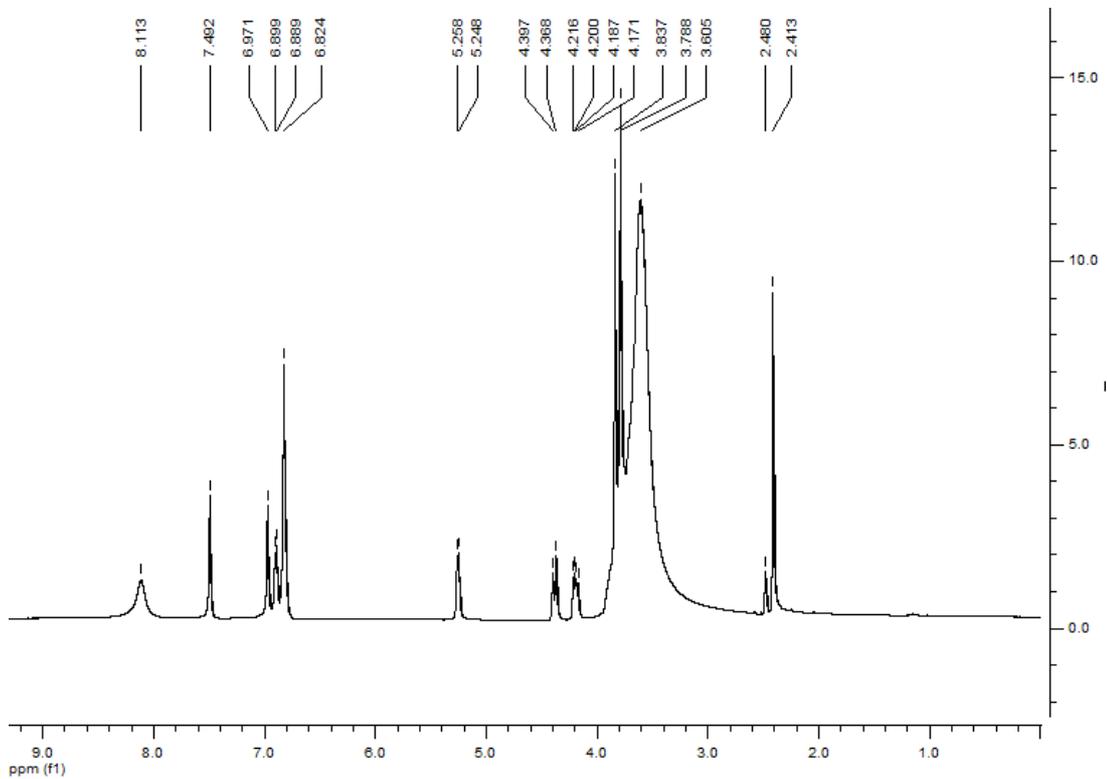


Figura 16: Espectro de RMN H^1 da DOXA.

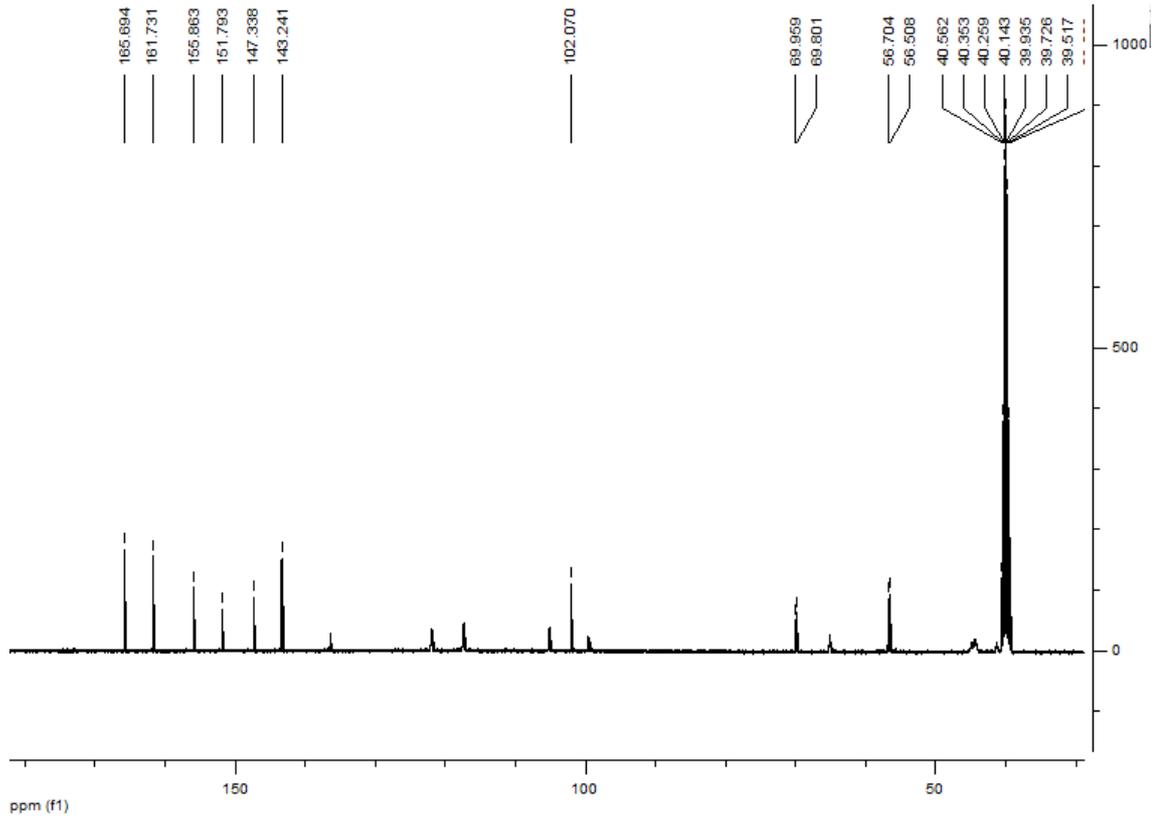


Figura 17: Espectro de RMN C^{13} da DOXA MESIL.

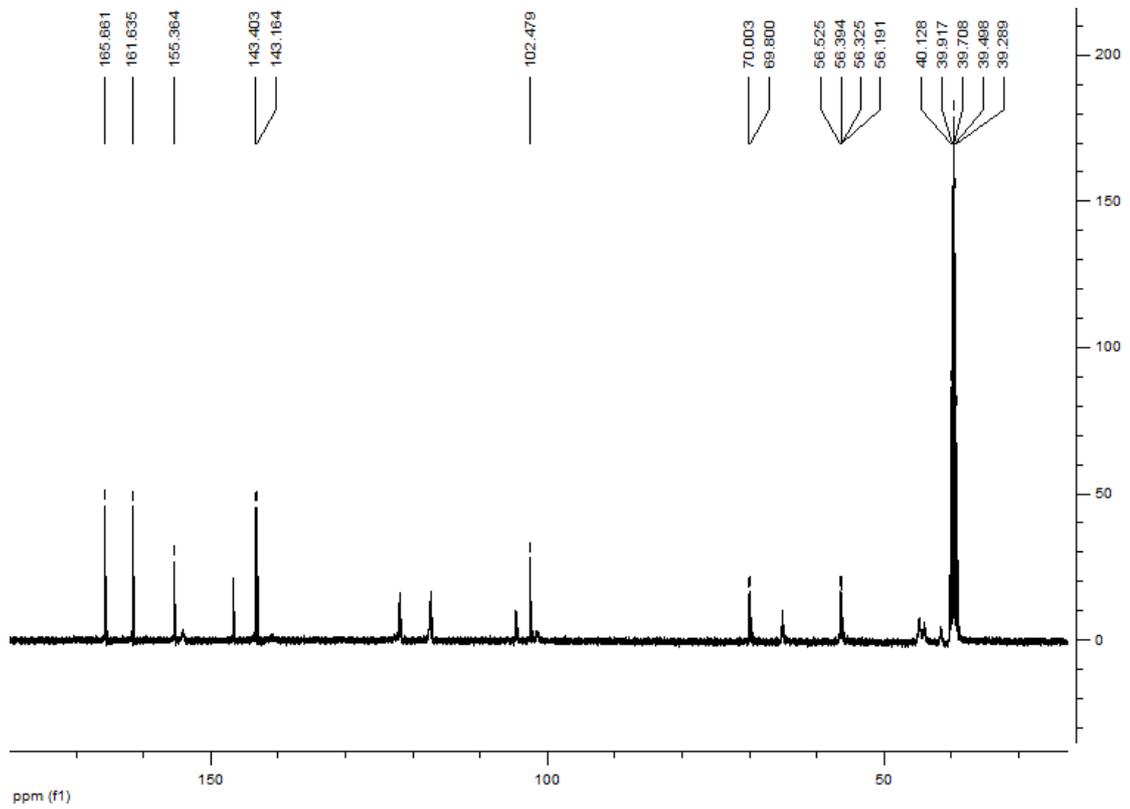


Figura 18: Espectro de RMN C^{13} da DOXA.

4.4 ANÁLISE DE DOXA E DOXA MESIL POR IV-TF

A estrutura química da DOXA MESIL, assim como os dados descritos em uma de suas patentes de síntese (KANKAN *et al.*, 2011), mostra como principais absorções os seguintes valores: 3345, 3185, 3033, 2934, 1660, 1635, 1597, 1533, 1492, 1469, 1438, 1397, 1317, 1262, 1236, 1215, 1183, 1112, 1046, 989, 927, 869, 846, 819, 771, 756, 720, 663, 628, 575, 553, 522, 453 e 433 cm^{-1} . O espectro obtido da amostra de trabalho (Figura 19) mostra ainda as mesmas absorções descritas anteriormente por Bebawy e colaboradores (2002) e por Grcman e colaboradores (2002) para a substância, confirmando a estrutura da molécula (BEBAWY, MOUSTAFA & ABO-TALIB, 2002; GRGMAN, VRECER & MEDEN, 2002).

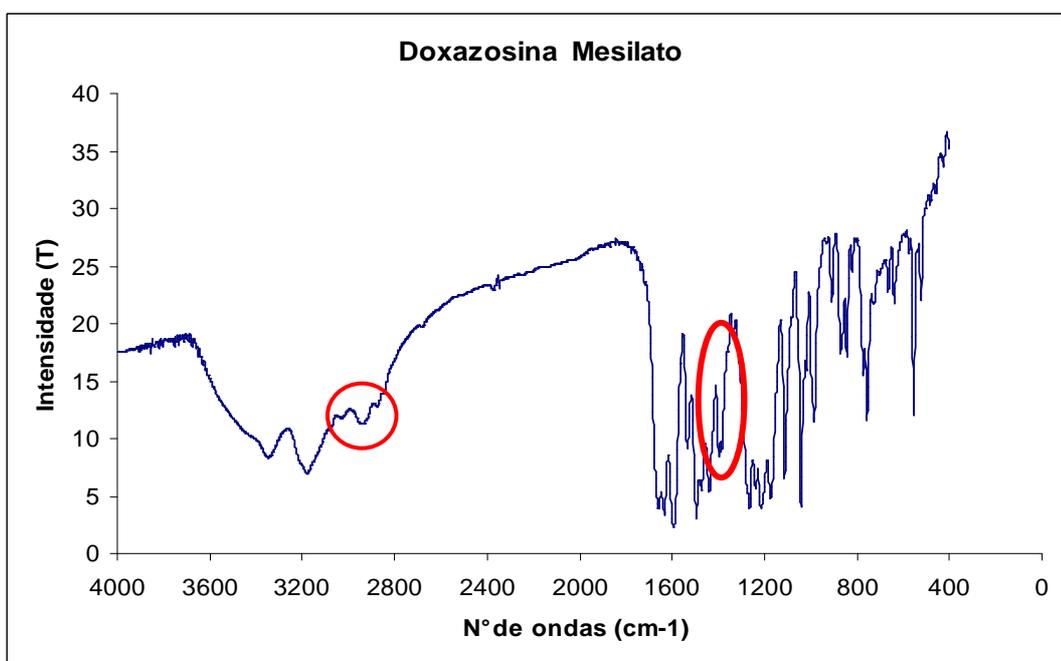


Figura 19: Espectro de IV-TF da DOXA MESIL.

As bandas referentes ao mesilato são descritas por Costa (2007) e estão destacadas em vermelho na Figura 19, podendo-se citar a presença de bandas na região próxima a 2920 e 2850 cm^{-1} referentes ao modo de estiramento de deformação axial C-H alifático, além da banda de absorção próxima a 1350 cm^{-1} correspondente à ligação ROSO_2R (COSTA, 2007). Ao se analisar o espectro de infravermelho da DOXA aqui preparada (Figura 20), verifica-se praticamente a ausência das bandas referentes ao mesilato sem o desaparecimento das demais

bandas características da molécula. Ao mesmo tempo, o alargamento observado para todas as absorções medidas indica a amorfização da amostra. Desta forma, tem-se o indício de que realmente foi obtida a DOXA.

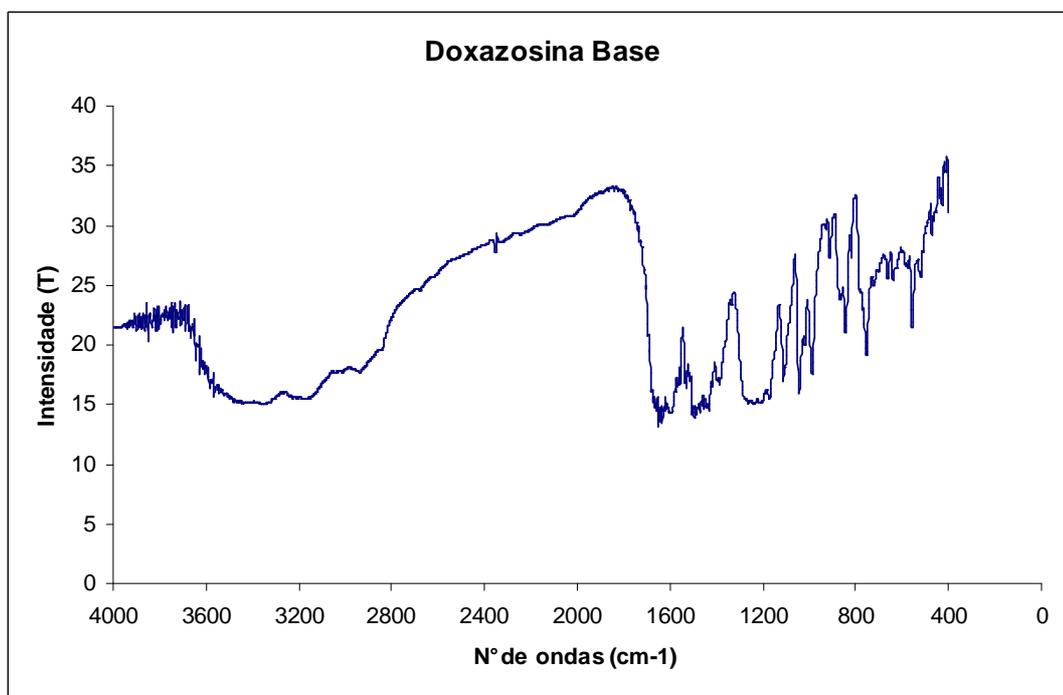


Figura 20: Espectro de IV-TF da DOXA.

4.5 ANÁLISE DE DOXA E DOXA MESIL POR CLAE

O tempo de retenção (T_R) obtido para o fármaco foi de, aproximadamente, 8 minutos, sendo realizadas análises com tempo de corrida igual a 10,0 minutos. O T_R observado se mostrou próximo ao descrito na literatura. Considerando-se que as condições cromatográficas utilizadas para análise da DOXA foram as mesmas que as utilizadas para DOXA MESIL e que, em cromatografia de fase reversa, a base, e não o sal, é a espécie a interagir com a fase estacionária da coluna, o T_R e demais parâmetros cromatográficos observados para a DOXA foram iguais aos determinados para a DOXA MESIL (POOLE & POOLE, 1991; KIM *et al.*, 2006).

4.6 OBTENÇÃO DAS RETAS DE CALIBRAÇÃO DE DOXA E DOXA MESIL

Tanto para a DOXA MESIL, quanto para a DOXA, foram obtidos coeficientes de correlação (r) igual a 0,999 nas retas de calibração preparadas, mostrando a linearidade nas medidas realizadas e a viabilidade de utilização da metodologia descrita para analisar ambas as formas do fármaco. As curvas de calibração e sua equação correspondente obtidas para a DOXA MESIL e para a DOXA estão representadas nos Gráficos 1 e 2, respectivamente.

