



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

FACULDADE DE FARMÁCIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CAROLINA GONÇALVES PUPE

DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE SISTEMAS NANOESTRUTURADOS DE
LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS E SUAS APLICAÇÕES TERAPÊUTICAS

Rio de Janeiro

2013

CAROLINA GONÇALVES PUPE

DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE SISTEMAS NANOESTRUTURADOS A BASE
DE CICLODEXTRINAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS E SUAS APLICAÇÕES
TERAPÊUTICAS

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

2013

P976d Pupe, Carolina Gonçalves.
Desenvolvimento e avaliação de sistemas nanoestruturados a base de ciclodextrinas de liberação de fármacos e suas aplicações farmacêuticas/
Carolina Gonçalves Pupe; Orientadores Lucio Mendes Cabral, Patrizia Santi. – Rio de Janeiro : UFRJ, Faculdade de Farmácia, 2013.
xvii, 114f. : il. col. ; 30cm.

Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Farmácia, 2013.
Inclui bibliografia.

1. Ciclodextrina. 2. Clorexidina. 3. Doxazosina. 4. Finasterida.
5. Transdérmicos. I. Cabral, Lucio Mendes. II. Santi, Patrizia.
III. Título.

CDU – 615.4

CAROLINA GONÇALVES PUPE

DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE SISTEMAS NANOESTRUTURADOS DE
LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS E SUAS APLICAÇÕES TERAPÊUTICAS

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^a. Dr^a. Gisela Maria Dellamora Ortiz
Faculdade de Farmácia – UFRJ

Prof. Dr. Eduardo Ricci Junior
Faculdade de Farmácia – UFRJ

Prof. Dr. Antonio Jorge Ribeiro da Silva
Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais (NPPN) – UFRJ

Prof^a. Dr^a. Eleonora Kurtenbach
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho (IBCCF) – UFRJ

Aos meus pais, Triana e Carlos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por toda força e pela minha família.

A minha mãe, que sempre foi minha força, minha amiga, minha companheira nos momentos ruins e bons. A ela, que me mostrou o caminho da verdade e me fez valorizar meus estudos e a me orgulhar de mim mesma. Agradecimento este que nunca será suficiente para compensar todo amor, dedicação e atenção que recebi dela por toda minha vida.

A meu pai, por ser um exemplo de ser humano. Que me mostra a cada dia como ser uma pessoa melhor com seus sorrisos e palavras de incentivo.

A minha irmã, Camila, pelo carinho e palavras de apoio sempre que precisei!

Não tem como falar do amor e orgulho que sinto por vocês!!!

Ao Prof. Dr. Lucio Mendes Cabral, pela orientação no trabalho realizado e, principalmente, por ter sido muito mais que um orientador. Por toda a paciência e conselhos amigos, não somente sobre o trabalho, mas também sobre a vida. Obrigada!

A Prof^a. Dr^a. Patrizia Santi, por me receber gentilmente em seu laboratório e por toda a ajuda cedida na realização deste trabalho.

Ao meu eterno amigo Rodrigo, por ter sido companheiro e presente em quase todas as decisões que tomei para chegar até aqui, se tornando uma inspiração para mim.

A Arídio, que me deu força quando eu num tinha, que me deu atenção quando eu mais precisava, que me fez sorrir quando estava triste e que enxugou muitas lágrimas quando eu mais precisei. Vou te amar pra sempre!

Aos amigos do LabTIF, que ainda fazem ou não parte da equipe: Flávia, Lula, Aline, Cide, Valerio, Paloma, Little, Pedro, Camila, Alex, Lilian, Maíra, Escudini. Obrigada pelos momentos sempre agradáveis de risadas e descontração.

A Jaque, por ter sido minha amiga-irmã-companheira de todas as horas, até a distância me ajudando em tudo que eu precisei. Te amo demais!

A Roomie, que num vivo mais sem as grosserias dela, levada da breca!

A Prof^a. Rita e a Cleo, por todas risadas, ombros amigos, sessões terapia e todo carinho que vocês me deram!

A Michele Leite, que fez a minha estadia na Itália tão mais confortável. Obrigada por todos os momentos de operação abelha!

A Susana, por ter sido minha companhia em um dos momentos mais difíceis e por ter me ensinado mais coisas sobre a vida do que tudo que aprendi ao longo do doutorado! Obrigada por me fazer uma pessoa mais generosa e mais tolerante! Te quero muito!

Ringrazio alle amiche da lontano come Elena, Annalisa, Marina, Silvia, Carmen, Stella e Martina! Grazie ragazze per tutti momenti speciali che ho vissuto in Italia.

A Fran e a Gysa pelo incentivo diário e as ajudinhas indispensáveis na hora de fazer bibliografia.

A todos da Farmácia Universitária, por me apoiarem todos os dias!

Às Profas da banca de acompanhamento, Prof^a Dr^a Valéria Pereira de Sousa e Prof^a Dr^a Gisela Maria Dellamora Ortiz. Obrigada pela ajuda incrível que vocês me deram na realização deste trabalho, a contribuição de vocês foi fundamental!

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

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

A CAPES pelo suporte financeiro para a realização desta pesquisa.

“Temos a arte para não morrermos da verdade”
Frederich Nietzsche

“A imaginação é mais importante que o conhecimento”
Albert Einstein

RESUMO

PUPE, Carolina Gonçalves. **Desenvolvimento e Avaliação de Sistemas Nanoestruturados de Liberação de Fármacos e Suas Aplicações Terapêuticas**. Rio de Janeiro, 2013. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

Os sistemas de liberação de fármaco são responsáveis pela otimização de diversas características dos mesmos. Dentre várias substâncias que podem compor esses sistemas encontram-se as ciclodextrinas (CD). As CD são oligossacarídeos cíclicos formados por unidades de glicopiranosose ligados, que possibilita a inclusão de moléculas ou parte de moléculas em sua cavidade levando a algumas aplicações farmacêuticas como aumento de solubilidade, aumento da estabilidade físico-química e atuarem como promotores de permeação cutânea. Portanto, o objetivo do trabalho foi preparar e caracterizar complexos de inclusão de CD em formulações contendo clorexidina (CLOR), a fim de avaliar o aumento da estabilidade físico-química do fármaco, e de formulações transdérmicas contendo doxazosina base (DOX) e finasterida (FIN), avaliando a ação da CD como promotor de permeação cutânea. Foram preparados os complexos de CLOR:CD pelos métodos de solução e empastamento nas proporções molares de 1:1, 1:2, 1:3 e 1:4. Os complexos foram caracterizados através das análises de difração de raios-X, calorimetria diferencial de varredura e espectroscopia de infravermelho. A atividade bactericida/fungicida foi avaliada pelo ensaio de halo de inibição utilizando cepas de *C. albicans* e *S. mutans*. Foram preparadas formulações de enxaguatório bucal contendo os complexos e avaliada a estabilidade a $40 \pm 2^\circ\text{C}$ e $75 \pm 5\%$ UR por 6 meses. A formação dos complexos de inclusão de DOX-HP- β -CD e FIN-HP- β -CD foi avaliada através da obtenção dos diagramas de fases. Ensaio de permeação cutânea ex vivo de DOX e FIN foram utilizados para avaliar a ação de diversos promotores de permeação, o efeito da concentração de Azona e o efeito do agente geleificante na permeação cutânea. Através dos métodos utilizados foi possível obter complexos de inclusão de β -CD e seus derivados, os quais apresentaram a mesma atividade bactericida/fungicida que o fármaco livre. Observou-se também que os complexos obtiveram um decaimento de teor menor que o fármaco livre, e que os derivados apresentaram melhor proteção a CLOR devido ao impedimento estérico dos grupos substituintes. Foi obtido o complexo de FIN:HP- β -CD, porém não foi possível a obtenção do

complexo de DOX:HP- β -CD. O promotor de permeação de apresentou melhor coeficiente de permeação foi a azona, e a concentração da mesma influencia na permeação de ambos os fármacos. Observou-se que a concentração de 3% p/p levou a um fluxo de permeação estatisticamente semelhante a 5% p/p. Por fim, observou-se que géis contendo poloxamer 407 levam a um coeficiente de permeação cerca de 5 vezes maior que os contendo hidroxipropilcelulose. Portanto, conclui-se que o uso das ciclodextrinas é adequado no aumento da estabilidade da CLOR, porém estudos mais aprofundados devem ser realizados a cerca da promoção da permeação transdérmica de DOX e FIN.