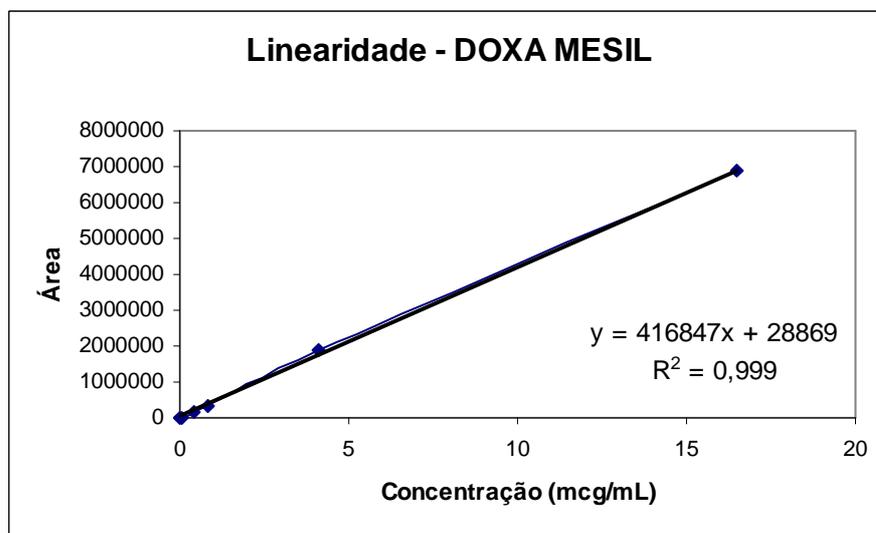


Gráfico 1: Curva de calibração da DOXA MESIL em meio tampão fosfato (PBS) pH=7,4.

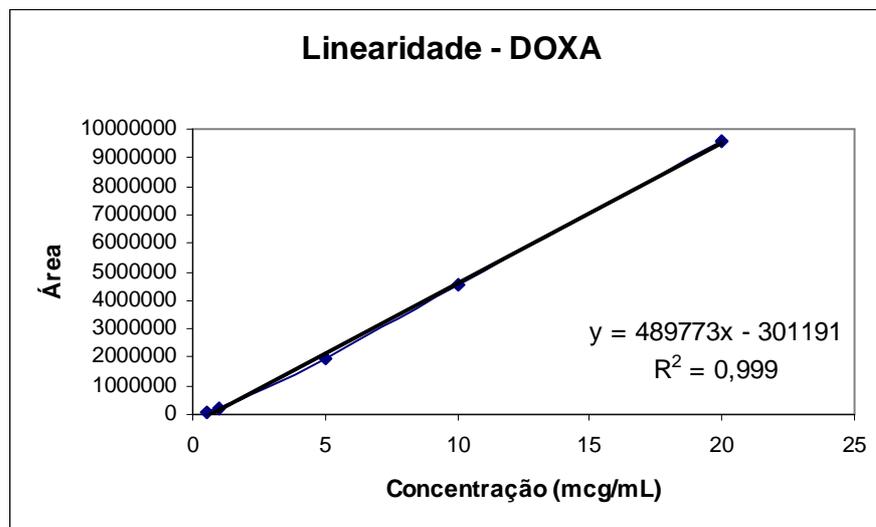


Gráfico 2: Curva de calibração da DOXA em meio tampão fosfato (PBS) pH=7,4.

Uma vez que o método utilizado se encontra descrito e validado por Kim e colaboradores (2006) e que as matrizes avaliadas se mostram bastante simples, seguiu-se com sua utilização para a quantificação de DOXA e DOXA MESIL no estudo aqui realizado.

4.7 DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE DO FÁRMACO

O objetivo de se avaliar a solubilidade do fármaco em diferentes solventes é determinar, dentre eles, qual representa a melhor alternativa para ser utilizada como solução receptora nos ensaios de permeação. Tal solvente deve permitir uma boa solubilização do fármaco, garantir as condições *sink* e possuir características semelhantes ao sangue, para mimetizar, da melhor maneira possível, as condições fisiológicas para a permeação. Considera-se como condição *sink*, 3 a 10 vezes o volume de solvente necessário para obtenção de uma solução saturada do fármaco em questão (STORPIRTIS *et al.*, 2009). Além das condições *sink*, deve o meio receptor ser biorrelevante, ou seja, capaz de simular ao máximo, as condições observadas *in vivo* (AULTON, 2005). Tendo isto em vista, os melhores solventes a serem utilizados seriam a SF 0,9% (m/v) e o PBS pH=7,4. Desta forma, foi determinada a solubilidade do fármaco nestes solventes, além da sua solubilidade em água MilliQ.

A DOXA MESIL apresentou uma boa solubilidade em água MilliQ e uma maior solubilidade em PBS frente à SF, como mostrado na Tabela 4, sendo a solução de PBS pH=7,4 selecionada como solução receptora para os ensaios de permeação das formulações contendo esta forma do fármaco.

A DOXA também apresentou uma boa solubilidade em água MilliQ, apesar de ser quase metade da solubilidade apresentada pela DOXA MESIL. Entretanto, sua solubilidade em SF se apresentou muito baixa e não foi possível determiná-la em PBS, pois se obteve um cromatograma com um pico muito assimétrico. A assimetria do pico se mostra relacionada com a complexação da base com os íons presentes, o que não ocorre na forma ionizada da molécula. Como a água MilliQ não seria uma boa opção para ser utilizada como solução receptora, por não apresentar

semelhanças ao sangue, outras alternativas foram propostas, como a utilização de CDs, que são conhecidas por aumentar a solubilidade de fármacos em soluções (VALLE, 2004; BREWSTER & LOFTSSON, 2007; DREASSI *et al.*, 2010).

As CDs utilizadas foram: α -CD; β -CD e 2-HP- β -CD. Esta última é um derivado pouco tóxico capaz de aumentar notavelmente a solubilidade de fármacos (DREASSI *et al.*, 2010). Primeiramente, foi proposta a utilização de soluções de CD a uma concentração de 5,0% (m/v) em PBS. A escolha deste solvente foi devida ao fato deste já ter sido selecionado para os ensaios com a DOXA MESIL.

Foi possível determinar a solubilidade da DOXA na solução de α -CD (Tabela 4). A β -CD, no entanto, não foi solúvel em PBS nesta condição apresentada. Desta forma, propôs-se a utilização de soluções com concentração de β -CD igual a 0,5% e a 1,0% (m/v) em PBS. O pico obtido na análise para ambas as concentrações era muito assimétrico, não sendo possível calcular a solubilidade da DOXA em solução de β -CD em PBS.

Foi ainda proposta a determinação da solubilidade da DOXA em solução de β -CD a 1,0% (m/v) em SF e em água MilliQ. Assim como observado para a solução em PBS, o pico obtido para a SF também era muito assimétrico, não sendo possível calcular a solubilidade do fármaco. Já na solução de β -CD em água MilliQ, foi possível calcular a solubilidade do fármaco (Tabela 4), porém, como dito anteriormente, a água não é uma boa opção para ser utilizada como solução receptora.

Uma outra alternativa foi a utilização de soluções de 2-HP- β -CD em PBS. As concentrações propostas foram de 1,0%, 2,5% e 5,0% (m/v), sendo todas elas solúveis em PBS. As solubilidades determinadas para a DOXA nestas soluções foram maiores que a obtida com a solução de α -CD em PBS. As solubilidades encontradas são mostradas na Tabela 4.

A solução de 2-HP- β -CD a 2,5% (m/v) em PBS foi selecionada como solução receptora para os ensaios de permeação das formulações contendo DOXA.

Tabela 4: Solubilidade do fármaco em diferentes solventes.

	DOXA MESIL	DOXA
Água MilliQ	3,39 mg/mL	1,91 mg/mL
SF	275,21 µg/mL	0,47 µg/mL
PBS	629,16 µg/mL	---
α-CD 5,0% em PBS	---	98,88 µg/mL
β-CD 0,5% em PBS	---	---
β-CD 1,0% em PBS	---	---
β-CD 1,0% em SF	---	---
β-CD 1,0% em Água	---	7,12 mg/mL
2-HP-β-CD 1,0% em PBS	---	231,76 µg/mL
2-HP-β-CD 2,5% em PBS	---	1,09 mg /mL
2-HP-β-CD 5,0% em PBS	---	3,09 mg/mL

SF = Solução Fisiológica; PBS = Tampão Fosfato; CD = Ciclodextrina;
2-HP-β-CD = 2-hidroxiopropil-β-ciclodextrina.

Em todos os estudos de solubilidade realizados, se observa em verdade, o processo de inclusão da DOXA nas CDs utilizadas. Apesar de não se estar realizando um estudo de inclusão de DOXA em CDs, tanto a solubilização ou não da molécula, como a assimetria dos picos observada nas análises de CLAE mostra se houve ou não sucesso no processo de inclusão (VALLE, 2004; BREWSTER & LOFTSSON, 2007; DREASSI *et al.*, 2010). Considerando-se que não se encontra, até o presente momento, nenhum relato sobre a inclusão de DOXA em CDs, e observando-se os resultados aqui obtidos, aponta-se para a possibilidade de realização futura de um estudo completo do processo e dos efeitos da inclusão de DOXA em 2-HP-β-CD e a posterior formulação deste incluso.

4.8 PREPARO DOS SISTEMAS TERAPÊUTICOS TRANSDÉRMICOS

4.8.1 PREPARO DAS MICROEMULSÕES

A formulação-base de microemulsão utilizada (MD-01) foi proposta por Nandi e colaboradores (2003). Foram tomados como base os componentes e as proporções utilizadas por estes pesquisadores, sendo ainda selecionados outros componentes para o desenvolvimento das microemulsões. Devem ser utilizados

componentes já conhecidos por sua aplicação em outros sistemas de liberação de fármaco e que apresentem baixo potencial de toxicidade (NANDI, BARI & JOSHI, 2003; NORNOO *et al.*, 2009). Apenas a DOXA MESIL foi inserida no sistema microemulsionado uma vez que a maior lipofilicidade da DOXA já levava, por si só, a uma maior permeação através da pele (HARDMAN, LIMBIRD & GILMAN, 2007). Ao mesmo tempo, o uso de DOXA MESIL representaria o uso de um fármaco já em estudo, sendo mais simples o procedimento de registro sanitário com as formulações com ele obtidas (ANVISA, 2003).

A escolha do componente da fase oleosa e dos tensoativos é considerada um ponto crítico, pois influencia na formação ou não da microemulsão, no tamanho de gotícula do sistema e na solubilidade do fármaco (NORNOO *et al.*, 2009).

Os tensoativos utilizados para o desenvolvimento das microemulsões foram o Tween® 80, o Span® 80 e o Span® 20, por serem tensoativos não-iônicos, apresentando menor toxicidade quando comparados aos tensoativos iônicos (REGÉ, KAO & POLLI, 2002; WARISNOICHAROEN, LANSLEY & LAWRENCE, 2003). Trabalhos anteriores de nosso grupo com a preparação de microemulsões de dapsona mostraram a versatilidade e eficiência destes tensoativos na preparação de microemulsões, visto que se obtiveram diagramas pseudoternário de fases com amplas regiões de microemulsão, microemulsões tanto A/O como O/A, assim como um tamanho médio de gotícula entre 14 nm com baixo índice de polidispersão (MONTEIRO, 2011).

Os cossolventes são utilizados em uma microemulsão para auxiliar o tensoativo na diminuição da tensão interfacial entre o óleo e a água, podendo, ainda, reduzir a quantidade de tensoativo necessária na formulação (LAWRENCE & REES, 2000; YUAN *et al.*, 2006). Normalmente, são utilizadas moléculas de natureza anfifílica, como alcoóis contendo entre 2 a 10 átomos de carbono como o IBT (C₄H₁₀O), capaz de diminuir a hidrofobicidade do solvente polar (NORNOO, OSBORNE & CHOW, 2007). Neste estudo foi proposta, em especial, a utilização do TCC, um triglicerídio de cadeia média, como cossolvente. A permeação cutânea do ibuprofeno a partir do TCC foi estudada por Watkinson e colaboradores (2011), sendo também observado um aumento da solubilidade do fármaco utilizando-se esta substância e um efeito de incremento da permeação através da pele (WATKINSON

et al., 2011). O TCC pode ser utilizado em diversos tipos de formulações farmacêuticas, agindo como um solvente oleoso pouco irritante e não oclusivo, além de possuir propriedades emolientes e de promotor de permeação, levando a obtenção de microemulsões mais estáveis (SASOL, 2010).

Com base nestas informações, 16 formulações de microemulsões foram propostas, estando as mesmas listadas na Tabela 1. A aparência encontrada para as formulações preparadas é mostrada na Tabela 5.

Tabela 5: Aparência das formulações de microemulsão.

Formulação	APARÊNCIA
MD-01	TURVA
MD-02	TURVA
MD-03	TURVA
MD-04	TURVA
MD-05	TURVA
MD-06	LÍMPIDA
MD-07	LÍMPIDA
MD-08	LÍMPIDA
MD-09	LÍMPIDA
MD-10	LÍMPIDA
MD-11	LÍMPIDA
MD-12	LÍMPIDA
MD-13	LÍMPIDA
MD-14	LÍMPIDA
MD-15	LÍMPIDA
MD-16	LÍMPIDA

As microemulsões MD-01 à MD-05, contendo MI como componente da fase oleosa, se apresentaram turvas após a adição do fármaco. Este resultado se associa a baixa solubilidade da DOXA MESIL neste solvente, sendo indicado o aumento da constante dielétrica do solvente de fase orgânica utilizado. Foi, então, proposta a utilização da PRD (formulações MD-06 a MD-16) como componente oleoso, visto que esta substância é conhecida por aumentar a solubilidade de diversos fármacos, além de ser descrita como um promotor de permeação cutânea (MAGNUSSON, WALTERS & ROBERTS, 2001; JAIN & YALKOWSKY, 2007). Todas as formulações

de microemulsão contendo PRD como fase oleosa se mostraram límpidas e pouco viscosas, características essenciais em uma microemulsão, mesmo após a adição do fármaco (Tabela 5), mostrando a necessidade de solventes mais polares na preparação de microemulsões contendo fármacos polares (KOGAN & GARTI, 2006; ROSSI *et al.*, 2007).

4.8.1.1 CONSTRUÇÃO DOS DIAGRAMAS PSEUDOTERNÁRIO DE FASES

Considerando-se que as formulações MD-06, MD-07, MD-08 e MD-09 foram as microemulsões base para o desenvolvimento das formulações subsequentes, nas quais apenas se adicionou promotor de permeação, estas quatro foram selecionadas para a construção do diagrama pseudoternário de fases. As formulações MD-06 e MD-07 possuem a mesma composição, diferindo-se apenas entre si pela ordem em que é adicionado o fármaco. O mesmo fato ocorre entre as formulações MD-08 e MD-09 (Tabela 1). Os componentes utilizados para a elaboração do diagrama de fases da formulação 1 – F1 (Figura 21), referente às formulações MD-06 e MD-07, foram: Tween® 80, Span® 20, PRD e TCC. Já os componentes utilizados para a elaboração do diagrama de fases da formulação 2 – F2 (Figura 22), referente às formulações MD-08 e MD-09, foram: Tween® 80, Span® 20, PRD e IBT. A proporção utilizada entre o cossolvente e o componente de fase oleosa (fase I) foi de 1:8, enquanto a utilizada entre os tensoativos (fase II) foi de 1:1. A proporção entre fase I e fase II foi variada de 90:10 até 10:90, titulando-se a água até ocorrer turvação. Cada uma dessas fases foi representada em um vértice do triângulo.

Nas Figuras 21 e 22, são mostrados os diagramas pseudoternário de fases obtidos, estando representada em cinza escuro a área correspondente à formação de microemulsão. A proporção dos componentes utilizados nas formulações desenvolvidas está representada por um ponto vermelho e se encontra dentro da área de microemulsão.

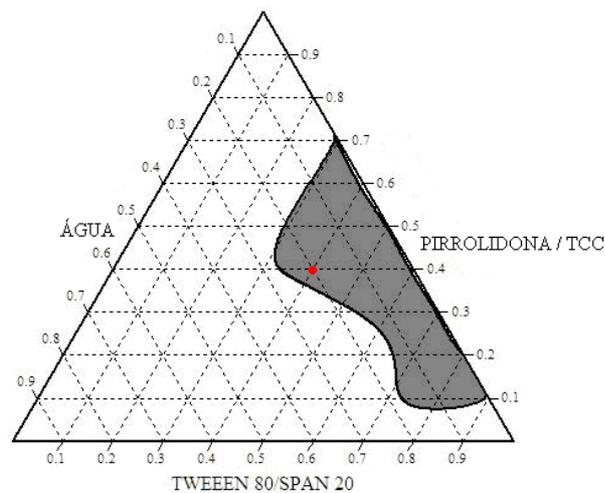


Figura 21: Diagrama pseudoternário de fases da F1. TCC = triglicerídeo cáprico-caprílico.

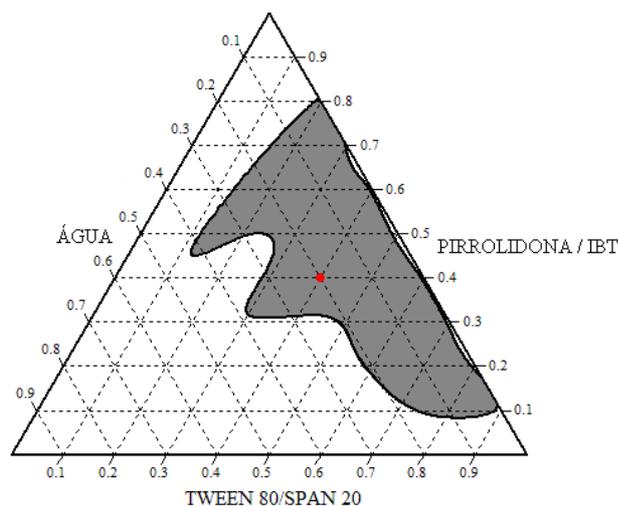


Figura 22: Diagrama pseudoternário de fases da F2. IBT = isobutanol.

Uma região de microemulsão bastante ampla foi observada para as microemulsões estudadas. A variação da quantidade de fase orgânica adicionada mostrou um intervalo grande, o que possibilita a posterior dissolução de fármaco ou promotor de permeação sem que se desestruture o sistema microemulsionado (MONTEIRO, 2011).

As formulações foram constituídas, basicamente, por Tween® 80 e Span® 20 como tensoativos; IBT ou TCC, como cossolventes e PRD como fase oleosa. O

fármaco DOXA MESIL foi acrescentado antes ou após a adição da água, como mostrado na Tabela 1. Em algumas formulações (MD-10 a MD-16), houve a adição de um promotor de permeação lipofílico, objetivando auxiliar na permeação do fármaco através da pele.

O primeiro promotor de permeação utilizado foi o ácido láurico, sendo adicionado na proporção de 4,0% (m/m) em relação à formulação antes da adição da água e do fármaco. Esta quantidade adicionada de promotor de permeação foi subtraída da massa da fase oleosa. Após a adição de água à formulação, a porcentagem de ácido láurico diminuiu para 3,3% (m/m), ficando a porcentagem de PRD igual a 33,0% (m/m). Yerramsetty e colaboradores (2010), realizando experimentos de permeação transdérmica com análogos da insulina, observaram que o ácido láurico a 5,0% (m/v) aumentou em dez vezes a quantidade de fármaco permeada (YERRAMSETTY *et al.*, 2010), justificando-se a sua inserção nesta formulação. Outro promotor estudado foi o dietilenoglicol monoetil éter (Transcutol®), nas proporções de 4,0% e de 16,0% (m/m) em relação à formulação antes da adição da água, ou seja, na proporção de 3,3% e de 13,1% (m/m), respectivamente, em relação à formulação final. O Transcutol® é conhecido como um importante promotor de permeação por ser atóxico, miscível com solventes polares e apolares, pela sua biocompatibilidade com a pele e por solubilizar inúmeros fármacos (MURA *et al.*, 2000; MURA *et al.*, 2009; MANCONI *et al.*, 2011). O último promotor de permeação utilizado foi a azona (laurocapram), na proporção de 3,0% (m/m) antes e de 2,5% (m/m) após a adição da água. A azona é um promotor de permeação de baixa toxicidade que age na bicamada lipídica do estrato córneo aumentando sua fluidez e, conseqüentemente, aumenta a permeação do fármaco através desta camada da pele (TENJARLA & TSEGGAI, 1993; HADGRAFT *et al.*, 1996; MAGNUSSON, WALTERS & ROBERTS, 2001; LÓPEZ-CERVANTES *et al.*, 2006; XU & ZHU, 2007, BATHEJA *et al.*, 2011).

A partir da formulação MD-10, o fármaco foi acrescentado após a adição de água, ou seja, após a microemulsão pronta, da mesma forma que se inseriu os promotores de permeação.

4.8.2 CARACTERIZAÇÃO DAS MICROEMULSÕES

Foram analisados basicamente três parâmetros para a caracterização deste tipo de formulação. O primeiro parâmetro analisado foi a distribuição do tamanho das gotículas, sendo este muito importante para confirmar a formação da microemulsão. Os demais parâmetros serviram para caracterizar o tipo de microemulsão formada. O valor ideal do tamanho de gotículas que as microemulsões ou outros tipos de formulações farmacêuticas nanoestruturadas devem apresentar ainda não é completamente consolidado, existindo certa divergência entre os autores. Segundo Talegaonkar e colaboradores (2008), a faixa aceitável de tamanho de gotícula é até 200 nm, tal valor é também considerado, em grande parte, pela literatura científica relacionada à nanomedicina (TALEGAONKAR *et al.*, 2008; SINGH & LILLARD, 2009). Já Junping e colaboradores (2002) consideram que o tamanho de gotícula até 150 nm é aceitável (JUNPING *et al.*, 2003). Enquanto que, para Yuan e colaboradores (2007) e para Rossi e colaboradores, (2007) as microemulsões devem apresentar diâmetro de gotículas até 100 nm (YUAN *et al.*, 2007; ROOSI *et al.*, 2007).

Para a confirmação da formação de microemulsão, no entanto, também é de grande importância a observação da formação de sistemas límpidos e pouco viscosos (KOGAN & GARTI, 2006; ROOSI *et al.*, 2007). A caracterização do tamanho de gotículas para as formulações F1 - referente às formulações MD-06 e MD-07 – e F2 - referente às formulações MD-08 e MD-09 - obtidas a partir do diagrama pseudoternário de fases, ou seja, ainda sem a adição de fármaco, é representado na Tabela 6. Pode-se observar a obtenção de valores menores que 100 nm e de baixos índices de polidispersão, confirmando a formação de microemulsões. As formulações obtidas se mostravam ainda transparentes e pouco viscosas.

Tabela 6: Determinação do tamanho de gotículas das formulações de microemulsão F1 e F2.

	Tamanho de Gotículas	DP	IP
F1	8,6 nm	1,6 nm	0,6344
F2	8,0 nm	1,5 nm	0,6258

DP = Desvio Padrão; IP = Índice de Polidispersão.

Ao se adicionar o fármaco à formulação, tanto antes quanto após a adição de água, não houve grande alteração do valor de tamanho de gotícula medido (Tabela 7), confirmando a formação de microemulsão mesmo após a adição do fármaco. As formulações continuaram apresentando aparência límpida e pouco viscosa.

Tabela 7: Determinação do tamanho de gotículas das formulações de microemulsão MD-06, MD-07, MD-08 e MD-09.

	Tamanho de Gotículas	DP	IP
MD-06	10,6 nm	2,0 nm	0,6293
MD-07	7,9 nm	1,6 nm	0,5877
MD-08	6,7 nm	1,8 nm	0,6785
MD-09	8,5 nm	1,9 nm	0,6609

DP = Desvio Padrão; IP = Índice de Polidispersão.

Conforme citado anteriormente, as medidas do índice de refração (IR) e da condutividade elétrica (CE) oferecem informações relacionadas ao tipo de sistema microemulsionado formado. Se os valores medidos para a microemulsão forem mais próximos aos da água, pode-se dizer que o sistema formado se classifica como O/A; mas se os valores encontrados forem mais próximos aos da fase oleosa, o sistema pode ser considerado como uma microemulsão A/O (LAWRENCE & REES, 2000; AULTON, 2005; KAMILA, *et al.*, 2009). Os valores encontrados de IR e de CE para as formulações anteriores são mostrados na Tabela 8.

Tabela 8: Determinação do índice de refração (IR) e da condutividade elétrica (CE) das formulações de microemulsão MD-06, MD-07, MD-08 e MD-09.

	IR	CE ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
Água	1,325	1,2
2-Pirrolidona	1,470	1,7
MD-06	1,455	30,4
MD-07	1,457	40,7
MD-08	1,453	45,8
MD-09	1,452	49,5

Pode-se observar que os valores encontrados tanto de IR, quanto de CE para todas as formulações anteriores são mais próximos aos da fase oleosa. A partir desta observação, pode-se afirmar que as formulações anteriores se caracterizam como microemulsões do tipo A/O.

As formulações de MD-10 a MD-16 se diferenciaram das anteriores apenas pela adição de promotores de permeação lipofílicos à formulação. Como as microemulsões já haviam sido caracterizadas como do tipo A/O, espera-se que o promotor de permeação se solubilize na fase externa da microemulsão, não alterando a sua estrutura, nem o tamanho de gotículas observado, não sendo realizada a caracterização destas formulações em relação a esses três parâmetros. No entanto, tais formulações se apresentaram também límpidas e pouco viscosas.

Pode-se observar que todas as formulações anteriores podem ser classificadas como microemulsões do tipo A/O. Tal resultado aponta para a internalização da DOXA MESIL na fase aquosa de microemulsão, sendo carregada pela nanogotícula formada através da pele, com o efeito sinérgico da fase oleosa dispersante em termos da promoção desta permeação. Desta forma, se esperava um aumento da permeação do fármaco neste sistema, assim como se exclui a inserção da DOXA visto que, provavelmente, esta se localize na fase oleosa das microemulsões preparadas, sem nenhuma melhora previsível de permeação.

4.8.3 PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DAS SOLUÇÕES

Inicialmente, foi preparada de uma solução saturada de DOXA MESIL em água MilliQ e esta solução teve seu valor de pH medido. O valor de pH encontrado foi de 4,1. De acordo com Owens e colaboradores (1997), este fármaco de caráter básico apresenta um valor de pka igual a 6,93 (OWENS *et al.*, 1997). De acordo com estes dados, pode-se afirmar que a DOXA MESIL se apresenta completamente ionizada em uma solução aquosa de pH igual a 4,1. Este resultado indica um provável impacto negativo na permeação desta molécula, visto a redução da lipofilicidade como consequência de sua ionização.

Foi também preparada uma solução saturada de DOXA MESIL em PRD, visto que este solvente já havia sido utilizado na preparação das microemulsões. A solubilidade encontrada neste solvente pode ser observada na Tabela 9. Observa-se que a DOXA MESIL apresenta uma maior solubilidade em PRD frente à água MilliQ (Tabela 4) apesar de se encontrar na forma ionizada.

Com a preparação da DOXA, foi também preparada uma solução saturada desta forma do fármaco em PRD. O valor de solubilidade da DOXA neste solvente pode ser observado na Tabela 9. Observa-se uma maior solubilidade da DOXA em PRD frente à DOXA MESIL, decorrente da maior lipofilicidade do material.

Foi também preparada uma solução utilizando-se o MI como solvente. Pôde-se observar, no entanto, grande dificuldade de solubilização do fármaco. Ao se realizar a análise em CLAE, houve a obtenção de um cromatograma com um pico muito assimétrico apresentando ainda uma área muito pequena, não sendo possível calcular a solubilidade do fármaco neste solvente. Isto corrobora com a obtenção dos sistemas turvos para as microemulsões contendo o MI como fase oleosa, o que se mostra diretamente relacionado à baixa solubilidade do fármaco neste solvente.

Tenjarla e Tseggai (1993) em estudos anteriores propuseram a preparação de uma solução de prazosina, fármaco muito semelhante à doxazosina, utilizando-se PPG mais a azona (TENJARLA & TSEGGAI, 1993). Em outros estudos, observa-se a utilização deste promotor de permeação em variadas concentrações, sendo 3,0% a concentração mais comumente utilizada (STOUGHTON & McCLURE, 1983;

BEASTALL, HADGRAFT & WASHINGTON, 1988; TENJARLA & TSEGGAI, 1993; HADGRAFT *et al.*, 1996; MAGNUSSON, WALTERS & ROBERTS, 2001; XU & ZHU, 2007).

Com base nestas informações, foram então preparadas soluções saturadas de DOXA em PPG, em PPG + Azona (3,0% m/m), em PPG + Azona (5,0% m/m) e em PRD + Azona (3,0% m/m). A concentração de 5,0% (m/m) de azona foi proposta para verificar a influência do aumento da concentração deste promotor na permeação do fármaco. As solubilidades encontradas nos respectivos solventes são mostradas na Tabela 9.

Tabela 9: Solubilidade do fármaco em diferentes solventes.

	DOXA MESIL	DOXA
PRD	37,45 mg/mL	50,67 mg/mL
PRD + Azona (3,0% m/m)	---	48,84 mg/mL
PPG	---	7,68 mg/mL
PPG + Azona (3,0% m/m)	---	7,79 mg/mL
PPG + Azona (5,0% m/m)	---	5,23 mg/mL

PRD = 2-pirrolidona; PPG = propilenoglicol.

A partir da análise da tabela acima, pode-se observar que o fármaco possui uma grande solubilidade em PRD e esta solubilidade continua semelhante quando se adiciona o promotor de permeação ao sistema. A solubilidade encontrada para a DOXA em PPG é menor em comparação àquela encontrada em PRD. Entretanto, o PPG se mostra mais adequado ao uso tópico visto sua menor toxicidade, sendo a utilização da PRD aprovada para uso veterinário, ainda não sendo completamente aprovada para uso em humanos (JAIN & YALKOWSKY, 2007; FDA, 2011). Quando se adiciona a azona a 3,0% (m/m) ao PPG, a solubilidade é praticamente igual, mas há um decaimento deste valor quanto ela é adicionada a 5,0% (m/m). Torna-se, então, mais interessante o estudo da utilização das soluções do fármaco em PPG em detrimento do uso de outros solventes.

4.8.4 PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES (PATCHES)

Os filmes Patch-non-Patch® (Tabela 2) foram preparados através da técnica de laminação (COLOMBO *et al.*, 2002; FEMENÍA-FONT *et al.*, 2006; PADULA, NICOLI & SANTI, 2009). A preparação é mostrada na Figura 5. O fármaco se mostrou estável quando submetido à estufa aquecida a 60°C por 30 minutos, visto que tanto o cromatograma referente a esta solução quanto o da solução deixada à temperatura ambiente possuíam picos com áreas médias muito semelhantes, sendo encontrado um teor igual a 99,80% para a amostra deixada à temperatura ambiente e igual a 100,40% para amostra submetida ao aquecimento.

O primeiro filme preparado, PnPD-01, possuía Plastoid® E 35 H como sistema adesivo e o fármaco na forma de DOXA MESIL, enquanto nos demais filmes, PnPD-02 e PnPD-03, o sistema adesivo e a forma do fármaco foram modificados, inserindo-se a DOXA como mostra a Tabela 2. A partir do doseamento dos filmes, pode-se calcular o teor de fármaco presente na massa seca, ou seja, após a secagem em estufa e a consequente perda de água da formulação. Os teores encontrados são mostrados na Tabela 10.

Tabela 10: Teor de fármaco (% m/m) nos filmes.

Fármaco	PnPD-01	PnPD-02	PnPD-03
DOXA MESIL em massa úmida	0,18%	---	---
DOXA MESIL em massa seca	0,63%	---	---
DOXA em massa úmida	0,15%	0,63%	0,63%
DOXA em massa seca	0,52%	1,65%	1,51%

O teor encontrado para a formulação PnPD-01 estava de acordo com o valor esperado, de 0,50% (m/m). Já os teores encontrados para as formulações PnPD-02 e PnPD-03 foram menores que o valor esperado, de 2,00% (m/m). Isto pode ter

ocorrido devido ao fato de o fármaco não ter sido completamente solubilizado nas formulações, ou também por problemas de uniformidade de conteúdo no filme.