Palavras-chave: Ciclodextrina, Estabilidade, Administração Transdérmica, Clorexidina, Doxazosina, Finasterida.

ABSTRACT

PUPE, Carolina Gonçalves. **Development and evaluation of drug delivery nanosystems and its therapeutic applications.** Rio de Janeiro, 2013. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

Drug delivery systems are used for several drug characteristic optimization. Cyclodextrins (CD) are one of the substances which can be used for composing this systems. CD are cyclic oligosaccharides of glycopyranose units, which enable molecules or parts of molecules into its cavity leading to pharmaceutical applications as solubility increase, stability increase and its use as skin permeation enhancer. Therefore, the main objective of the study is to prepare and characterize inclusion complexes in chlorhexidine (CLOR) formulations, for stability increase evaluation, and in transdermal formulations of doxazosin (DOX) and finasteride (FIN), evaluating the CD use as skin permeation enhancer. Inclusion complexes of CLOR:CD were prepared by kneading and freeze-drying methods using the molar ratios of 1:1, 1:2, 1:3 e 1:4. The complexes were characterized by X ray powder diffraction, differential scanning calorimetry and infrared spectroscopy. Inclusion complexes bactericidal and fungicidal activities were evaluated by inhibition halo using *C. albicans* e *S. mutans* strains. Mouthwash formulations were prepared using the inclusion complexes and its stability was evaluated at $40 \pm 2^\circ\text{C}$ e $75 \pm 5\%$ RH for 6 months. The DOX-HP- β -CD e FIN-HP- β -CD complexes formation was evaluated obtaining the solubility phase diagram. Ex vivo skin permeation tests of DOX and FIN were used to evaluate the several permeation enhancers effect, the azone concentration effect and the gelling effect in the drugs skin permeation profiles. The used methods for preparing CLOR:CD inclusion complexes were suitable and the bactericidal/fungicidal activity remained unchanged compared to free drug. Inclusion complexes have also presented a decay content less than the free drug, and the CD derivatives provided a better CLOR protection due to the steric effect of the substituents. FIN:HP- β -CD complex was obtained, however it was not possible to obtain the DOX:HP- β -CD complex. The permeation enhancer that presented the best permeation coefficient was the azone, and its concentration affects the skin permeation of both drugs. It was observed that the concentration of 3% w / w led to a statistically permeation flux similar to 5% w / w. Finally, it was observed that poloxamer 407 gels lead to a permeation coefficient about 5 times greater than

those containing hydroxypropyl cellulose. Therefore, it is concluded that the use of cyclodextrins is suitable to increase the stability of CLOR, but further studies should be performed at about promoting the transdermal permeation of DOX and FIN.

Keywords: Cyclodextrin, Stability, Transdermal, Chlorhexidine, Doxazosin, Finasteride.

SUMÁRIO

	PÁGINAS
LISTA DE FIGURAS	13
LISTA DE QUADROS	15
LISTA DE TABELAS	16
LISTA DE ABREVEATURAS SIGLAS E SÍMBOLOS	17
1. INTRODUÇÃO	19
1.1. SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS (SLF)	19
1.2. CICLODEXTRINAS	20
1.2.1. CICLODEXTRINAS E SUA INFLUÊNCIA NA ESTABILIDADE DE FORMULAÇÕES	28
1.2.2. CICLODEXTRINAS E SUA INFLUÊNCIA NA PERMEAÇÃO TRANSDÉRMICA	29
1.3. DOENÇAS PERIODONTAIS	30
1.3.1. CLOREXIDINA	32
1.4. HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA	37
1.4.1. DOXAZOSINA	41
1.4.2. FINASTERIDA	43
2. JUSTIFICATIVA	46
3. OBJETIVO GERAL	47
3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	47
4. MATERIAL E MÉTODOS	48
4.1. MATERIAL	48
4.2. AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO USO DE COMPLEXOS DE INCLUSÃO NO AUMENTO DA ESTABILIDADE DE FORMULAÇÕES DE ENXAGUATÓRIO BUCAL CONTENDO GLUCONATO DE CLOREXIDINA	50
4.2.1. PREPARAÇÃO DOS COMPLEXOS DE INCLUSÃO	50
4.2.1.1. MÉTODO DE SOLUÇÃO	50
4.2.1.2. MÉTODO DE EMPASTAMENTO	51
4.2.1.3. MISTURA FÍSICA	51
4.2.2. CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS DE INCLUSÃO	51
4.2.2.1. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X	51
4.2.2.2. ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO	52
4.2.2.3. ANÁLISE DE CALORIMÉTRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA	52
4.2.3. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE BACTERICIDA/FUNGICIDA DOS COMPLEXOS DE INCLUSÃO	52
4.2.4. ENSAIOS DE QUANTIFICAÇÃO DO GLUCONATO DE CLOREXIDINA	53
4.2.5. DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES DE ENXAGUATÓRIO BUCAL PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS PERIODONTAIS	54
4.2.6. ESTUDOS DE ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES DE ENXAGUATÓRIO BUCAL	54
4.3. DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES TRANSDÉRMICAS DE GEL CONTENDO DOXAZOSINA BASE E FINASTERIDA E AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO USO DOS COMPLEXOS DE INCLUSÃO E OUTROS PROMOTORES NA PERMEABILIDADE CUTÂNEA	55
4.3.1. PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA DOXAZOSINA BASE	55
4.3.2. ENSAIOS DE QUANTIFICAÇÃO DA DOXAZOSINA BASE E FINASTERIDA	55
4.3.3. DIAGRAMA DE FASES	56
4.3.4. TESTE DE SOLUBILIDADE	56
4.3.5. ENSAIOS DE PERMEAÇÃO <i>EX VIVO</i>	57
4.3.5.1. EFEITO DE DIFERENTES PROMOTORES DE PERMEAÇÃO	58
4.3.5.2. EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE AZONA®	58
4.3.5.3. EFEITO DO AGENTE GELEÍFICANTE	58

4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	58
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
5.1.	AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO USO DE COMPLEXOS DE INCLUSÃO NO AUMENTO DA ESTABILIDADE DE FORMULAÇÕES DE ENXAGUATÓRIO BUCAL CONTENDO GLUCONATO DE CLOREXIDINA	59
5.1.1	PREPARAÇÃO DOS COMPLEXOS DE INCLUSÃO DE CICLODEXTRINA	
5.1.2.	CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS	59
5.1.2.1.	DIFRAÇÃO DE RAIOS-X	59
5.1.2.2.	ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO	68
5.1.2.3.	ANÁLISE DE CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA	71
5.1.3.	DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE BACTERICIDA/FUNGICIDA DOS COMPLEXOS DE INCLUSÃO	73
5.1.4.	DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES DE ENXAGUATÓRIO BUCAL CONTENDO GLUCONATO DE CLOREXIDINA	74
5.1.5	ESTUDOS DE ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES DE ENXAGUATÓRIO BUCAL	76
5.2.	DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES TRANSDÉRMICAS DE GEL CONTENDO DOXAZOSINA BASE E FINASTERIDA E AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO USO DOS COMPLEXOS DE INCLUSÃO E OUTROS PROMOTORES NA PERMEABILIDADE CUTÂNEA	78
5.2.1.	PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA DOXAZOSINA BASE	78
5.2.2.	DIAGRAMA DE FASES	79
5.2.3.	ENSAIOS DE QUANTIFICAÇÃO DA DOXAZOSINA BASE E FINASTERIDA	80
5.2.4.	TESTE DE SOLUBILIDADE	84
5.2.5.	ENSAIOS DE PERMEAÇÃO <i>EX VIVO</i>	85
5.2.5.1.	EFEITO DE DIFERENTES PROMOTORES DE PERMEAÇÃO	85
5.2.5.2.	EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE AZONA®	88
5.2.5.3.	EFEITO DO AGENTE GELEIFICANTE	90
6.	CONCLUSÕES	95
7.	PERSPECTIVAS	96
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática das ciclodextrinas. α -CD (a), β -CD (b) e γ -CD (c).	21
Figura 2: Demonstração da formação das ligações intramoleculares na molécula da β -ciclodextrina.	22
Figura 3: Estrutura química da metil- β -ciclodextrina.	24
Figura 4: Estrutura química da hidroxipropil- β -ciclodextrina.	25
Figura 5: Tipos de Diagrama de Solubilidade.	26
Figura 6: Estrutura química da clorexidina.	33
Figura 7: Estruturas tridimensionais propostas para o complexo de inclusão ciclodextrina-clorexidina sendo dependente da taxa molar utilizada: 1:1, 1:2, 1:3 e 1:4, respectivamente.	36
Figura 8: Crescimento celular da próstata ao longo dos anos.	38
Figura 9: Estrutura química da doxazosina.	42
Figura 10: Estrutura química e mecanismo de ação da finasterida.	45
Figura 11: Esquema do método de solução da preparação dos complexos de inclusão.	50
Figura 12: Esquema do método de empastamento da preparação dos complexos de inclusão.	51
Figura 13: Padrões de difração das substâncias puras e dos complexos obtidos com α -CD nas diferentes proporções molares pelos métodos de solução e empastamento.	60
Figura 14: Padrão de difração referência da α -CD.	61
Figura 15: Padrões de difração das substâncias puras e dos complexos obtidos com β -CD nas diferentes proporções molares pelos métodos de solução e empastamento.	63
Figura 16: Padrões de difração das substâncias puras e dos complexos obtidos com γ -CD nas diferentes proporções molares pelos métodos de solução e empastamento.	65
Figura 17: Padrões de difração das substâncias puras e dos complexos obtidos com M- β -CD nas diferentes proporções molares pelos métodos de solução e empastamento.	66
Figura 18: Padrões de difração das substâncias puras e dos complexos obtidos com HP- β -CD nas diferentes proporções molares pelos métodos de solução e empastamento.	67
Figura 19: Espectros das substâncias puras e dos complexos obtidos com β -CD nas diferentes proporções molares pelos métodos de solução e empastamento.	69
Figura 20: Espectros das substâncias puras e dos complexos obtidos com M- β -CD nas diferentes proporções molares pelos métodos de solução e empastamento.	70
Figura 21: Espectros das substâncias puras e dos complexos obtidos com HP- β -CD nas diferentes proporções molares pelos métodos de solução e empastamento.	71

Figura 22: Perfis térmicos das substâncias puras e seus complexos de inclusão obtidos por empastamento na proporção molar de 1:1 obtidos por empastamento (E).	72
Figura 23: Perfis de estabilidade das formulações de exagatório bucal submetidas ao estudo de estabilidade acelerada de 6 meses a $40^{\circ}\text{C}\pm 2$ e $75\pm 5\%$ UR.	78
Figura 24: Padrões de difração da doxazosina base (esquerda) e da doxazosina mesilato (direita).	79
Figura 25: Perfis térmicos da doxazosina base (esquerda) e da doxazosina mesilato (direita).	79
Figura 26: Diagramas de solubilidade de fases dos complexos de inclusão de finasterida (esquerda) e doxazosina (direita) com HP- β -CD.	80
Figura 27: Cromatograma do branco da pele.	81
Figura 28: Cromatograma do padrão de doxazosina base.	81
Figura 29: Cromatograma do padrão de finasterida.	82
Figura 30: Linearidade do método analítico de CLAE utilizado para quantificação de doxazosina e finasterida.	82
Figure 31: Perfil de permeação <i>in vitro</i> de doxazosina base (D) e finasterida (F) em soluções saturadas contendo propilenoglicol e os diferentes promotores de permeação: azona® 3% p/p (AZ3D e AZ3F), ácido Láurico 5% p/p (AL5D e AL5F) e complexo de finasterida:HP- β -CD 1:1 e Azona® 3% p/p (AZHP β CD/FIN).	88
Figura 32: Perfil de permeação <i>in vitro</i> de Doxazosina base (esquerda) e finasterida (direita) em soluções saturadas contendo diferentes concentrações de azona® de 0% (AZ0), 1% (AZ1), 3% (AZ3) e 5% p/p (AZ5).	90
Figura 33: Perfil de permeação <i>in vitro</i> de Doxazosina base e Finasterida nas formulações de géis contendo Propilenoglicol e Azona® 3% p/p com os polímeros Hidroxipropilcelulose (HPC) e Poloxamer 407 (P407).	93

LISTA DE QUADROS

Quadro 01: Tipos de ciclodextrinas e os respectivos valores de solubilidade em água.	23
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Parâmetros utilizados na análise de teor de Gluconato de Clorexidina por CLAE.	53
Tabela 2: Descrição das formulações submetidas aos testes de estabilidade.	54
Tabela 3: Picos e intensidades presentes no padrão de difração da α -CD.	61
Tabela 4: Picos e intensidades presentes no padrão de difração da β -CD.	63
Tabela 5: Picos e intensidades presentes no padrão de difração da γ -CD.	65
Tabela 6: Picos e intensidades presentes no padrão de difração da M- β -CD.	67
Tabela 7: Picos e intensidades presentes no padrão de difração da HP- β -CD.	68
Tabela 8: Amostras testadas para o halo de inibição.	73
Tabela 9: Diâmetros dos halos de inibição obtidos em triplicata para as amostras testadas contra <i>C. albicans</i> e <i>S. mutans</i> .	74
Tabela 10: Fórmula-base para produção de formulações de enxaguatório bucal contendo gluconato de clorexidina.	75
Tabela 11: Formulações de enxaguatório bucal preparadas e medida de pH.	75
Tabela 12: Resultados das análises de pH e teor das formulações de enxaguatório bucal submetidas ao estudo de estabilidade acelerada de 6 meses a $40^{\circ}\text{C}\pm 2$ e $75\pm 5\%$ UR.	77
Tabela 13: Valores de Limite de Detecção e de Quantificação obtidos através do método analítico de CLAE utilizado para quantificação de doxazosina e finasterida.	83
Tabela 14: Dados obtidos na análise de precisão do método analítico de CLAE utilizado para quantificação de doxazosina e finasterida.	83
Tabela 15: Solubilidade da doxazosina base e da finasterida em diversas misturas de solventes.	84
Tabela 16: Solubilidade da Doxazosina base e finasterida em soluções receptoras.	85
Tabela 17: Fluxo, <i>lagtime</i> e coeficiente de permeação das permeações <i>in vitro</i> da finasterida e doxazosina base na avaliação do efeito de diferentes promotores de permeação.	87
Tabela 18: Fluxo, <i>lagtime</i> e coeficiente de permeação das permeações <i>in vitro</i> da finasterida e doxazosina base na avaliação do efeito da concentração da Azona.	90
Tabela 19: Fluxo, <i>lagtime</i> e coeficiente de permeação das permeações <i>in vitro</i> da finasterida e doxazosina base nas formulações contendo propilenoglicol e Azona 3% p/p com os polímeros Hidroxipropilcelulose (HPC) e Poloxamer 407 (P407).	93