De acordo com Fernández (2010), a viabilidade da formulação de um filme transdérmico deve ser estudada. Deve-se pensar em qual será a área do filme necessária para liberar a quantidade de fármaco desejada para se alcançar os seus níveis terapêuticos. Para isso, deve-se conhecer a concentração plasmática ($C_{m\acute{a}x}$) desejada para o fármaco e a sua *clearance* (CI), ou depuração, para se calcular a velocidade de entrada (V_{ent}) necessária, de acordo com a Equação (4) (FERNÁNDEZ, 2010):

$$C_{m\acute{a}x} = \frac{V_{ent}}{CI} \quad \text{Equação (4)}$$

Os parâmetros farmacocinéticos da doxazosina são descritos por Sripalakit e colaboradores (2005), sendo a $C_{m\acute{a}x} = 18,0$ ng/mL e a $CI = 2,7$ mL/min./kg. Este valor de $C_{m\acute{a}x}$, no entanto, refere-se a um comprimido contendo 2,0 mg do fármaco, porém, para o tratamento da HPB, a dose diária recomendada é de 4,0 mg (SRIPALAKIT, NERHOM & MAPHANTA, 2005). Desta forma, considerou-se uma $C_{m\acute{a}x}$ de 36,0 ng/mL e, considerando-se um indivíduo com peso médio de 70,0 kg, foi considerada uma CI de 189,0 mL/min. Assim, considerando-se a Equação (4), obtém-se uma V_{ent} igual a 408,24 µg/h. A partir deste valor, pode-se calcular a área ideal do filme, mas para isso é necessário conhecer o fluxo de permeação (J), que pode ser obtido a partir dos resultados da Equação (3), com a realização do estudo de permeação.

4.8.5 PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DO GEL

A preparação de um gel pode ser considerada como a alternativa mais barata e adequada comercialmente para a preparação de um sistema terapêutico transdérmico. A escolha da concentração do fármaco no gel tomou como base sua solubilidade no solvente utilizado. Assim, sabendo-se que a solubilidade da DOXA

em PPG + azona 3,0% (m/m) é igual a 7,79 mg/mL, foi preparada uma solução de concentração conhecida igual a 7,00 mg/mL. A esta solução, foi adicionada a HPC para a formação do gel. Géis para liberação transdérmica já foram estudados, como no caso da formulação de moléculas como o ibuprofeno, o estradiol e a testosterona (WALTERS *et al.*, 1998; JÄRVINEN *et al.*, 2000; JÄRVINEN *et al.*, 2001; RHEE *et al.*, 2008; KIM, HOWLES e LEE, 2011).

Foi obtido um gel límpido e com viscosidade igual a $277,00 \times 10^3$ cps (SDL-96 (F-+1%); Velocidade 1,5 RPM). Este valor se mostra comparável a valores anteriormente descritos para géis transdérmicos. Assim, espera-se que neste patamar a viscosidade não seria um fator que viesse a restringir a permeação dos fármacos veiculados. O gel mostrou um decréscimo da viscosidade aparente de forma discreta e não linear em função do tempo, observando-se a tendência de comportamento de um fluido não-Newtoniano, que determina que as interações entre seus componentes afetam a velocidade de deformação causada por forças externas, resultado na não proporcionalidade entre a taxa e a tensão de cisalhamento (CHANG *et al.*, 2002). Espera-se ainda que o gel apresente adequadas propriedades reológicas, em especial em termos de seu espalhamento e capacidade de recobrimento da pele. Para confirmar tais afirmativas, no entanto, um estudo reológico deverá ainda ser realizado. O doseamento da formulação foi realizado, sendo obtido um teor de fármaco igual a 102,84%.

4.9 ENSAIOS DE PERMEÇÃO *IN VITRO*

Primeiramente, foi realizada a avaliação da interferência do tecido no ensaio de permeação. Os picos observados no cromatograma, tanto para a pele quanto para a epiderme isolada, possuíam T_R diferentes daquele observado para o fármaco, mostrando que o tecido não causa interferência na análise.

Os estudos de permeação se iniciaram com a permeação das formulações de microemulsão desenvolvidas. Como não há, até o momento, dados na literatura sobre o desenvolvimento de formulações transdérmicas de doxazosina foram considerados os estudos realizados para outro fármaco com estrutura química muito

semelhante, a prazosina, como parâmetro de comparação (TENJARLA & TSEGGAI, 1993; HSU & ROOS, 1997; HOSNY, HADY & NIAZY, 1998; KULKARNI *et al.*, 2010). Tenjarla e Tseggai (1993) sugerem que a principal barreira de permeação para a prazosina é a epiderme. Como ambos os fármacos possuem estrutura química semelhante, espera-se que a epiderme também represente uma barreira de permeação para a doxazosina. O primeiro ponto, então, foi determinar se a melhor amostra de tecido animal a ser utilizada nos ensaios de permeação seria a pele ou a epiderme isolada da orelha de porco.

A proporção nas formulações de microemulsão entre a fase aquosa (FA) e a fase composta pelos tensoativos, pelo cossolvente, pelo promotor de permeação e pelo óleo (FO) é de 1:4,5. Sendo assim, supondo-se que o fármaco estivesse distribuído uniformemente e proporcionalmente entre ambas as fases, a concentração de DOXA seria de 13,54 mg/g em ambas as fases. Então, em 300,00 mg de microemulsão, teria-se 53,70 mg de FA, 241,45 mg de FO e 4,85 mg de DOXA MESIL ou 4,00 mg de DOXA. Desta forma, teria-se 0,73 mg de DOXA em 53,70 mg de FA e 3,27 mg de DOXA em 241,45 mg de FO.

Foi, primeiramente, proposto o estudo de permeação da formulação F2, referente às microemulsões MD-08 e MD-09, porém, estudando-se separadamente o perfil de permeação da FA e da FO, ambas contendo o fármaco, utilizando-se tanto a pele quanto a epiderme isolada. Não foi possível, no entanto, chegar à concentração desejada de fármaco na FA, sendo preparada a solução saturada de DOXA MESIL em água MilliQ, com concentração igual a 3,39 mg/mL e pH igual a 4,1. Sabendo-se que este é um fármaco de caráter básico e que apresenta pKa igual a 6,93 (OWENS *et al.*, 1997), pode-se afirmar que a DOXA MESIL se apresenta ionizada nesta solução, não sendo este estado favorável a sua permeação. Sendo assim, não foi possível elaborar o perfil de permeação desta solução, tanto em pele quanto em epiderme isolada, visto que não foi observada a permeação do fármaco no ensaio *in vitro*.

Foi possível preparar a FO da F2 contendo o fármaco na concentração estabelecida. Os perfis de permeação encontrados nos ensaios utilizando pele ou epiderme isolada são mostrados no Gráfico 3. Os perfis de permeação foram

expressos graficamente como os valores médios de $Q \pm \text{EPM}$, em função do tempo (t).

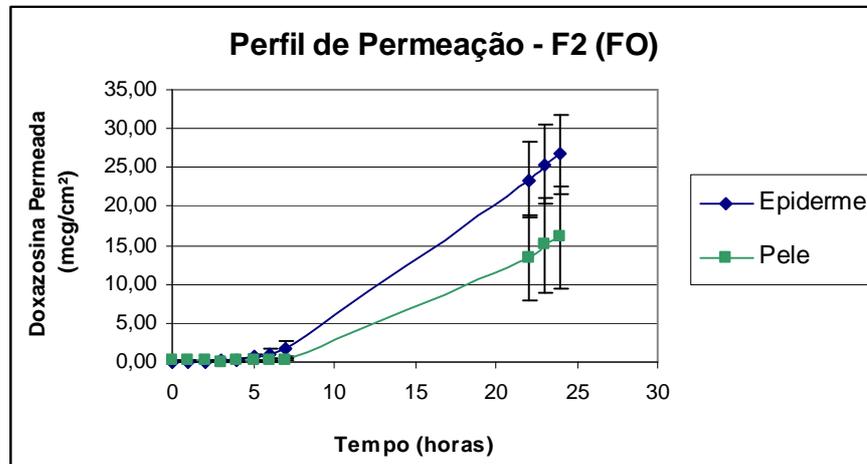


Gráfico 3: Perfil de permeação *in vitro* da FO da F2 em pele e em epiderme isolada de porco. $Q \pm \text{EPM}$; $n=4$.

Os perfis de permeação encontrados mostraram diferença significativa ($p < 0,05$). Pode-se notar que a permeação final em epiderme foi maior que a encontrada utilizando-se a pele. Desta forma, a epiderme isolada foi selecionada como melhor amostra de tecido animal para ser utilizada nos ensaios de permeação subsequentes. A escolha desta membrana biológica foi ainda baseada no estudo de Tenjarla e Tsegai (1993), pois se espera que, assim como observado para a prazosina, a principal barreira para a permeação da doxazosina seja também a epiderme.

Foi, então, realizado o ensaio de permeação das formulações de microemulsão MD-08 e MD-09, utilizando-se epiderme isolada. O perfil de permeação é mostrado no Gráfico 4.

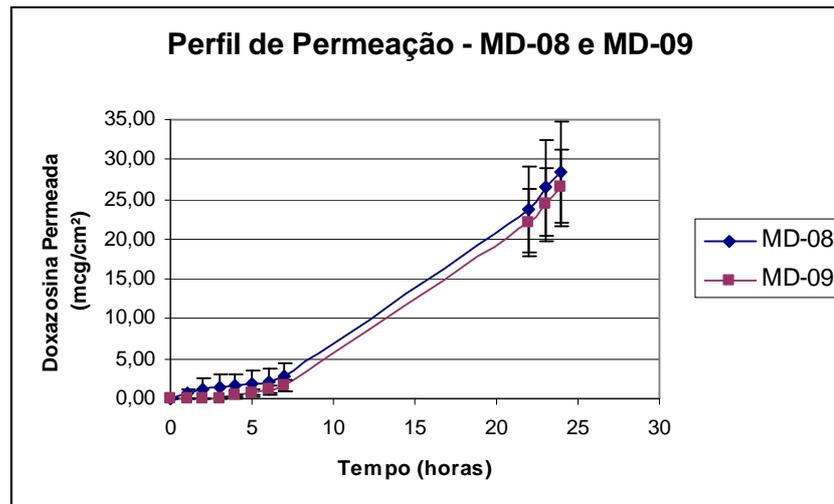


Gráfico 4: Perfis de permeação *in vitro* das formulações MD-08 e MD-09 em epiderme isolada de porco. $Q \pm EPM$; $n=4$.

Pode-se observar que o perfil de permeação e o J (Tabela 11) de ambas as formulações são muito semelhantes entre si e também quando comparados ao perfil encontrado para F2 utilizando-se epiderme isolada. Desta forma, conclui-se que a adição de água à formulação, como também a ordem de adição do fármaco, não proporcionam diferenças na permeação.

Foi, então, realizado o ensaio de permeação com as formulações de microemulsão MD-06 e MD-07, contendo TCC ao invés do IBT como cossolvente. Os perfis encontrados são mostrados no Gráfico 5.

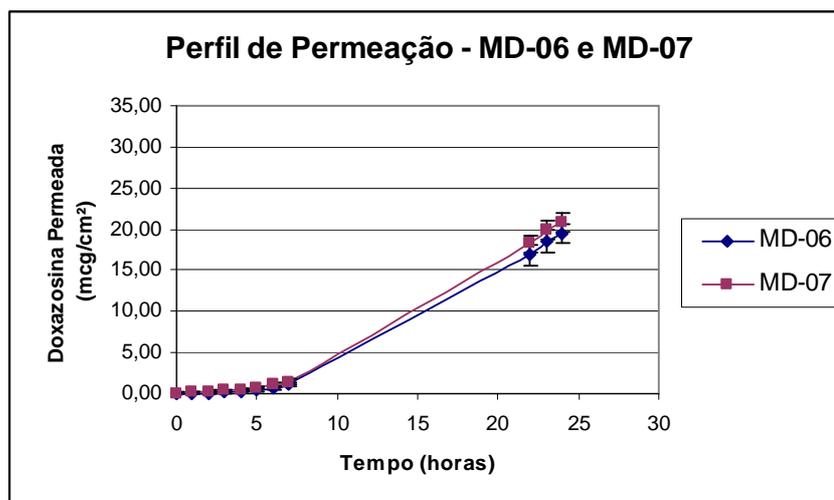


Gráfico 5: Perfis de permeação *in vitro* das formulações MD-06 e MD-07 em epiderme isolada de porco. $Q \pm EPM$; $n=4$.

Assim como para as formulações MD-08 e MD-09, os perfis de permeação encontrados são muito semelhantes entre si, possuindo J muito próximos, confirmando que a ordem de adição do fármaco (antes ou após a água) à formulação não interfere no seu perfil de permeação. Pode-se observar, entretanto, que as quantidades finais de fármaco permeadas e o J são maiores para as formulações MD-08 e MD-09, que utilizam IBT como cossolvente. Pode-se ainda observar que existe um grande *lag time* para todas as formulações estudadas até o momento. Assim, foi proposta a utilização de promotores de permeação, esperando-se que estes influenciassem positivamente na quantidade final de fármaco liberado e auxiliassem na redução do *lag time*.

O próximo passo foi o estudo da permeação das formulações de microemulsão MD-10 e MD-11, utilizando-se ácido láurico a 4,0% (m/m) em relação à formulação antes da adição da água e do fármaco. Nestas formulações, a DOXA MESIL foi acrescentada após a adição de água, ou seja, após a formulação pronta. Os perfis de permeação destas formulações são mostrados no Gráfico 6.

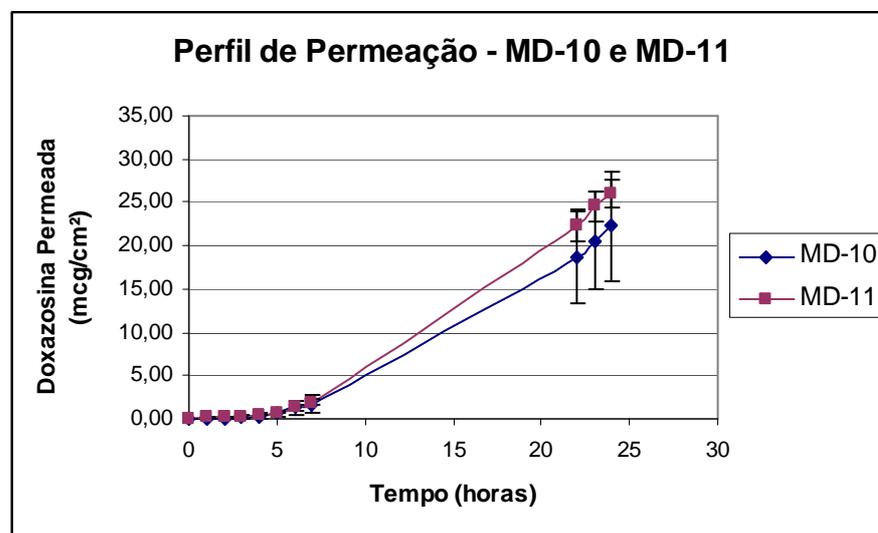


Gráfico 6: Perfis de permeação *in vitro* das formulações MD-10 e MD-11 em epiderme isolada de porco. $Q \pm EPM$; $n=4$.

A adição de ácido láurico não promoveu grandes alterações nos perfis de permeação observados anteriormente, sendo mantido o grande *lag time*, mas pôde-se observar uma maior quantidade final de fármaco permeado com a formulação MD-11, utilizando-se TCC como cossolvente, em comparação à formulação MD-10,

utilizando-se IBT. A utilização de ácido láurico como promotor de permeação foi descartada.

O próximo promotor de permeação estudado foi o Transcutol®, em uma concentração de 4,0% e de 16,0% (m/m) em relação à formulação antes da adição da água e do fármaco. Assim, foram formuladas as microemulsões MD-12, MD-13, MD-14 e MD-15, todas com a adição da DOXA MESIL após a adição de água. Os perfis obtidos são mostrados nos Gráfico 7 e 8.

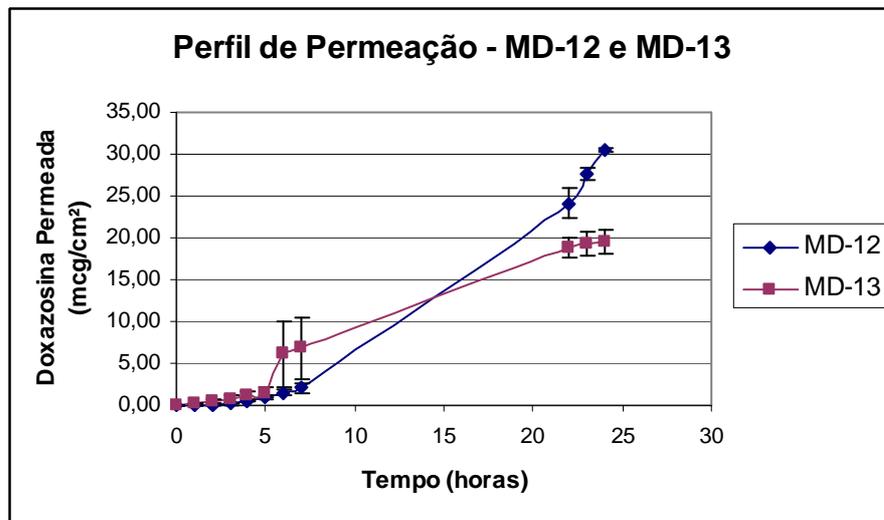


Gráfico 7: Perfis de permeação *in vitro* das formulações MD-12 e MD-13 em epiderme isolada de porco. $Q \pm EPM$; $n=4$.

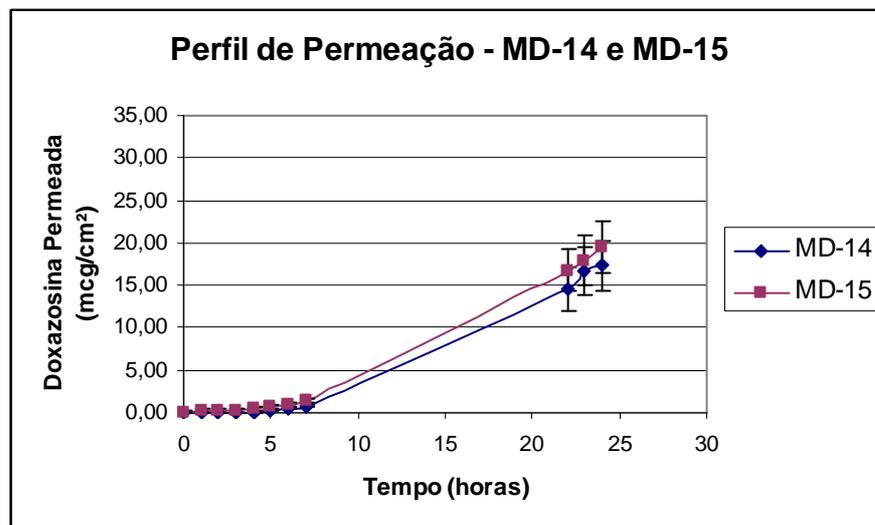


Gráfico 8: Perfis de permeação *in vitro* das formulações MD-14 e MD-15 em epiderme isolada de porco. $Q \pm EPM$; $n=4$.

Pôde-se observar que a adição de Transcutol®, tanto a uma concentração de 4,0% (m/m), como no caso das microemulsões MD-12 e MD-13, quanto na concentração de 16,0% (m/m), no caso das microemulsões MD-14 e MD-15, não causou grandes alterações no perfil de permeação em comparação com as formulações sem este promotor. Quando o Transcutol® foi adicionado a 4,0% (m/m), houve uma maior permeação final da formulação contendo IBT, porém, quando foi adicionado a 16,0% (m/m), houve maior permeação final da formulação contendo TCC, não sendo possível selecionar o melhor cossolvente. Em todos os casos, houve a permanência do grande *lag time*, com exceção para a formulação MD-13, onde houve certa diminuição, mas que pode ser devido ao fato de ter ocorrido alguma alteração em uma das membranas durante a realização do ensaio. Ao se trabalhar com membranas biológicas, pode-se observar certa variabilidade nos resultados obtidos entre as diferentes células de *Franz*, devido ao fato de cada uma delas possuir uma membrana de um animal diferente (NICOLI *et al.*, 2008).

Segui-se, então, com a realização dos experimentos estudando-se a utilização de outro promotor de permeação, no caso, a azona. Foi preparada a formulação MD-16, contendo IBT como cossolvente e azona a 3,0% (m/m) em relação à formulação antes da adição da água e do fármaco. A DOXA MESIL foi acrescentada à formulação após a adição de água.

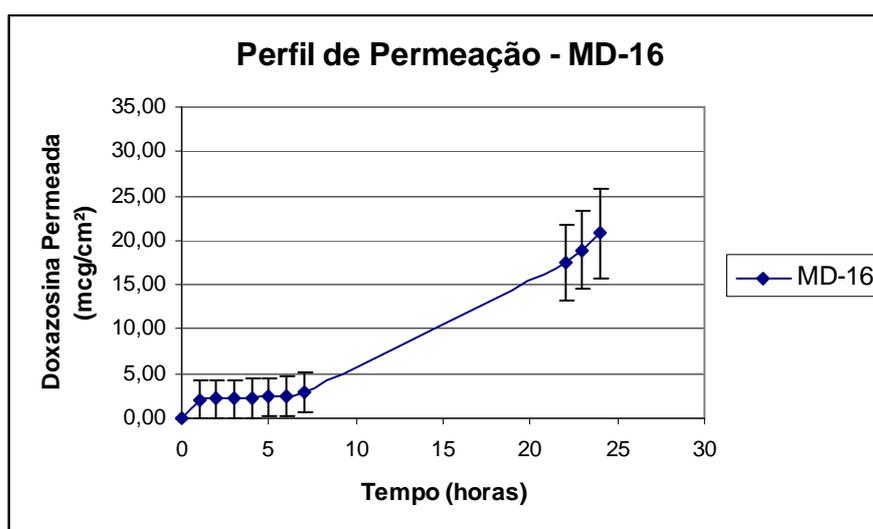


Gráfico 9: Perfis de permeação *in vitro* da formulação MD-16 em epiderme isolada de porco. $Q \pm \text{EPM}$; $n=4$.

Com a utilização da azona como promotor de permeação, não houve aumento da quantidade final de fármaco permeada nem do J , mas houve certa diminuição do *lag time*, quando comparado com os perfis de permeação das formulações que não continham ou contendo outro promotor de permeação. Assim, pode-se considerar a utilização da azona como uma alternativa viável na elaboração de formulações para a permeação transdérmica de doxazosina. Os J calculados para as formulações de microemulsão são mostrados na Tabela 11.

Tabela 11: Fluxos de permeação (J) das formulações de microemulsão.

Formulações	$J(\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h})$
MD-06	1,07
MD-07	1,13
MD-08	1,47
MD-09	1,42
MD-10	1,18
MD-11	1,40
MD-12	1,60
MD-13	0,89
MD-14	0,96
MD-15	1,04
MD-16	1,02

Considerando-se o insucesso das microemulsões em permear a DOXA MESIL através da pele, provavelmente em decorrência da formação de depósitos do sistema na epiderme, optou-se por começar a estudar sistemas mais simples, como as soluções. O desenvolvimento de uma solução para permeação transdérmica contendo um fármaco com estrutura química muito semelhante à doxazosina, a prazosina, foi realizado por Tenjarla e Tseggai (1993). Os experimentos de permeação foram primeiramente realizados com a PRD, solvente utilizado para o preparo das microemulsões, utilizando-se tanto o fármaco na forma de sal, quanto na sua forma de base livre. Os perfis de permeação encontrados para as soluções saturadas (concentração na Tabela 9) são mostrados no Gráfico 10.

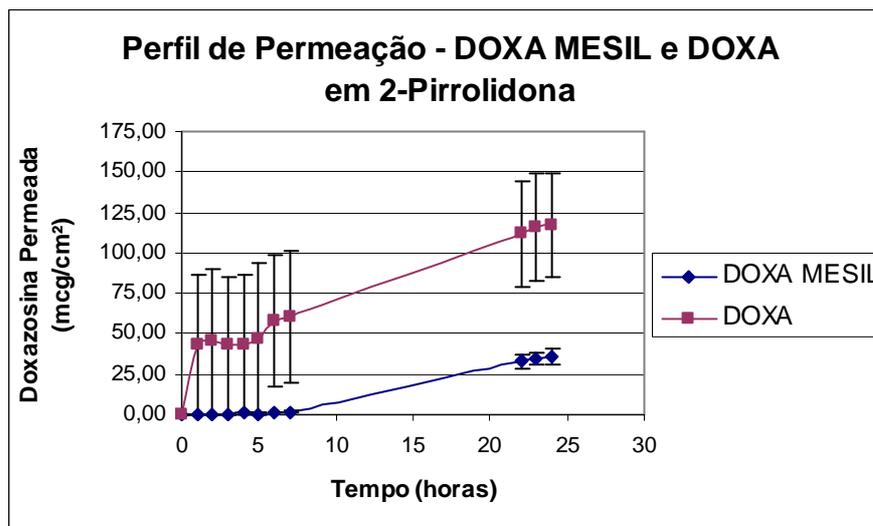


Gráfico 10: Perfis de permeação *in vitro* das soluções saturadas de DOXA MESIL e DOXA em 2-pirrolidona (PRD) utilizando-se epiderme isolada de porco. $Q \pm EPM$; $n=4$.

O perfil de permeação e o J (Tabela 12) da solução saturada de DOXA MESIL em PRD se assemelharam aos das microemulsões contendo esta forma do fármaco. A permeação da solução saturada de DOXA no mesmo solvente apresentou uma diferença significativa ($p < 0,05$), mostrando-se muito maior, porém, possuindo uma grande variabilidade de permeação entre as células de *Franz*, o que também pode ser devido ao fato de cada célula possuir uma membrana de um animal diferente. A DOXA se mostrou bem mais permeável que a DOXA MESIL, confirmando a teoria de que o fármaco em sua forma de base livre é melhor absorvido do que na forma de sal (HARDMAN, LIMBIRD & GILMAN, 2007). Situação semelhante se verifica para a rivastigmina, fármaco utilizado no tratamento da doença de Alzheimer, o qual é veiculado na forma de tartarato para uso oral e na forma de base livre como adesivo transdérmico (GROSSBERG *et al.*, 2011).

A partir deste momento selecionou-se apenas a DOXA para a formulação das demais soluções do fármaco. Foram ainda preparadas soluções saturadas de DOXA em PRD + azona (3,0% m/m), em PPG, em PPG + azona (3,0% m/m) e em PPG + azona (5,0% m/m).

O perfil de permeação da solução saturada de DOXA em PRD + azona (3,0% m/m), em comparação com a solução saturada sem a presença de promotor de permeação, é mostrado no Gráfico 11.

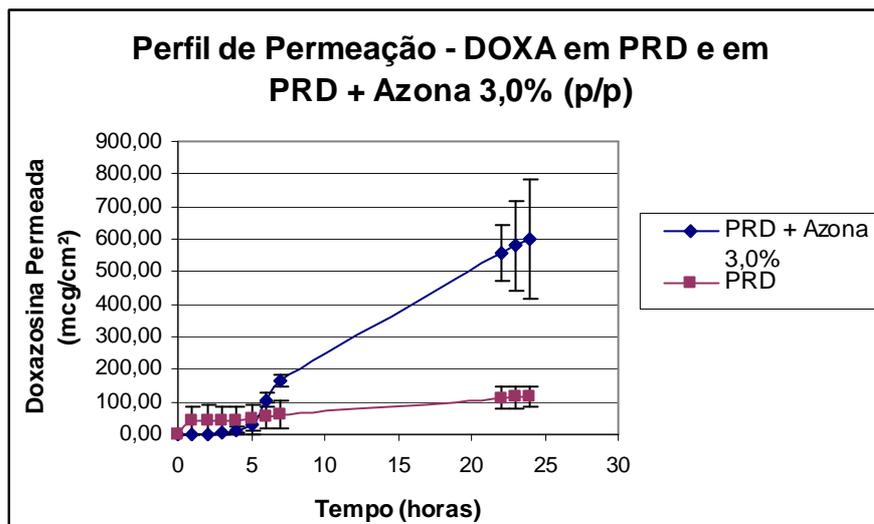


Gráfico 11: Perfis de permeação *in vitro* das soluções saturadas de DOXA em 2-pirrolidona (PRD) e em PRD + azona 3,0% (m/m), utilizando-se epiderme isolada de porco. $Q \pm EPM$; $n=4$.

Apesar da semelhança de concentração do fármaco em ambas as soluções (Tabela 9), foi observada uma maior permeação da solução contendo o promotor e uma redução do *lag time*, havendo diferença significativa ($p < 0,05$) entre os perfis. A azona se mostrou, então, como um bom promotor de permeação a ser utilizado em formulações contendo doxazosina, assim como já havia sido estudado por Tenjarla e Tseggai (1993) para a prazosina. A PRD, agindo como um promotor de permeação, pode causar uma desorganização mais brusca da membrana, enquanto a azona promoveria uma permeação mais controlada, além de uma maior permeação final.

Visando-se realizar um estudo comparativo aos ensaios de Tenjarla e Tseggai (1993) para a prazosina e sabendo-se que a PRD ainda não é completamente aprovada para uso em humanos (JAIN & YALKOWSKY, 2007; FDA, 2011), torna-se interessante realizar estudos das soluções do fármaco em PPG. Tenjarla e Tseggai (1993) realizaram estudos de permeação do cloridrato de prazosina, utilizando-se também a condição de dose infinita. Foram realizados experimentos de permeação de soluções saturadas do fármaco em PPG + azona 3,0% (m/m) utilizando-se a pele e a derme humanas como membranas biológicas para a permeação. Foram encontrados J igual a $4,00 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ e $3,00 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$, respectivamente. O *lag time*, no entanto, foi igual a 52,0 horas quando foi realizado o ensaio com a pele e a 4,0 horas quando foi realizado somente com a derme. Isto confirma que a derme

oferece uma menor barreira à permeação do fármaco, sendo a epiderme a principal barreira para a sua permeação.

Neste estudo, então, realizou-se os ensaios de permeação utilizando-se a epiderme suína como membrana biológica. Utilizou-se, assim como nos estudos de Tenjarla e Tseggai (1993), condições de dose infinita. Apesar de estes autores realizarem os experimentos com a prazosina, os dados obtidos podem ser utilizados como base para os experimentos aqui realizados, visto que ambos os fármacos possuem estrutura química muito semelhante e pelo fato de não existir dados na literatura sobre experimentos de permeação da doxazosina. Foram, então, realizados experimentos de permeação utilizando-se soluções saturadas de DOXA em PPG e em PPG + azona. Os perfis de permeação obtidos e os J encontrados são mostrados no Gráfico 12 e na Tabela 12, respectivamente.

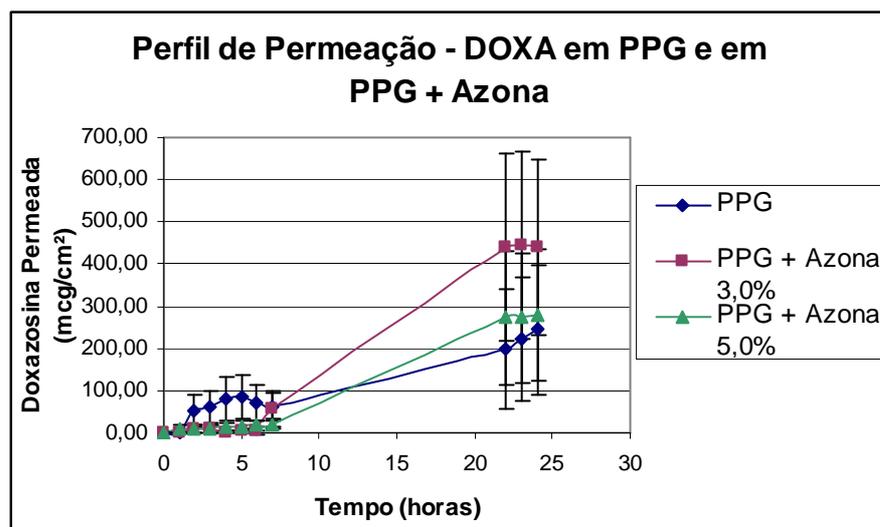


Gráfico 12: Perfis de permeação *in vitro* das soluções saturadas de DOXA em propilenoglicol (PPG) e em PPG + azona 3,0% e 5,0% (m/m), utilizando-se epiderme isolada de porco. $Q \pm EPM$; $n=4$.