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

CD	Ciclodextrina
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CLOR	Clorexidina
DB	Doxazosina Base
DHT	Dihidrotestosterona
DM	Doxazosina Mesilato
DOX	Doxazosina
DRX	Difração de Raios-X
DSC	Differential Scanning Calorimetry
HP	Hidroxipropil
HPB	Hiperplasia Prostática Benigna
HPC	Hidroxipropilcelulose
IPSS	<i>International Postate Symptom Score</i>
J	Fluxo de Permeação
P407	Poloxamer 407
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i>
PPG	Propilenoglicol
$Q_{\text{máx}}$	Fluxo Urinário Máximo
RA	Receptor Androgênico
SLF	Sistemas de Liberação de Fármacos
STUI	Sintomas no Trato Urinário Inferior
T_{lag}	<i>Lagtime</i>

1. Introdução

1.1. Sistemas de Liberação de Fármacos

A tecnologia associada à modificação da liberação de fármacos, ou outras substâncias bioativas, a partir de preparações farmacêuticas sofreu um incremento notório nas últimas décadas na tentativa de maximizar as vantagens inerentes às formas farmacêuticas de liberação modificada. Diversos avanços foram realizados recentemente no desenvolvimento de novas técnicas para a obtenção de sistemas de liberação de fármacos (SLF). Essas técnicas são capazes de regular a taxa de liberação dos fármacos, promover a duração sustentada da ação terapêutica, e/ou a vetorização em um tecido específico (DAS & DAS, 2003).

Os sistemas de liberação modificada constituem uma abordagem terapêutica alternativa para regular tanto a duração quanto a localização de agentes terapêuticos. Na liberação controlada, o fármaco é combinado com excipientes capazes de modular a liberação, sendo os polímeros os mais utilizados na produção desses sistemas. Diversos mecanismos podem atuar na modulação da liberação de fármacos dependendo da estrutura e composição dos sistemas desenvolvidos. Dentre eles podem ser citados as matrizes e os reservatórios, com liberação por difusão ou dissolução e os sistemas osmóticos (PEZZINI, SILVA & FERRAZ, 2007).

Os sistemas de liberação controlada por difusão devem ser caracterizados a fim de garantir a funcionalidade e o desempenho do mesmo, já que o coeficiente de difusão determinará a taxa de liberação do fármaco pelo período de tempo desejado e na concentração terapêutica efetiva. Diversos desses sistemas são compostos de materiais poliméricos biocompatíveis, nos quais o fármaco é armazenado e então liberado por um mecanismo de difusão e/ou degradação química. Nos sistemas de difusão controlada, o coeficiente de difusão é a medida do transporte do fármaco determinado pelas características físicas do polímero, como a porosidade e a possível partição entre o polímero e o fármaco. Quando essas propriedades são fixas, o modo de determinação do coeficiente de difusão se torna essencial na determinação do perfil

de liberação do fármaco. O coeficiente de difusão é uma função do espaço, tempo e da concentração da substância, então se utiliza uma constante aproximada chamada de coeficiente de difusão efetivo (WANG & LOU, 2010).

Em dispositivos do tipo reservatório controlados por dissolução, a liberação do fármaco será dependente da espessura ou da taxa de dissolução da membrana que envolve o núcleo contendo o fármaco. Uma vez que o revestimento se dissolve, o fármaco fica disponível para dissolução e absorção. Portanto, o tempo de liberação do fármaco também será dependente da espessura do revestimento. Partículas de fármaco revestidas podem ser acondicionadas em cápsulas ou comprimidas (STEVENSON, SANTINI & LANGER, 2012).

Os dispositivos de liberação controlada geralmente são compostos de polímeros com diversas características físico-químicas. Porém, outras substâncias também podem compor esses sistemas, como as ciclodextrinas (CD). Os complexos de CD podem ser úteis no desenvolvimento de diferentes tipos de SLF orais temporais. A liberação a partir do complexo fármaco-CD pode levar a uma otimização de sistemas de liberação já conhecidos assegurando biodisponibilidade oral equilibrada e eficiência terapêutica (VYAS, SARAF & SARAF, 2008).

1.2. Ciclodextrinas

As CD são oligossacarídeos cíclicos, constituídos por um número variável de unidades de glicose, que se obtêm por ação da enzima ciclodextrina- α -glicosiltransferase (CGTase) sobre o amido (SZEJTLI, 1994). As CD são compostas de unidades de D(+)-glicopirranose unidas por ligações $\alpha(1,4)$. São classificadas de acordo com o número de unidades glicopíranosídicas que as compõem, podendo ser α - com seis unidades, β - com sete unidades e γ - com oito unidades (Figura 1). Em solução, encontra-se em um arranjo tal que sua cavidade interna tem natureza hidrofóbica e a externa, hidrofílica, pela disposição dos grupos funcionais. Nesta cavidade, moléculas, ou parte de moléculas, podem ser internalizadas formando complexos através de interações intermoleculares.

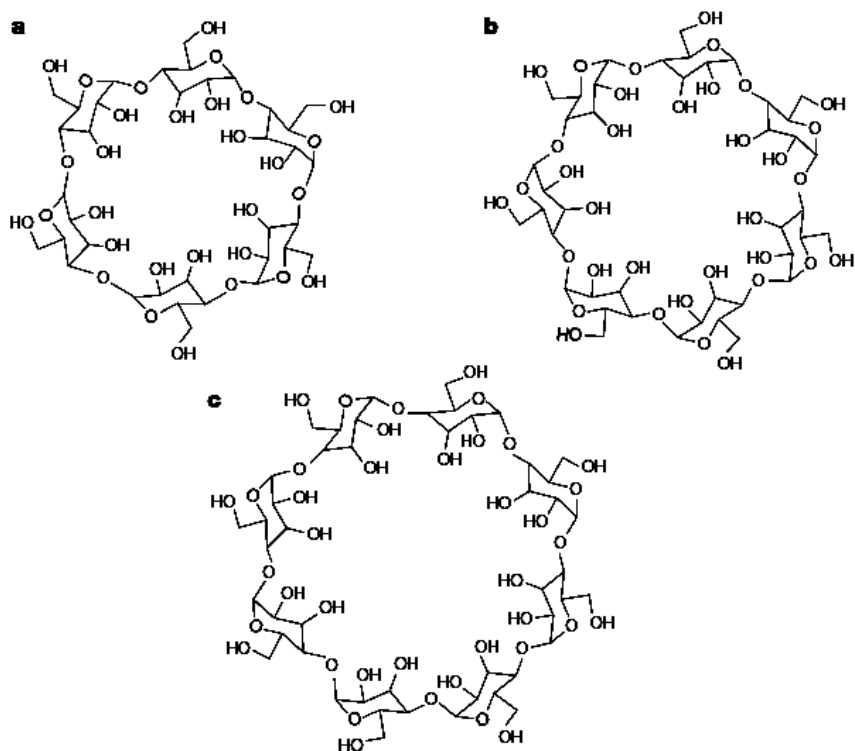


Figura 1: Representação esquemática das ciclodextrinas. α -CD (a), β -CD (b) e γ -CD (c). (DAVIS & BREWSTER, 2004)

A inclusão de moléculas no interior da cavidade das CD requer alguns atributos, os quais podem ser modulados por meio de modificações na estrutura química das CD naturais. Assim, o uso de derivados etilados ou acetilados, por exemplo, permitem que moléculas mais hidrofílicas possam ser incluídas na cavidade das CD a partir de solventes menos polares do que o interior da cavidade da CD original (UEKAMA & OTAGIRII, 1987). Ao se levar em consideração a CD natural mais usada (β -ciclodextrina), o elevado número de grupos hidroxila que esta possui (sete primários e quatorze secundários) são potenciais pontos de reação, que permitem produzir modificações estruturais funcionalizando o anel macrocíclico. Surge, assim, grande variedade de estruturas adaptadas ao desenvolvimento de novos sistemas terapêuticos (DUCHÊNE, WOUESSIDJWE & PONCHEL, 1999; HYRAYAMA & UEKAMA, 1998).