Tabela 12: Fluxos de permeação (J) das soluções saturadas.

Soluções Saturadas	$J(\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h})$
DOXA MESIL em PRD	2,02
DOXA em PRD	3,39
DOXA em PRD + azona 3,0% (m/m)	26,82
DOXA em PPG	10,15
DOXA em PPG + azona 3,0% (m/m)	24,78
DOXA em PPG + azona 5,0% (m/m)	15,74

PRD = 2-pirrolidona; PPG = propilenoglicol.

A permeação encontrada utilizando-se a solução saturada de DOXA em PPG + azona a 3,0% (m/m) foi bem maior do que quando se utilizou somente o PPG ou PPG + azona a 5,0% (m/m), havendo diferença significativa entre os perfis ($p < 0,05$), mostrando a importância da utilização deste promotor nesta concentração definida.

Ao se comparar os resultados obtidos com a PRD e o PPG (Gráficos 13 e 14), observa-se uma grande redução do *lag time* para as soluções saturadas sem o promotor de permeação, podendo estes solventes causar uma desorganização mais brusca da membrana. A solução em PPG, mesmo com uma menor concentração do fármaco (Tabela 9), apresentou uma maior permeação, com um maior J , em comparação à solução em PRD, sendo os perfis de permeação encontrados diferentes entre si ($p < 0,05$). O inverso foi observado quando se adicionou o promotor de permeação a estas soluções (Gráfico 14), sendo ainda observados perfis de permeação diferentes significativamente ($p < 0,05$), mas obtendo-se um maior J e uma maior quantidade final de fármaco permeado para a solução em PRD.

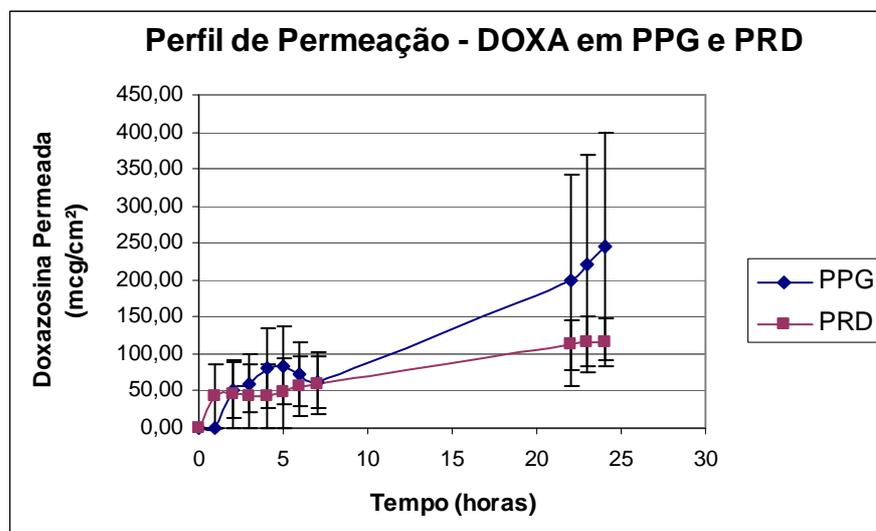


Gráfico 13: Perfis de permeação *in vitro* das soluções saturadas de DOXA em propilenoglicol (PPG) e em 2-pirrolidona (PRD), utilizando-se epiderme isolada de porco. $Q \pm EPM$; $n=4$.

Quando se adiciona a azona, há uma permeação inicial mais uniforme, além de uma maior permeação final, sendo um indício de que o promotor de permeação provoca uma alteração mais organizada na membrana, com uma permeação mais gradual do fármaco, sendo mais desejável.

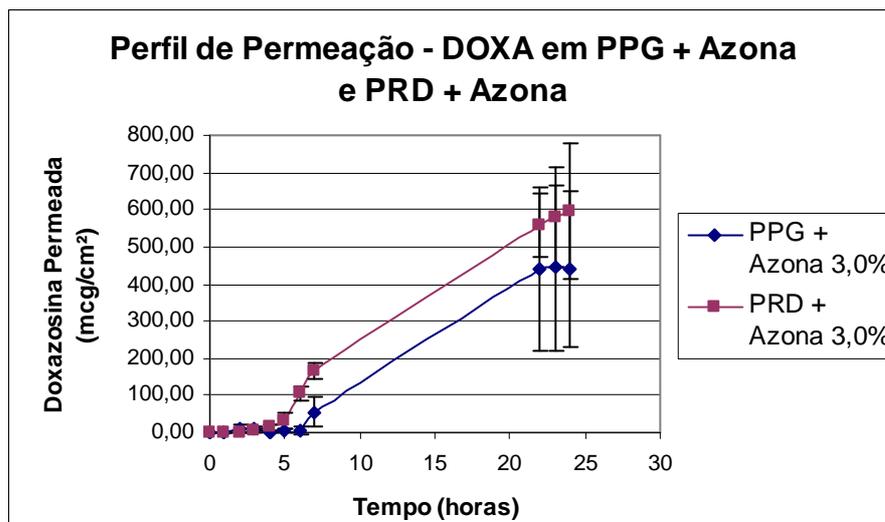


Gráfico 14: Perfis de permeação *in vitro* das soluções saturadas de DOXA em propilenoglicol (PPG) + azona 3,0% (m/m) e em 2-pirrolidona (PRD) + azona 3,0% (m/m), utilizando-se epiderme isolada de porco. $Q \pm EPM$; $n=4$.

Comparando-se os resultados obtidos por Tenjarla e Tseggai (1993), para a solução saturada de prazosina em PPG + azona 3,0% (m/m), obteve-se um J bem maior para a doxazosina nesta mesma solução. Desta forma, as soluções que apresentaram os maiores J , ou seja, as soluções em PRD e em PPG, ambas com azona a 3,0% (m/m) foram selecionadas para a continuação do estudo.

O próximo passo realizado foi formular as melhores soluções obtidas em formulações de liberação transdérmica. Os filmes transdérmicos Patch-non-Patch® foram, então, preparados. O primeiro filme preparado, PnPD-01, possuía Plastoid® E 35 H como sistema adesivo e o fármaco na forma de DOXA MESIL. Este filme não apresentou qualquer permeação do fármaco, mesmo após as 24 horas do ensaio de permeação, inviabilizando o seu uso.

Foram, então, formulados os filmes PnPD-02 e PnPD-03, possuindo outro tipo de sistema adesivo e soluções de PRD + azona 3,0% (m/m) e PPG + azona 3,0% (m/m), respectivamente. O fármaco foi utilizado na sua forma de DOXA. Foram acrescentadas quantidades de fármaco maiores que o seu valor de solubilidade nos respectivos solventes, esperando-se que outros componentes da formulação pudessem auxiliar na sua solubilização.

Os experimentos foram realizados utilizando-se dose finita e em condições não oclusivas e oclusivas, sendo que esta última é conhecida por aumentar a permeação do fármaco (PADULA, NICOLI & SANTI, 2009). Os perfis de permeação obtidos são mostrados nos Gráficos 15 e 16 e os J são mostrados na Tabela 13.

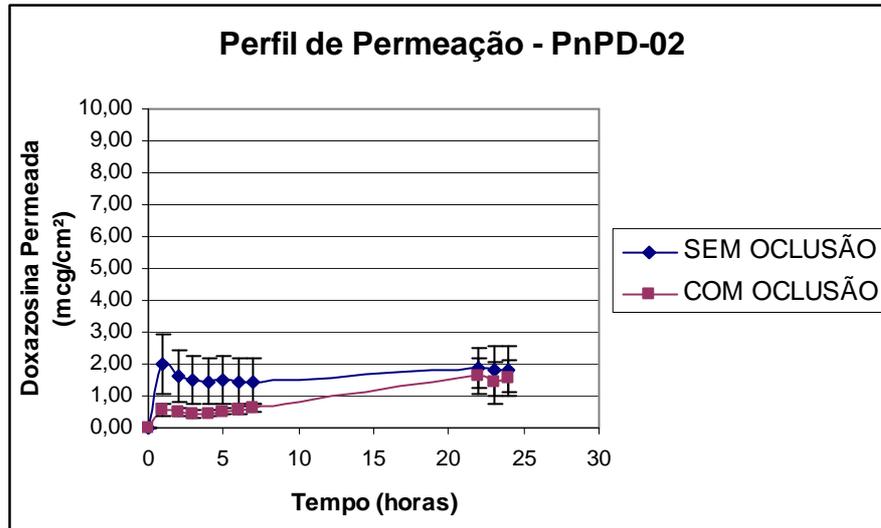


Gráfico 15: Perfis de permeação *in vitro* da formulação PnPD-02 em condição normal e oclusiva, utilizando-se epiderme isolada de porco. $Q \pm EPM$; $n=4$.

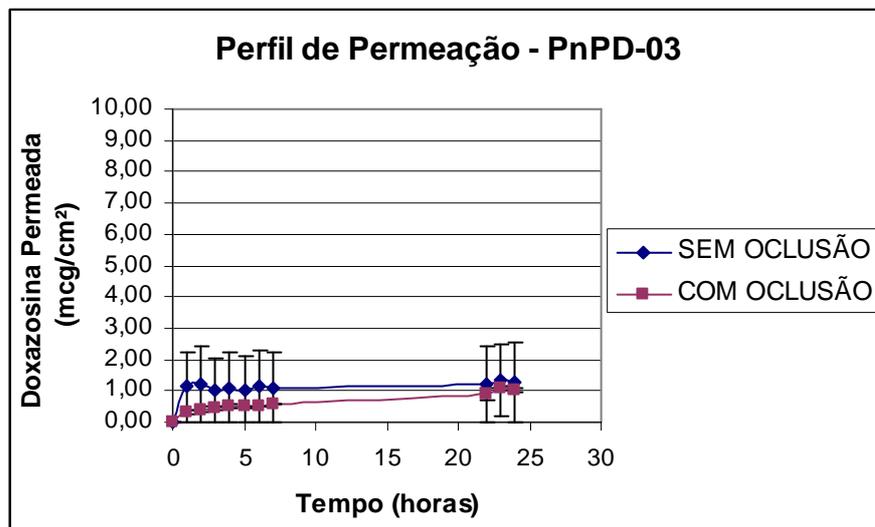


Gráfico 16: Perfis de permeação *in vitro* da formulação PnPD-03 em condição normal e oclusiva, utilizando-se epiderme isolada de porco. $Q \pm EPM$; $n=4$.

Tabela 13: Fluxos de permeação (J) das formulações PnPD-02 e PnPD-03.

Formulações	$J(\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h})$
PnPD-02 SEM OCLUSÃO	0,02
PnPD-02 COM OCLUSÃO	0,06
PnPD-03 SEM OCLUSÃO	0,01
PnPD-03 COM OCLUSÃO	0,03

Foram observadas permeações muito baixas utilizando-se este tipo de formulação, mesmo em condições oclusivas. Sabendo-se que a V_{ent} necessária para a doxazosina é igual a 408,24 $\mu\text{g}/\text{h}$, a área ideal do filme que apresentou o maior J para atingir esse valor seria de 6.804,00 cm^2 , o que inviabiliza a utilização deste tipo de formulação transdérmica de doxazosina.

Outra alternativa foi a preparação de um gel para liberação transdérmica, visto que este tipo de formulação já foi desenvolvida para outros fármacos, além de também ser uma alternativa mais barata (WALTERS *et al.*, 1998; JÄRVINEN *et al.*, 2000; JÄRVINEN *et al.*, 2001; RHEE *et al.*, 2008; KIM, HOWLES e LEE, 2011). Foi preparado somente o gel com PPG + azona 3,0% (m/m), pela PRD ainda não ser completamente aprovada para uso em humanos (JAIN & YALKOWSKY, 2007; FDA, 2011). O perfil de permeação encontrado para esta formulação é mostrado no Gráfico 17.

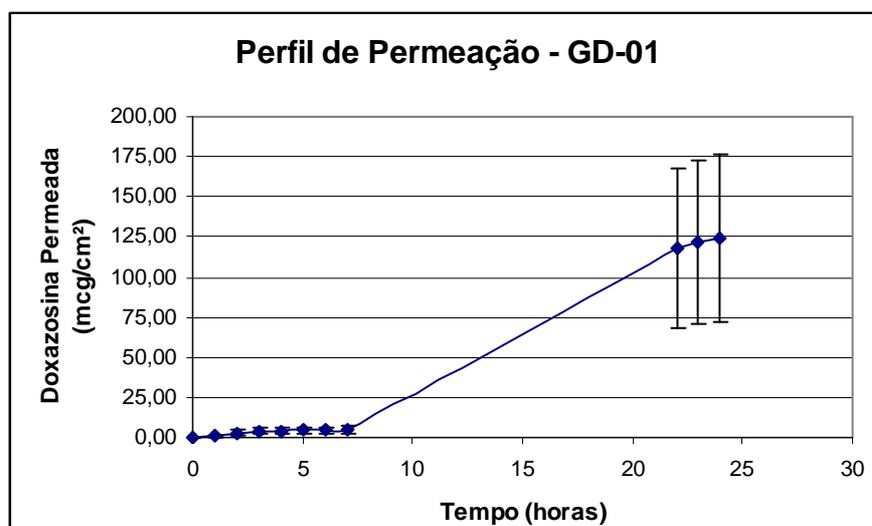


Gráfico 17: Perfil de permeação *in vitro* da formulação GD-01, utilizando-se epiderme isolada de porco. $Q \pm \text{EPM}$; $n=8$.

O J obtido para esta formulação foi de $7,03 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$. Obteve-se um perfil de permeação diferente significativamente ($p < 0,05$) e um J menor do que o obtido para a solução saturada de DOXA em PPG + azona 3,0% (m/m), sendo um indício de que o aumento de viscosidade da formulação possa influenciar negativamente em sua permeação. O J obtido, no entanto, foi maior do que aquele mostrado por Tenjarla e Tsegai (1993) para a solução saturada de cloridrato de prazosina. Hsu e colaboradores (1997), desenvolvendo *patches* transdérmicos de prazosina, obtiveram um J da base livre variando de 2,4 a $10,9 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$, resultados próximos ao J obtido para a formulação GD-01, mostrando ser promissora a utilização do gel de doxazosina para liberação transdérmica. De acordo com os resultados observados, pode-se especular que outras matrizes, como o polaxamer, por exemplo, possam ser utilizadas para produzir géis de maior permeação (RICCI *et al.*, 2005).

5 CONCLUSÕES

Foi possível preparar e caracterizar as formulações transdérmicas de doxazosina propostas.

As microemulsões obtidas, no geral, mostraram baixos J e um *lag time* considerável, mesmo com a utilização de promotores de permeação, não sendo a melhor alternativa de formulação transdérmica para o fármaco. Já as soluções saturadas preparadas apresentaram maiores J . Os *patches* se mostraram uma alternativa inviável para a liberação transdérmica da doxazosina, sendo obtidos J extremamente baixos, mesmo em condições oclusivas.

Já o gel preparado apresentou um J aceitável, indicando a viabilidade da utilização deste tipo de formulação para a liberação transdérmica da doxazosina. Utilizando-se este tipo de formulação, espera-se facilitar a administração do fármaco, anular o efeito do metabolismo pré-sistêmico, obter uma liberação prolongada e diminuir as variações plasmáticas do fármaco que ocorrem com a sua administração oral.

Desta forma, pode-se concluir que o gel transdérmico de doxazosina aqui desenvolvido é uma alternativa viável a ser utilizada no tratamento de pacientes que apresentem Hiperplasia Prostática Benigna.

6 PERSPECTIVAS

Novos estudos deverão ser ainda realizados estudando-se possíveis variações na formulação do gel desenvolvido como, por exemplo, a utilização de outras matrizes como o polaxamer. Os excipientes utilizados poderão ser variados, visando-se obter a otimização da formulação.

Deve-se ainda realizar estudos de irritação cutânea e de ajuste da dose a ser utilizada e, futuramente, estudos *in vivo* para a aprovação da formulação. Pode-se ainda estudar a viabilidade da veiculação de outros fármacos neste tipo de formulação.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOOFAZELI, R.; BARLOW, D.J.; LAWRENCE, M.J. **Particle size analysis of concentrated phospholipid microemulsions: II Photon correlation spectroscopy.** *AAPS PharmaSci*, v.2, n. 2, p. 1-10, 2000.