A CD promove uma complexação/encapsulação de outros compostos sem formação de ligações covalentes. A molécula inclusa pode estar total ou parcialmente contida na cavidade. A ligação da molécula dentro da cavidade da CD não é fixa ou permanente; é submetida a um equilíbrio dinâmico (KRISTMUNDSDÖTTIR, LOFTSSON & HOLBROOK, 1996). Não existe um único método que se aplique a toda e qualquer complexação. Além disso, o método de preparação deve levar em conta o rendimento, a simplicidade e a rapidez (MURA, MAESTRELLI & CIRRI, 2003).

A solubilidade de α -, β - e γ -CD é muito menor quando comparada com dextrinas lineares, devido à ligação relativamente forte das moléculas de CD na forma de cristal (alta energia de cristal). Além disso, as moléculas de β -CD formam ligações intramoleculares que diminuem sua habilidade de formar ligações de hidrogênio com a água do solvente (Figura 2). Vários derivados semi-sintéticos de celulose (carboximetil celulose e hidroxipropil celulose) solúveis em água têm sido sintetizados e estão sendo usados em larga escala em uma variedade de produtos industriais. Modificações químicas similares foram aplicadas para se obter derivados de CD solúveis em água, como demonstrado do Quadro 01 (LOFTSSON & DUCHÊNE, 2007).

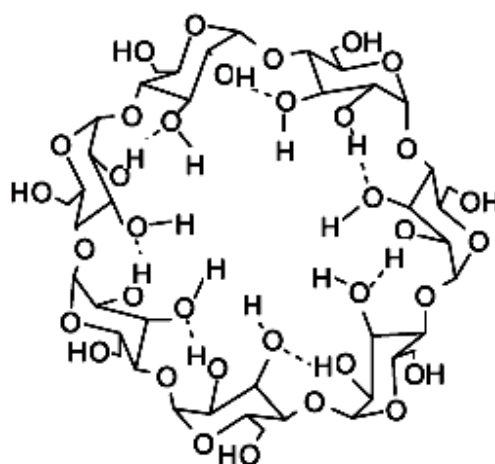


Figura 2: Demonstração da formação das ligações intramoleculares na molécula da β -ciclodextrina (DODZIUK, 2006).

Quadro 01: Tipos de ciclodextrinas e os respectivos valores de solubilidade em água (adaptado de LOFTSSON & DUCHÊNE, 2007).

Ciclodextrina	Solubilidade em água (mg/mL)
α CD	145
β CD	18,5
HP β CD	>600
RM β CD	>500
SBE β CD	>500
γ CD	232
HP γ CD	>500

CD – Ciclodextrina; HP – Hidroxipropil; RM – Metil randomizado; SBE – sulfo-butil-éter.

Quando as hidroxilas presentes na estrutura da β -CD reagem com algum substituinte alquila ou alquil-modificado, a substituição irá render um novo produto. A extensão dessa substituição pode ser definida e expressa de diversas maneiras. O grau de substituição expressa o número de hidroxilas em uma unidade de glicose que foram substituídas. Portanto, este número pode ser 1, 2 ou 3 (SZENTE & SZEJTLI, 1999).

A inserção de grupos metila a β -CD (Figura 3) aumenta drasticamente a solubilidade em água deste composto. Esta solubilidade aumenta com a inserção de 13-14 grupos metila e então diminui quando a metilação chega a 21 grupos por molécula de β -CD. Este material é obtido por um método econômico, tem uma solubilidade em água muito boa, tem alta capacidade de ligação com a maioria dos fármacos pouco solúveis em água, estando disponível tanto na forma de pó seco como de solução à 50% com alta qualidade e preço acessível (SZENTE & SZEJTLI, 1999).

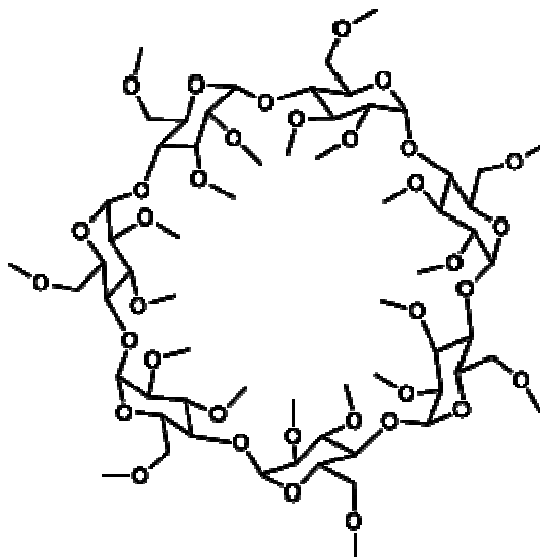


Figura 3: Estrutura química da metil- β -ciclodextrina (LASSERE *et al*, 2008)

A hidroxipropil- β -CD (HP- β -CD) é uma alternativa a α -, β - e γ -CD, com solubilidade em água maior e pode ser considerada mais biocompatível (Figura 4). Diversos estudos foram feitos para avaliar a toxicidade da HP- β -CD e a mesma se mostrou bem tolerada nas espécies animais testados (ratos, camundongos e cães), particularmente administrados oralmente, demonstrando apenas baixa toxicidade limitada (GOULD & SCOTT, 2005). A estrutura do cristal da HP- β -CD monossubstituída mostra que o grupo hidroxipropil de uma molécula é inserido na cavidade da molécula de CD adjacente levando a um cristal fortemente empacotado e é, possivelmente, o que explica a baixa solubilidade intrínseca da HP- β -CD com baixos graus de substituição (UEKAMA, HIRAYAMA & IRIE, 1998).

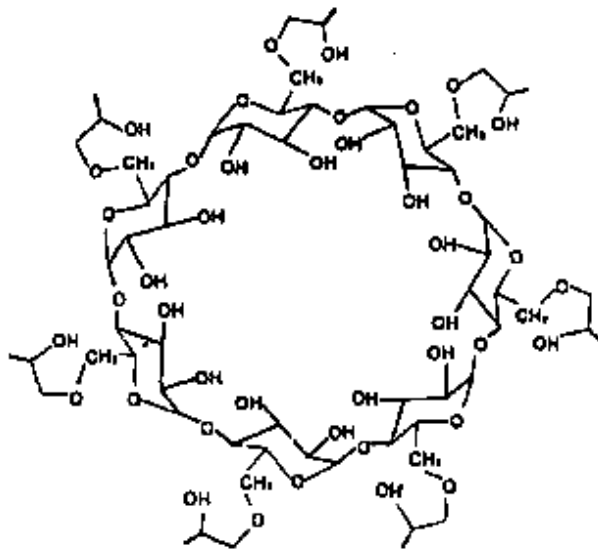


Figura 4: Estrutura química da hidroxipropil-β-ciclodextrina (WANG & BRUSSEAU,1993).

As CD são muito conhecidas por aumentar a solubilidade de fármacos através da inclusão dos mesmos em sua cavidade. Esta habilidade das CD pode ser avaliada quantitativamente através dos estudos de solubilidade de fases desenvolvido por Higuchi e Connors (1965). O método correlaciona a solubilidade do fármaco em função da concentração de CD, gerando diagramas que podem ser do tipo A (onde um complexo solúvel é formado) ou tipo B (formação de um complexo de solubilidade definida) como mostrado na Figura 5. O tipo A pode ainda ser classificado nos subtipos A_L , A_P e A_N , onde a solubilidade do fármaco do primeiro tipo aumenta linearmente com a concentração da CD, enquanto o segundo e o terceiro tipos desviam a solubilidade positiva e negativamente, respectivamente. A formação do complexo com a estequiometria de 1:1 leva a um diagrama do tipo A_L , enquanto a formação de complexos de ordem maior nos quais mais de uma molécula de CD são envolvidas leva a um diagrama do tipo A_P . O mecanismo de interação para o tipo A_N é complicado, devido a uma contribuição significativa de interação soluto-solvente à complexação. No caso do tipo B_S , a porção ascendente inicial da mudança da solubilidade é seguida de uma região de platô e então decresce em maiores concentrações de CD, acompanhada de uma precipitação microcristalina do complexo. O diagrama tipo B_I é um indicativo da

formação de complexos insolúveis em água. A constante de estabilidade e a estequiometria dos complexos podem ser previstas pelo diagrama de solubilidade (UEKAMA, HIRAYAMA & IRIE, 1998).

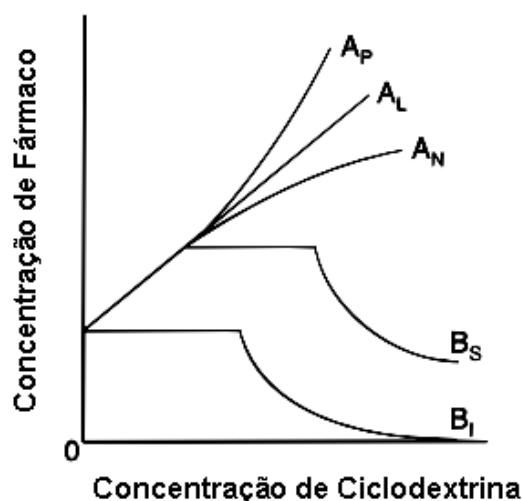


Figura 5: Tipos de Diagrama de Solubilidade (Adaptado de UEKAMA, HIRAYAMA & IRIE, 1998).

A caracterização dos complexos de inclusão em solução baseia-se em alterações físico-químicas da molécula incluída (SINGH, AITHAL & UDUPA, 1998). A detecção dos complexos de inclusão em CD pode ser realizada conforme se apresenta o complexo. Os métodos utilizados são comparativos como difração de raios-X (DRX), para evidenciar a formação do complexo e Infravermelho (IV), para identificar as substâncias que o compõem. Além dessas técnicas, utilizam-se outros métodos de análise térmica, como calorimetria diferencial de varredura (DSC) e termogravimetria (TGA).

Na DRX, a interação entre o vetor elétrico de radiação X e os elétrons do material a ser analisado resultam em uma dispersão (SKOOG, HOLLER & NIELMAN, 2007). Então, quando os raios X sofrem dispersão devido à estrutura organizada presentes no cristal, ambas as interferências, construtivas e destrutivas, surgem entre os raios dispersos uma vez que as distâncias entre os centros de dispersão são de mesma ordem de magnitude do comprimento de onda da radiação, resultando deste modo na

difração. Quando um feixe de raios X atinge uma superfície cristalina a um mesmo ângulo θ , uma parte destes raios é dispersa pela camada de átomos na superfície. A porção do feixe que não sofreu dispersão penetra na segunda camada de átomos onde novamente é dispersa, sendo que uma parte remanescente passa para uma terceira camada. O efeito cumulativo desse espalhamento nos centros regularmente espaçados do cristal resulta na difração do feixe em sua grande parte, do mesmo modo que a radiação visível é difratada pela reflexão reticular. Os requisitos para difração de raios X são: (1) o espaçamento entre as camadas de átomos deve ser aproximadamente o mesmo que o comprimento de onda da radiação e (2) os centros de dispersão devem ser espacialmente distribuídos numa direção altamente regular (SKOOG, HOLLER & NIELMAN, 2007). As CD são substâncias cristalinas, portanto o padrão de difração gerado pela análise de DRX apresenta diversos picos em diferentes ângulos θ , porém o processo de inclusão geralmente leva a uma desorganização da rede cristalina das CD levando a um padrão de difração com características de substâncias amorfas (CORTÉS *et al*, 2001).

As análises térmicas são bastante úteis na caracterização de complexos de inclusão de CD, porém não são precisas, apresentando algumas limitações e a necessidade da utilização de técnicas complementares. Em alguns casos, é possível se obter informações quantitativas quanto ao grau de complexação, além de informações sobre a estabilidade do sistema e sua cristalinidade (SÁ-BARRETO & CUNHA-FILHO, 2008). Dependendo do processo de preparação/separação ou do fenômeno de adsorção/desorção relacionado às condições de armazenamento, as CD podem ser comercializadas na forma de hidratos com conteúdos de água diferentes. Além disso, a maioria dos métodos de preparação dos complexos envolve um processo em meio aquoso, portanto o complexo deve ser considerado como um sistema ternário água-CD-fármaco (GIORDANO, NOVAK & MOYANO, 2001). O perfil termodinâmico da β -CD já está descrito e geralmente pode ser dividido em três partes: 1) perda da água a partir da temperatura ambiente até 120 °C; 2) degradação térmica acompanhada pela oxidação no ar, começando em 250 °C na fase sólida primeiramente e continuando em

estado líquido depois da fusão que ocorre em 300 °C; 3) combustão a 300 °C em ar. (GIORDANO, NOVAK & MOYANO, 2001).

As CD apresentam diversas aplicações farmacêuticas como controle da solubilidade, auxiliar de processos, mascaramento de sabores, redução da volatilidade, estabilização e liberação transdérmica de fármacos.

1.2.1. Ciclodextrinas e sua Influência na Estabilidade de Formulações

As CD podem ser usadas para estabilizar compostos inclusos. A cavidade das CD é um espaço finito. Uma vez que este espaço é ocupado por uma molécula, se torna inacessível a outras, sendo assim são prevenidas interações e reações. Apesar da cavidade das CD serem abertas existe o impedimento estérico que impede a aproximação de outras moléculas às partes da molécula que continuam expostas (HEDGES, 1998).

As CD podem ser utilizadas na melhoria da estabilidade de formulações farmacêuticas e já foi demonstrado seu uso na estabilização de fármacos contra hidrólise, desalogenização, oxidação, descarboxilação e isomerização, tanto em solução quanto no estado sólido (LOFTSSON & BREWSTER, 1996). No entanto, em certos casos, as CD podem acelerar algumas reações (JARHO, VELDE & STELLA, 2000). A natureza da estabilização e da desestabilização depende da CD utilizada e da posição na qual o fármaco se encontra no interior da mesma. Se a molécula se posicionar de forma que o sítio de instabilidade fique localizado no exterior da CD, não se observará efeitos sobre a estabilidade. Porém, quando a posição permitir a interação de um sítio propenso à hidrólise do fármaco com as hidroxilas da CD (ou dos substituintes em derivados sintéticos) pode-se observar um decréscimo na estabilidade do fármaco. Assim como, quando o sítio lábil da molécula estiver localizado no interior da cavidade da CD ocorre um aumento da estabilidade do fármaco. Sendo assim, o grau de estabilização/desestabilização do fármaco no complexo com CD não depende somente da taxa de degradação do complexo, mas também da fração de fármaco que estiver complexada e da estequiometria do mesmo. Portanto, o aumento da estabilidade é observado para fármacos com constantes de estabilidade maiores e

aqueles que tendem a formar complexos de ordens mais altas (UTSUKI, HIRAYAMA & UEKAMA, 1993).