AMIDON, G.L.; LENNERNÄS, H.; SHAH, V.P.; CRISON, J.R. **A theoretical basis for a biopharmaceutical drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability.** *Pharm. Res.*, v.12, n.3, p.413-420, 1995.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); RDC nº 136 de 29 de maio de 2003; Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/registro/novo.htm>; Acesso em 02/05/11.

AUFFENBERG, G.B.; HELFAND, B.T.; McVARY, K.T. **Established medical therapy for benign prostatic hyperplasia.** *Urologic Clinics of North America*, v. 36 (4), p. 443-459, 2009.

AULTON, M.E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas.** 2º ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

BARBERO, A.M.; FRASCH, H.F. **Pig and guinea pig skin as surrogates for human *in vitro* penetration studies: A quantitative review.** *Toxicology in Vitro*, v. 23, p. 1–13, 2009.

BATHEJA, P.; SHEIHET, L.; KOHN, J.; SINGER, A.J.; MICHNIAK-KOHN, B. **Topical drug delivery by a polymeric nanosphere gel: Formulation optimization and *in vitro* and *in vivo* skin distribution studies.** *Journal of Controlled Release*, v. 149, p. 159–167, 2011.

BEASTALL, J.C.; HADGRAFT, J.; WASHINGTON, C. **Mechanism of action of Azone as a percutaneous penetration enhancer: Lipid bilayer fluidity and transition temperature effects.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 43 (3), p. 207-213, 1988.

BEBAWY, L.I.; MOUSTAFA, A.A.; ABO-TALIB, N.F. **Stability-indicating methods for the determination of doxazosin mezylate and celecoxib.** *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 27, p. 779-793, 2002.

BECERRIL, E.; JIMENEZ, R.; ASTASIO, P.; ORTEGA, P.; GIL, A. **Effectiveness and safety of doxazosin in hypertensive patients with benign prostatic hyperplasia.** *American Journal of Hypertension*, v. 13, p. 252A–270A, 2000.

BREWSTER, M.E.; LOFTSSON, T. **Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers.** *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 59, p. 645–666, 2007.

BRIGANTI, A.; CAPITANIO, U.; SUARDI, N.; GALLINA, A.; SALONIA, A.; BIANCHI, M.; TUTOLO, M.; GIROLAMO, V.; GUAZZONI, G.; RIGATTI, P.; MONTORSI, F. **Benign prostatic hyperplasia and its aetiologies.** *European Urology Supplements*, v. 8, p. 865-871, 2009.

CALABRESE, E.J. **Gastrointestinal and dermal absorption: interspecies differences.** *Drug Metabolism Reviews*, v.15, p. 1013–1032, 1984.

CHANG, J.Y.; OH, Y.K.; CHOI, H.G.; KIM, Y.B.; KIM, C.K. **Rheological evaluation of thermosensitive and mucoadhesive vaginal gels in physiological conditions.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 241(1), p. 155-163, 2002.

CHENG, T.O. **Should patients with benign prostatic hypertrophy stop taking doxazosin in the light of the ALLHAT study?** *International Journal of Cardiology*, v. 107, p. 275– 276, 2006.

CHON, J.K.; BORKOWSKI, A.; PARTIN, A.W.; ISAACS, J.T.; JACOBS, S.C.; KYPRIANOU, N. **α 1-Adrenoreceptor antagonists terazosin and doxazosin induce prostate apoptosis without affecting cell proliferation in patients with benign prostatic hyperplasia.** *The Journal of Urology*, v. 161, p. 2002-2008, 1999.

CHUNG, M.; VASHI, V.; PUENTE, J.; SWEENEY, M.; MEREDITH, P. **Clinical pharmacokinetics of doxazosin in a controlled-release gastrointestinal therapeutic system (GITS) formulation.** *Br Journal Clin Pharmacol*, v. 48, p. 678–687, 1999.

COLOMBO, P.; CATELLANI, P.L.; PADULA, C.; SANTI, P.; COLOMBO, G. **Film for dermal and transdermal administration of drugs.** WO 0230402, 18 abril 2002.

COSTA, C.F. **Síntese de diaminas e amino alcoóis, potenciais agentes leishmanicidas.** Juiz de Fora, 2007. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Química) – Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Juiz de Fora.

DEMIR, O.; MURAT, N.; ASLAN, G.; GIDENER, S.; ESEN, A.A. **Effect of Doxazosin With and Without Rho-Kinase Inhibitor on Human Corpus Cavernosum Smooth Muscle in the Presence of Bladder Outlet Obstruction.** *The Journal of Urology*, v. 175, p. 2345-2349, 2006.

DIXIT, R.P.; NAGARSENKER, M.S.; **Optimized microemulsions and solid microemulsion systems of simvastatin: characterization and *in vivo* evaluation.** *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 99, n. 12, p. 4892 – 4902, 2010.

DJAVAN, B. **α 1-Adenoceptor Antagonists for the Treatment of Lower Urinary Tract Symptoms Suggestive of Benign Prostatic Hyperplasia (LUTS/BPH): State of the Art.** *European Urology Supplements*, v. 3, p. 23–30, 2004.

DJAVAN, B.; ECKERSBERGER, E.; FINKELSTEIN, J.; ESPINOSA, G.; SADRI, H.; BRANDNER, R.; SHAH, O.; LEPOR, H. **Benign prostatic hyperplasia: Current clinical practice.** *Primary Care - Clinics in Office Practice*, v. 37 (3), p. 583-597, 2010.

DREASSI, E.; ZIZZARI, A.T.; MORI, M.; FILIPPI, I.; BELFIORE, A.; NALDINI, A.; CARRARO, F.; SANTUCCI, A.; SCHENONE, S.; BOTTA, M. **2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin strongly improves water solubility and anti-proliferative activity of pyrazolo[3,4-d]pyrimidines Src-Abl dual inhibitors.** *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 45, p. 5958-5964, 2010.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4ª Ed. São Paulo: Atheneu, 1988.

FEMENÍA-FONT, A.; PADULA, C.; MARRA, F.; BALAGUER-FERNÁNDEZ, C.; MERINO, V.; LÓPEZ-CASTELLANO, A.; NICOLI, S.; SANTI, P. **Bioadhesive monolayer film for the *in vitro* transdermal delivery of sumatriptan.** *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 95 (7), p. 1561-1569, 2006.

FERNÁNDEZ, C.B. **Desarrollo de un Sistema Terapéutico de Administración Transdérmica de Sumatriptán.** Valencia, 2010. Tese de Doutorado – Universidad Cardenal Herrera, CEU, Valencia, Espanha.

Food and Drug Administration (FDA) < <http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/>> Acesso em 15/01/2011.

FULTON, B.; WAGSTAFF, A.J.; SORKIN, E.M. **Doxazosin. An update of its clinical pharmacology and therapeutic applications in hypertension and benign prostatic hyperplasia.** *Drugs*, v. 49, p. 295, 1995.

GODDEERIS, C.; CUPPO, F.; REYNAERS, H.; BOUWMAN, W.G.; VAN DEN MOOTER, G. **Light scattering measurements on microemulsions: Estimation of droplet sizes.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 312, p.187-195, 2006.

GRCMAN, M.; VRECER, F.; MEDEN, A. **Some physico-chemical properties of doxazosin mesylate polymorphic forms and its amorphous state.** *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 68, p. 373-387, 2002.

GROSSBERG, G.T.; OLIN, J.T.; SOMOGYI, M.; MENG, X. **Dose effects associated with rivastigmine transdermal patch in patients with mild-to-moderate Alzheimer's disease.** *International Journal of Clinical Practice*, v. 65 (4), p. 465-471, 2011.

GUTHRIE, R.M.; SIEGEL, R.L. **A Multicenter, Community-Based Study of Doxazosin in the Treatment of Concomitant Hypertension and Symptomatic Benign Prostatic Hyperplasia: The Hypertension and BPH Intervention Trial (HABIT).** *Clinical Therapeutics*, v. 21 (10), p. 1732-1748, 1999.

HADGRAFT, J.; PECK, J.; WILLIAMS, D.G.; PUGH, W.J.; ALLAN, G. **Mechanisms of action of skin penetration enhancers/retarders: Azone and analogues.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 141, p. 17-25, 1996.

HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E.; GILMAN, A.G. **Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics.** 11 ed., 2007.

HOSNY, E.A.; HADY, S.S.A.; NIAZY, E.M. **Effect of film composition and various penetration enhancers concentrations on prazosin release from acrylic polymeric films.** *Pharmaceutics Acta Helvetiae*, v. 72, p. 247-254, 1998.

HSU, T.M.; ROOS, E.J. **Transdermal Formulations for Administering Prazosin** United State Patent: 5.688.524, 18 nov.1997.

IRANI, J., BROWN, C.T., VAN DER MEULEN, J.; EMBERTON, M. **A review of guidelines on benign prostatic hyperplasia and lower urinary tract symptoms: are all guidelines the same?** *BJU International*, v. 92, p. 937-942, 2003.

JAIN, J.; FERNANDES, C.; PATRAVALE, V. **Formulation development of parenteral phospholipid-based microemulsion of etoposide.** *AAPS Pharm Sci Tech*, v. 11, n. 2, p.826-831, 2010.

JAIN, P.; YALKOWSKY, S.H. **Solubilization of poorly soluble compounds using 2-pyrrolidone.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 342, p. 1–5, 2007.

JÄRVINEN, A.; BÄCKSTRÖM, A-C; ELFSTRÖM, C.; VIITANEN, A. **Comparative absorption and variability in absorption of estradiol from a transdermal gel and a novel matrix-type transdermal patch.** *Maturitas*, v. 38, p. 189–196, 2001.

JÄRVINEN, A.; GRANANDER, M.; LAINE, T.; VIITANEN, A. **Effect of dose on the absorption of estradiol from a transdermal gel.** *Maturitas*, v. 35, p. 51–56, 2000.

JOHNSON, T.M.; BURROWS, P.K.; KUSEK, J.W.; NYBERG, L.M.; TENOVER, J.L.; LEPOR, H.; ROEHRBORN, C.G. **The Effect of Doxazosin, Finasteride and Combination Therapy on Nocturia in Men With Benign Prostatic Hyperplasia.** *The Journal of Urology*, v. 178, p. 2045-2051, 2007.

JUNPING, W.; TAKAYAMA, K.; NAGAI, T.; MAITANI, Y. **Pharmacokinetics and antitumor effects of vincristine carried by microemulsions composed of PEG-lipid, oleic acid, vitamin E and cholesterol.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 251, p. 13-21, 2003.

KAMILA, M.M.; MONDAL, N.; GUPTA, B.K.; GOSHI, L.K. **Preparation, characterization and in vitro evaluation of Sunflower oil-Tween 80-Glycerol based microemulsion formulation of a BCS class-II drug.** *Latin American Journal of Pharmacy*, v.28, p. 621-627, 2009.

KANKAN, R.N.; RAO, D.R.; GANGRADE, M.G.; MUDGAL, S.S. **Crystalline Polymorph of Doxazosin Mesylate (Form IV) and Process for Preparation Thereof.** Patente 20110034477, 10 fevereiro 2011.

KAPLAN, S.A.; MCCONNELL, J.D.; ROEHRBORN, C.G.; MEEHAN, A.G.; LEE, M.W.; NOBLE, W.R.; KUSEK, J.K.; NYBERG, L.M. **Combination Therapy With Doxazosin and Finasteride for Benign Prostatic Hyperplasia in Patients With Lower Urinary Tract Symptoms and a Baseline Total Prostate Volume of 25 ml or Greater.** *The Journal of Urology*, v. 175, p. 217-221, 2006.

KIM, C-H; HOWLES, C.M.; LEE, H-A. **The effect of transdermal testosterone gel pretreatment on controlled ovarian stimulation and IVF outcome in low responders.** *Fertility and Sterility*, v. 95 (2), p. 679-683, 2011.

KIM, Y.J.; LEE, Y.; KANG, M.J.; HUH, J.S.; YOON, M.; LEE, J.; CHOI, Y.W. **High-performance liquid chromatographic determination of doxazosin in human plasma for bioequivalence study of controlled release doxazosin tablets.** *Biomedical Chromatography*, v. 20, p. 1172–1177, 2006.

KIRBY, R.S.; O'LEARY, M.P.; CARSON, C. **Efficacy of Extended-Release Doxazosin and Doxazosin Standard in Patients With Concomitant Benign Prostatic Hyperplasia and Sexual Dysfunction.** *BJU International*, v. 95, p. 103–109, 2005.

KOGAN, A.; GARTI, N. **Microemulsions as transdermal delivery vehicles.** *Advances in Colloid and Interface Science*. v.123-126, p.369-385, 2006.

KOK , E.T.; SCHOUTEN, B.W.; BOHNEN, A.M.; GROENEVELD, F.P.M.W.; THOMAS, S.; BOSCH, J.L.H.R. **Risk factors for lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia in a community based population of healthy aging men: The Krimpen Study.** *The Journal of Urology*, v. 181, p. 710-716, 2009.

KRAMER, G.; MITTEREGGER, D.; MARBERGER, M. **Is Benign Prostatic Hyperplasia (BPH) an Immune Inflammatory Disease?** *European Urology*, v. 51, p. 1202–1216, 2007.

KREILGAARD, M.; PEDERSEN, E.J.; JAROSZEWSKI, J.W. **NMR characterization and transdermal drug delivery potential of microemulsion systems.** *Journal of Controlled Release*, v. 69, p. 421–433, 2000.

KULKARNI, R.V.; SREEDHAR, V.; MUTALIK, S.; SETTY, C.M.; SA, B. **Interpenetrating network hydrogel membranes of sodium alginate and poly(vinyl alcohol) for controlled release of prazosin hydrochloride through skin.** *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 47, p. 520–527, 2010.

KUMAR, R.; NEHRA, A.; JACOBSON, D.J.; MCGREE, M.E.; GADES, N.M.; LIEBER, M.M.; JACOBSEN, S.J.; SAUVER, J.L. ST. **α -Blocker Use Is Associated with Decreased Risk of Sexual Dysfunction.** *The Journal of Urology*, v. 74, p. 82-88, 2009.

KYPRIANOU, N. **Doxazosin and terazosin suppress prostate growth by inducing apoptosis: clinical significance.** *The Journal of Urology*, v. 169, p.1520–1525, 2003.

LAWRENCE, M.J.; RESS, G.D. **Microemulsion-based media as novel drug delivery systems.** *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 45, p.89 - 121, 2000.

LIU, X.; TESTA, B.; FAHR, A. **Lipophilicity and Its Relationship with Passive Drug Permeation.** *Pharmaceutical Research*, v. 28, p. 962-977, 2011.

LÓPEZ-CERVANTES, M.; MÁRQUEZ-MEJÍA, E.; CÁZARES-DELGADILLO, J.; QUINTANAR-GUERRERO, D.; GANEM-QUINTANAR, A.; ÁNGELES-ANGUIANO, E. **Chemical Enhancers for the Absorption of Substances Through the Skin: Laurocapram and Its Derivatives.** *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 32 (3), p. 267-286, 2006.

MACDIARMID, S.A.; EMERY, R.T.; FERGUSON, S.F.; MCGUIRT-FRANKLIN, R.; MCINTYRE, W.J.; JOHNSON, D.E. **A randomized double-blind study assessing 4 versus 8 mg. doxazosin for benign prostatic hyperplasia.** *The Journal of Urology*, v. 162 (5), p. 1629-1632, 1999.

MAGHRABY, G.M.E. **Transdermal delivery of hydrocortisone from eucalyptus oil microemulsion: Effects of cosurfactants.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 355, p. 285–292, 2008.

MAGNUSSON, B.M.; WALTERS, K.A.; ROBERTS, M.S. **Veterinary drug delivery: potential for skin penetration enhancement.** *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 50, p. 205–227, 2001.

MANCONI, M.; CADDEO, C.; SINICO, C.; VALENTI, D.; MOSTALLINO, M.C.; BIGGIO, G.; FADDA, A.M. **Ex vivo skin delivery of diclofenac by transcutol containing liposomes and suggested mechanism of vesicle–skin interaction.** *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 78, p. 27–35, 2011.

MARBERGER, M. **Managing benign prostatic hyperplasia and prostate cancer – the challenges today.** *Journal of Men's Health*, v. 7 (2), p. 113-124, 2010.

MARTINS, M.R.F.M.; VEIGA, F. **Promotores de permeação para a liberação transdérmica de fármacos: uma nova aplicação para as ciclodextrinas.** *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 38 (1), p. 33-54, 2002.