1.2.2. Ciclodextrinas e sua Influência na Permeação Transdérmica

A administração transdérmica de fármacos apresenta diversas vantagens frente a vias de administração comuns, como a via oral ou intravenosa. As principais vantagens da administração transdérmica de fármacos são: boa aceitação do paciente, por não ser invasiva, não possui efeito de primeira passagem e, geralmente, a produção das formas farmacêuticas transdérmicas é simples e de baixo custo em relação a outros sistemas de liberação modificada (AULTON, 2007). Existem diferentes tipos de formulações transdérmicas, como por exemplo, emulsões, cremes, géis e adesivos (*patches*) (VENKATRAMAN & GALLE, 1998).

A absorção através do estrato córneo intacto ou da camada córnea inclui dois processos: partição do fármaco no estrato córneo e a passagem pela matriz lipídica (SCHEUPLEIN & BLANK, 1971). Os fármacos administrados por via tópica são capazes de atravessar por diferentes camadas da pele dependendo do sítio alvo do fármaco. A maior barreira contra a penetração cutânea de substâncias administradas por via tópica é a camada mais externa da pele, o estrato córneo. Assim, a difusão de fármacos através da pele é o passo mais lento e limitante da velocidade de permeação. Formulações tópicas devem ser capazes de atravessar as camadas superficiais da pele, especialmente o estrato córneo, e ter acesso às camadas mais internas (CURDY *et al*, 2001). Os promotores de permeação cutânea apresentam diversas maneiras de aumentar a penetração cutânea de fármacos através da modificação reversível das propriedades de barreira da pele. A taxa de absorção de fármacos, especialmente de formulações aquosas como soluções, loções e géis é uma questão importante, já que permanecem por menos tempo em contato com a pele. Portanto, o conteúdo de fármaco deve ser absorvido o mais rápido possível. A diferença de tempo entre a administração da formulação transdérmica e o início da permeação cutânea é chamado de *lagtime*. Consequentemente, o *lagtime* é de suma importância no que diz respeito a formulações tópicas. A taxa de absorção de um fármaco a partir de formulações transdérmicas é mensurada através de um índice chamado Fluxo (J). O *lagtime* é

determinado pelo coeficiente angular da curva obtida da fase estacionária do perfil de permeação. A partição e a interação de promotores de permeação com os constituintes do estrato córneo são responsáveis por induzir um aumento temporário e reversível na permeabilidade cutânea. Após determinado tempo, o sistema alcançará o equilíbrio e, conseqüentemente, apresentará o fluxo constante determinando a fase estacionária do perfil de permeação de determinado fármaco (MURA *et al*, 2003; PANCHAGNULA *et al*, 2001).

Membranas biológicas são lipofílicas e, então, apenas substâncias relativamente lipofílicas podem permear através das mesmas. No entanto, a difusão passiva é governada pela alta concentração no exterior aquoso da membrana ou do veículo. Através da inclusão em CD é possível aumentar a solubilidade aquosa de alguns fármacos poucos solúveis sem modificar suas estruturas moleculares, portanto sem afetar sua capacidade intrínseca de permear por membranas biológicas lipofílicas. As CD em condições normais permeariam por membranas biológicas com certa dificuldade já que são moléculas relativamente grandes (peso molecular variando de 1000 até acima de 1500) e com uma superfície externa hidrofílica, o que impossibilita o contato com as membranas lipofílicas (MÁSSON *et al*, 1999). Loftsson e colaboradores (1994) demonstraram que com o aumento da concentração de CD, havia um aumento na solubilidade da hidrocortisona e, conseqüentemente, um aumento no fluxo de permeação através da pele. Porém, também se discute a possibilidade da CD interagir com componentes da pele, levando assim a um aumento da permeabilidade de alguns fármacos.

1.3. Doenças Periodontais

A cavidade oral, o espaço limitado pelos lábios e bochechas e a boca, é delimitada por um segmento de paredes constituídas por um epitélio pavimentoso estratificado com revestimento mucoso. A mesma está subdividida pela arcada alvéolo-dentária em vestibulo oral e na boca propriamente dita (DUBRUL, 1991; PRISTA, MORGADO & ALVES, 2002). Nela está contida a língua, um órgão móvel constituído de massa muscular, que é essencial para a mastigação e deglutição, juntamente com a

saliva, que é sintetizada por diversas glândulas salivares (DUBRUL, 1991; UZUNIAN & BIRNER, 2001; PRISTA, MORGADO & ALVES, 2002). Esta secreção possui funções parcialmente físicas e químicas, cujo pH varia do neutro ao ligeiramente alcalino, ou de 6,8 a 7,2 (MANDEL, 1987; DUBRUL, 1991; GUYTON, 2002). Fisicamente, ela umedece e lubrifica a comida; quimicamente, suas enzimas iniciam a primeira fase da digestão e parecem ter algum tipo de ação antibacteriana em relação às cáries dentárias (MANDEL, 1987; DUBRUL, 1991). A saliva é um líquido viscoso contendo água, numerosos eletrólitos (bicarbonato, sódio, potássio, cálcio, cloreto e flúor), muco e vários compostos orgânicos, dentre eles anticorpos e a enzima amilase salivar (GUYTON, 2002).

As doenças periodontais são processos inflamatórios nos tecidos adjacentes aos dentes como resposta a uma acumulação de bactérias (placa dental) (LIÑARES & MARTÍN-HERRERO, 2003). São subdivididas em dois grandes grupos: gengivites e periodontites. As gengivites são subdivididas em gengivites associadas à placa ou não. Já as periodontites se dividem em crônicas, agressivas, como manifestação de doenças sistêmicas, doenças periodontais necrotizantes, abscessos periodontais, periodontites associadas a lesões endodônticas e, por último, deformidades ou condições adquiridas ou de desenvolvimento (GUMARÃES, 2005).

Geralmente, as doenças que acometem a cavidade oral são de origem infecciosa. Existem diversos tipos de microorganismos associados a essas patologias, sendo estes dependentes da dieta e da frequência de remoção mecânica da placa. Um indivíduo que tenha uma dieta comedida de sacarose e com remoção mecânica da placa frequente terá saúde bucal. Porém, indivíduos que não tiverem dieta e higiene adequada poderão desenvolver patologias devido à seleção de certos microorganismos, tornando a placa mais virulenta. Essa placa pode resultar tanto em lesões no tecido duro, caracterizando a cárie, quanto em tecidos moles, definidas como doenças periodontais (TORRES *et al*, 2000).

As bactérias têm um papel significativo na patogênese da periodontite participando na formação da bolsa periodontal, distribuição do tecido conectivo e da

reabsorção do osso alveolar através de mecanismos diretos e indiretos. Contudo, a resposta obtida é largamente responsável pelo grau de distribuição periodontal assim como do balanço que se estabelece entre os diferentes componentes da mesma resposta (BASCONES & MORANTES, 2006).

Existe uma série de fatos que respaldam claramente a origem infecciosa dessas doenças, como a melhora clínica seguida da eliminação de bactérias subgingivais, modelos animais nos quais foram demonstrados a destruição periodontal por bactérias, resposta imune celular e produção de anticorpos específicos contra bactérias associadas à periodontites. Na etiologia da doença periodontal não há uma única espécie bacteriana associada, portanto são consideradas doenças polimicrobianas. Entre as bactérias que se relacionam com estas doenças mais diretamente estão *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus* e *Treponema denticola* (LIÑARES & MARTÍN-HERRERO, 2003).