McNAUGHTON-COLLINS, M.; BARRY, M.J. **Managing patients with lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia.** *The American Journal of Medicine*, v. 118, p. 1331-1339, 2005.

McVARY, K.T. **A review of combination therapy in patients with benign prostatic hyperplasia.** *Clinical Therapeutics*, v. 29 (3), p. 387-398, 2007.

MERCK SHARP & DOHME DO BRASIL. Disponível em: <<http://www.msdonline.com.br/pacientes>> - acesso em: 13/05/11.

MEYER, W.; SCHWARZ, R.; NEURAND, K. **The skin of domestic mammals as a model for the human skin, with special reference to the domestic pig.** *Current Problems in Dermatology*, v. 7, p. 39–52, 1978.

MONTEIRO, L.M. **Preparo e Avaliação de Sistemas Microemulsionados Biologicamente Ativos de Dapsona.** Rio de Janeiro, 2010. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

MONTEIRO-RIVIERE, N.; RIVIERE, J.E. **The pig as a model for cutaneous pharmacology and toxicology research.** In: TUMBLESON, M.E.; SHOOK, L.B. **Advances in Swine in Biomedical Research.** Nova York: Plenum Press, 1996. p. 425–458.

MOSER, K.; KRIWET, K.; NAIK, A.; KALIA, Y.N.; GUY, R.H. **Passive skin penetration enhancement and its quantification in vitro.** *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 52 (2), p. 103-112, 2001.

MOULIK, S.P., PAUL, B.K. **Structure, dynamics and transport properties of microemulsions.** *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 78, p. 99-195, 1998.

MURA, P.; FAUCCI, M.T.; BRAMANTI, G.; CORTI, P. **Evaluation of transcutol as a clonazepam transdermal permeation enhancer from hydrophilic gel formulations.** *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 9, p. 365–372, 2000.

MURA, S.; MANCONI, M.; SINICO, C.; VALENTI, D.; FADDA, A.M. **Penetration enhancer-containing vesicles (PEVs) as carriers for cutaneous delivery of minoxidil.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 380, p. 72–79, 2009.

NANDI, I.; BARI, M.; JOSHI, H. **Study of isopropyl myristate micremulsion systems containing cyclodextrins to improve the solubility of two model hydrophobic drugs.** *AAPS PharmaSciTech*, v. 4, p. 1-9, 2003.

NAOUI, W. ; BOLZINGER, M.-A.; FENET, B. ; PELLETIER, J.; VALOUR, J.-P. ; KALFAT, R. ; CHEVALIER, Y. **Microemulsion Microstructure Influences the Skin Delivery of an Hydrophilic Drug.** *Pharmaceutical Research*, Article in Press, 2011.

NICOLI, S.; PADULA, C.; AVERSA, V.; VIETTI, B.; WERTZ, P.W.; MILLET, A.; FALSON, F.; GOVONI, P.; SANTI, P. **Characterization of Rabbit Ear Skin as a Skin Model for in vitro Transdermal Permeation Experiments: Histology, Lipid Composition and Permeability.** *Skin Pharmacology and Physiology*, v. 21, p. 218–226, 2008.

NICOLI, S.; PENNA, E.; PADULA, C.; COLOMBO, P.; SANTI, P. **New transdermal bioadhesive film containing oxybutynin: In vitro permeation across rabbit ear skin.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 325, p. 2–7, 2006.

NICOLI, S.; SANTI, P. **Transdermal delivery of aminoglycosides: Amikacin transport and iontophoretic non-invasive monitoring.** *Journal of Controlled Release*, v. 111, p. 89 – 94, 2006.

NORNOO, A.O.; OSBORNE, D.W.; CHOW, D.S.L. **Cremophor-free intravenous microemulsions for paclitaxel I: Formulation, cytotoxicity and hemolysis.** *International Journal of Pharmaceutics*, v.349, p.108-116, 2007.

NORNOO, A.O.; ZHENG, H.; LOPES, L.B.; RESTREPO, B.J.; KANNAN, K.; REED, R. **Oral microemulsions of paclitaxel: In situ and pharmacokinetic studies.** *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.71, p. 310-317, 2009.

NUNZIO, C.; KRAMER, G.; MARBERGER, M.; MONTIRONI, R.; NELSON, W.; SCHRÖDER, F.; SCIARRA, A.; TUBARO, A. **The Controversial Relationship Between Benign Prostatic Hyperplasia and Prostate Cancer: The Role of Inflammation.** *European Urology*, Article in Press.

OWENS, P.K.; FELL, A.F.; COLEMAN, M.W.; BERRIDGE, J.C. **Chiral Recognition in Liquid Chromatography Utilising Chargeable Cyclodextrins for Resolution of Doxazosin Enantiomers.** *Chirality*, v. 9, p. 184–190, 1997.

PADULA, C.; COLOMBO, G.; NICOLI, S.; CATELLANI, P.L.; MASSIMO, G.; SANTI, P. **Bioadhesive film for the transdermal delivery of lidocaine: in vitro and in vivo behavior.** *Journal of Controlled Release*, v. 88, p. 277–285, 2003.

PADULA, C.; FULGONI, A.; SANTI, P. **In vivo stratum corneum distribution of lidocaine, assessed by tape stripping, from a new bioadhesive film.** *Skin Research and Technology*, v.16, p. 125–130, 2010.

PADULA, C.; NICOLI, S.; AVERSA, V.; COLOMBO, P.; FALSON, F.; PIROT, F.; SANTI, P. **Bioadhesive film for dermal and transdermal drug delivery.** *European Journal of Dermatology*, v. 17 (4), p. 309-312, 2007.

PADULA, C.; NICOLI, S.; SANTI, P. **Innovative formulations for the delivery of levothyroxine to the skin.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 372, p. 12–16, 2009.

PAVLI, M.; VRECER, F.; BAUMGARTNER, S. **Matrix tablets based on carrageenans with dual controlled release of doxazosin mesylate.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 400, p.15–23, 2010.

PETTAWAY, C.A.; LAMERATO, L.E.; EADDY, M.T.; EDWARDS, J.K.; HOGUE, S.L.; CRANE, M.M. **Benign prostatic hyperplasia: Racial differences in treatment patterns and prostate cancer prevalence.** *BJU International*, Article in Press.

POOLE, C. F.; POOLE, S. K. **Chromatography today.** 5ª Edição; Detroit: Elsevier Science Ltd, 1991.

PRAÇA, F.S.G. **Liberação e permeação *in vitro* de produtos transdérmicos: um estudo metodológico de aparatos e de condições experimentais.** Ribeirão Preto, 2010. Tese de Doutorado (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

RAMIREZ, E.; LAOSA, O.; GUERRA, P.; DUQUE, B.; MOSQUERA, B.; BOROBIA, A.M.; LEI, S.H.; CARCAS, A.J.; FRIAS, J. **Acceptability and characteristics of 124 human bioequivalence studies with active substances classified according to the Biopharmaceutic Classification System.** *British Journal of Clinical Pharmacology*, v. 70 (5), p. 694-702, 2010.

REGE, B.D.; KAO, J.P.Y.; POLLI, J.E. **Effects of ionic surfactants on membrane transporters in Caco-2 cell monolayers.** *European Journal of Pharmaceutical Science*, v. 16, p. 237-246, 2002.

RHEE, Y-S; CHANG, S-Y ; PARK, C-W, CHI, S-C; PARK, E-S. **Optimization of ibuprofen gel formulations using experimental design technique for enhanced transdermal penetration.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 364, p. 14–20, 2008.

RICCI, E.J.; LUNARDI; L.O.; NANCLARES, D.M.A.; MARCHETTI, J.M. **Sustained release of lidocaine from poloxamer 407 gels.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 288 (2), p. 235-244, 2005.

ROBERT, G.; DESCAZEAUD, A.; ALLORY, Y.; VACHEROT, F.; TAILLE, A. **Should We Investigate Prostatic Inflammation for the Management of Benign Prostatic Hyperplasia?** *European Urology Supplements*, v. 8, p. 879–886, 2009.

ROEHRBORN, C.G.; PRAJSNER, A.; KIRBY, R.; ANDERSEN, M.; QUINN, S.; MALLIN, S. **A Double-Blind Placebo-Controlled Study Evaluating the Onset of Action of Doxazosin Gastrointestinal Therapeutic System in the Treatment of Benign Prostatic Hyperplasia.** *European Urology*, v. 48, p. 445–452, 2005.

ROSSI, C.G.F.T.; DANTAS, T.N.C.; NETO, A.A.D.; MACIEL, M.A.M. **Microemulsões: uma abordagem básica e perspectivas para aplicabilidade industrial.** *Rev. Univ. Sér. Ci. Exatas e da Terra*, v. 26, n.1-2, p. 45-66, 2007.

SASOL REACHING NEW FRONTIERS **Product Information: Miglyol®**

SINGH, R.; LILLARD JR, J.W. **Nanoparticle-based targeted drug delivery.** *Experimental and Molecular Pathology*, v. 86, p. 215-223, 2009.

SINTOV, A.C.; BOTNER, S. **Transdermal drug delivery using microemulsion and aqueous systems: Influence of skin storage conditions on the in vitro permeability of diclofenac from aqueous vehicle systems.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 311, p. 55–62, 2006.

SOHN, Y-T; LEE, Y-H. **Polymorphism of Doxazosin Mesylate.** *Archives of Pharmacal Research*, v. 28 (6), p. 730-735, 2005.

SRIPALAKIT, P.; NERHOM, P.; MAPHANTA, S. **Bioequivalence evaluation of two formulations of doxazosin tablet in healthy thai male volunteers.** *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 31, p. 1035-1040, 2005.

STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, J.E.; CHIANN, C.; GAI, M.N. **Biofarmacotécnica**. Ed. Guanabara Koogan, 2009.

STOUGHTON, R.B.; McCLURE, W.O. **Azone: a new non-toxic enhancer of cutaneous penetration**. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v.9 (4) , p. 725-744, 1983.

SUN, G.-H.; TSUI, K.-H.; WU, T.T.; CHANG, C.-H.; CHENG, C.-L.; SCHOU, M. **Efficacy and safety of the doxazosin gastrointestinal therapeutic system for the treatment of benign prostate hyperplasia**. *Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, v. 26 (10), p. 532-539, 2010.

TALEGAONKAR, S.; AZEEM, A.; AHMAD, F.J.; KHAR, R.K.; PATHAN, S.A.; KHAN, Z.I. **Microemulsion: a novel approach to enhanced drug delivery**. *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*, v.2, p. 238-257, 2008.

TENJARLA, S.N.; TSEGGAI, A. **Feasibility of Transdermal Delivery of Prazosin Hydrochloride**. *Drug Delivery*, v. 1, p. 51-54, 1993.

THE MERCK INDEX, An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals, Thirteenth Edition, 2001.

TSAI, Y.-H.; CHANG, J.T.; CHANG, J.-S.; HUANG, C.-T.; HUANG, Y.-B.; WU, P.-C. **The effect of component of microemulsions on transdermal delivery of buspirone hydrochloride**. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 100 (6), p. 2358-2365, 2011.

VALLE, E.M.M. **Cyclodextrins and their uses: a review**. *Process Biochemistry* , v. 39, p. 1033–1046, 2004.

VERHAMME, K.M.C; DIELEMAN, J.P.; BLEUMINK, G.S.; VAN der LEI, J.; STURKENBOOM, M.C.J.M. **Incidence and prevalence of lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia in primary care - The triumph project**. *European Urology* , v.42 (4), p. 323-328, 2002.

VOGEL, A.I. **Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry**. 5^a Ed., Londres, Longman Scientific & Technical, 1989.

WALTERS, K.A.; BRAIN, K.R.; GREEN, D.M.; JAMES, V.J.; WATKINSON, A.C.; SANDS, R.H. **Comparison of the transdermal delivery of estradiol from two gel formulations.** *Maturitas*, v. 29, p. 189–195, 1998.

WARISNOICHAROEN, W.; LANSLEY, A.B.; LAWRENCE, M.J. **Toxicological evaluation od mixtures of nonionic surfactants, alone and in combination with oil.** *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 92, p. 859-868, 2003.

WATKINSON, R.M.; GUY, R.H.; OLIVEIRA, G.; HADGRAFT, J.; LANE, M.E. **Optimisation of cosolvent concentration for topical drug delivery III--influence of lipophilic vehicles on ibuprofen permeation.** *Skin Pharmacol Physiol.*, v. 24(1), p. 22-26, 2011.

XU, X.; ZHU, Q. **Evaluation of skin optical clearing enhancement with Azone as a penetration enhancer.** *Optics Communications*, v. 279, p. 223–228, 2007.

YERRAMSETTY, K.M.; RACHAKONDA, V.K.; NEELY, B.J.; MADIHALLY, S.V.; GASEM, K.A.M. **Effect of different enhancers on the transdermal permeation of insulin analog.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 398, p. 83–92, 2010.

YUAN, Y.; LI, S.M.; MO, F.; ZHONG, D.F. **Investigation of microemulsion system for transdermal delivery of meloxicam.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 321, p. 117-123, 2006.

YUAN, Y.; LI, S.M.; DENG, P.; ZHONG, D.F. **Physicochemical properties and evaluation of microemulsion systems for transdermal delivery of meloxicam.** *Chem. Res. Chinese*, v. 23, p.81-86, 2007.

YUAN, X.-R.; LIU, Y.-H.; LI, R.-Y.; CHEN, X.-X. **Experimental and theoretical NMR study of (s)-doxazosin.** *Wuli Huaxue Xuebao/ Acta Physico - Chimica Sinica*, v. 24 (6), p. 1058-1062, 2008.

ZHANG, Y.; WANG, Y.; ZHANG, P.; ZHANG, X.D.; YANG, Y. **Extended-Release Doxazosin for Treatment of Renal Transplant Recipients With Benign Prostatic Hyperplasia.** *Transplantation Proceedings*, v. 41, p. 3747–3751, 2009.

ZHAO, X.; LIU, J.P.; ZHANG, X.; LI, Y. **Enhancement of transdermal delivery of theophylline using microemulsion vehicle.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 327, p. 58–64, 2006.

8 ANEXOS

Parte deste trabalho foi apresentada nos seguintes congressos:

- FIP Pharmaceutical Sciences 2010 World Congress in Association with the AAPS Annual Meeting and Exposition – Nova Orleans, Louisiana, EUA, 2010.
“Preparation and characterization of nanosystems for benign prostatic hyperplasia treatment”
PUPE, C.G.; CARMO, F.A.; MONTEIRO, L.M.; DANTAS, C.B.; DORNELLAS, C.B.; CABRAL, L.M.
- 7º Seminário Internacional de Nanotecnologia, Sociedade e Meio Ambiente – Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2010.
“Preparação e avaliação de novos adesivos transdérmicos de doxazosina aplicados na terapia do câncer de próstata”
ELISIARIO, T.L.; CARMO, F.A.; CABRAL, L.M.
- III Simpósio Interno de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Farmácia da UFRJ – Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2011.
“Preparo e avaliação de formulações transdérmicas de doxazosina para o tratamento da hiperplasia prostática benigna”
CARMO, F.A.; PUPE, C.G.; ELISIARIO, T.L.; SANTI, P.; CABRAL, L.M.

O seguinte artigo está em fase de preparo para submissão:

- **“Preparation and evaluation of doxazosin transdermal formulations”**
CARMO, F.A.; PUPE, C.G.; PADULA, C.; NICOLI, S.; SANTI, P.; CABRAL, L.M.

Durante a realização da tese, artigos referentes a projetos de pesquisa realizados em paralelo foram publicados:

- **"Preparation and evaluation of lidocaine hydrochloride in cyclodextrin inclusion complexes for development of stable gel in association with chlorhexidine gluconate for urogenital use"**, *International Journal of Nanomedicine*.
SILVA, L. F. J. S.; CARMO, F. A.; BORGES, V. R. A.; MONTEIRO, L. M.; RODRIGUES, C. R.; CABRAL, L. M.; SOUSA, V. P.
- **"Preparation and evaluation of polymer-clay nanocomposite as an adjuvant in pharmaceutical formulas of tablets containing drugs with low water-solubility"**, *International Research Journal of Pharmacy and Pharmacology*.
MATTOS JÚNIOR, A.; CARMO, F. A.; CABRAL, L. M.; TAVARES, M. I. B.; GOMES, A. S.; GRILLO; L. A. M.; DORNELAS, C. B.