A eficácia de muitos fármacos que têm ação sobre a mucosa oral está relacionada com seu tempo de contato com o local de ação, fazendo-se necessário, então, o uso de várias doses deste (GIUNCHEDI *et al*, 2001). Uma alternativa seria o uso dos enxaguatórios bucais no tratamento de afecções da cavidade oral, seja contendo bactericidas ou para limpeza mecânica da boca. Não apresentando como finalidade serem ingeridos e possuírem ação sistêmica. Entretanto, o tempo de contato destas formulações com a cavidade bucal é muito reduzido, o que pode ser solucionado com o uso de excipientes que aumentem o tempo de permanência na cavidade oral, como, por exemplo, as CD (WINFIELD & RICHARDS, 1998).

1.3.1. Clorexidina

A clorexidina (CLOR) é uma biguanidina catiônica que apresenta uma molécula simétrica, consistindo de dois anéis fenólicos clorados – 4, clorofenol - e dois grupos biguanida conectados por uma cadeia de hexametileno central, 1,1'-hexametenobis [5-(p-clorofenil)biguanida], como demonstrado na Figura 6. É um dos fármacos de eleição para o tratamento de patologias na cavidade oral. É fortemente básica, contendo duas

cargas positivas, considerada um antisséptico seguro e efetivo na redução da placa e gengivite, nos dentes, mucosas e saliva (NEWBRUN, 1991; LOESCHE, 1993).

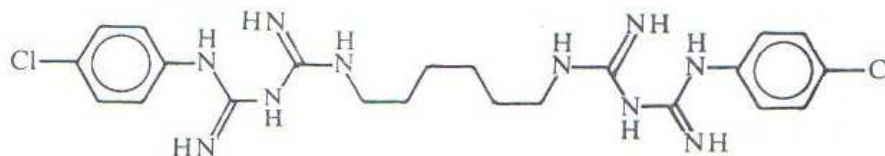


Figura 06: Estrutura química da clorexidina (KOROLKOVAS & BURCKHALTER, 1988).

A CLOR é dotada de uma potente atividade antisséptica, sendo esta decorrente da capacidade de suas cargas positivas interagirem por forças eletrostáticas aos grupos fosfatos, carboxilas e sulfatos disponíveis tanto na mucosa oral ou superfície do dente como nas bactérias. Estas ligações ocorrem, muito provavelmente, com os grupos carboxilas disponíveis nos proteoglicanos e os grupos fosfatos dos ácidos teicóicos e lipoteicóico, na parede interna bacteriana (NEWBRUN, 1991; LOESCHE, 1993). Ao ligar-se à parede bacteriana, a CLOR interfere diretamente na integridade da membrana celular, a qual se torna permeável, provocando danos irreversíveis como a precipitação e o extravasamento de componentes citoplasmáticos (FARDAL & TURNBULL, 1986; LOESCHE, 1993; KOONTOGKAEW & JITPUKDEEBODINTR, 1995; VAAHTONIEMI *et al*, 1995). Sobre o metabolismo bacteriano, esta bis-biguanidina inibe complexos enzimáticos, dos quais se destacam os sistemas glicosiltransferase e 2-fosfoenolpiruvato fosfotransferase (LOESCHE, 1993). A 2-fosfoenolpiruvato fosfotransferase é uma enzima considerada vital para o processamento e a manutenção da via glicolítica, que integra o sistema de fosfotransferência, através do qual se dá a incorporação de glicose às células bacterianas (LOESCHE, 1993).

A CLOR também pode apresentar atividade bactericida, devido à precipitação dos componentes citoplasmáticos, provavelmente causada por ligações cruzadas com proteínas e pelo afastamento dos componentes celulares de baixo peso molecular. Possui amplo espectro antibacteriano, sendo mais efetiva contra as bactérias gram-

positivas e algumas espécies de *Pseudomonas* e *Proteus*, onde estas possuem uma baixa susceptibilidade (LOESCHE, 1993; SWEETMAN, 1999).

É indicada nas mais diversas situações em que se deseja uma efetiva ação antimicrobiana, sendo empregada, frequentemente, em diferentes procedimentos odontológicos, dentre eles (VASCONCELOS, 2001):

- durante a fase de cicatrização, pós-intervenções cirúrgicas orais;
- antes do procedimento cirúrgico-oral, ou periodontal, para prevenir bacteremia pós-cirúrgica;
- durante a terapia de ulcerações aftosas;
- durante o tratamento de estomatites protéticas;
- na instrumentação de canal;
- associado ao cimento cirúrgico;
- e em pacientes que possuem hipersensibilidade ao hipoclorito de sódio.

Uma das maiores vantagens da CLOR é a substantividade. Sua atividade residual foi confirmada em diferentes estudos, pois a mesma tem a capacidade de aderir à superfície dentária, podendo ser encontrada após 24 horas da aplicação. Essa propriedade também foi observada por Vasconcelos (2001), que mostra que o efeito da substantividade da clorexidina torna sua ação melhor que a do hipoclorito de sódio. Segundo registros de literatura, a clorexidina adsorvida é gradualmente liberada no período de 24 horas, diminuindo sua concentração na boca (ZANELA, 1999). Esta liberação gradual é responsável por favorecer a redução da colonização bacteriana na superfície dental.

Os benefícios da ação antisséptica da CLOR são incontestáveis, muito embora o seu uso continuado acarrete em alguns efeitos colaterais. O aparecimento de manchas,

reversíveis através dos procedimentos mecânicos de limpeza profissional é considerado o principal efeito secundário decorrente da utilização deste quimioterápico (VASCONCELOS, 2001). O gosto amargo da solução e a interferência na sensação gustativa após o bochecho também são observados (ADAMS & ADDY, 1994; HELMS *et al*, 1995; VASCONCELOS, 2001).

Vários relatos sobre observações e experimentações clínicas tratam da eficácia das soluções de CLOR a 0,12%, sendo utilizada na Europa desde a década de 70; nos Estados Unidos este quimioterápico encontra-se disponível mediante prescrição, enquanto que, na Noruega, tem o seu uso limitado. No Brasil, a CLOR foi introduzida na década de 90 junto a certos produtos industrializados. A CLOR pode ser encontrada comercialmente sob diversas formas farmacêuticas, como dentifrícios e géis, mas é sob a forma de enxaguatório bucal que apresenta destaque no uso odontológico. Dentre as formas de apresentação encontradas no mercado encontramos os seguintes produtos: Cariax[®] (Kin); Orthokin[®] (Kin); Noplak[®] (Daudt), Noplak Max[®] (Daudt) e Periogard[®] (Colgate).

Vale ressaltar que no mercado não há formulações de clorexidina associadas à forma farmacêutica de comprimidos bucais. Entretanto, na literatura observa-se um estudo ligado a este tema do grupo de Giunchedi e colaboradores (2001). O estudo trata do desenvolvimento de formulações de comprimidos bucais, com base em microesferas de quitosano contendo diacetato de clorexidina. As micropartículas foram preparadas e as suas características morfológicas foram estudadas por microscopia eletrônica. Seu comportamento *in vitro* foi investigado, além da atividade antimicrobiana. Assim, observou-se que o carregamento de CLOR em quitosano é capaz de manter ou até mesmo melhorar seu efeito antimicrobiano. Trata-se, portanto, de uma formulação importante para o tratamento potencial contra infecções bucais (GIUNCHEDI *et al*, 2001).

Cortés e colaboradores (2001) descreveram a preparação do complexo de CLOR:β-CD na proporção molar de 1:2 pelo método de solução e sua caracterização por difração de raios-X, espectroscopia de infravermelho, análises térmicas e ressonância

magnética nuclear obtendo evidências conclusivas a cerca da formação do complexo. Além disso, foi observado que os complexos apresentavam uma concentração inibitória mínima menor que a da clorexidina pura. Para entender as interações entre a CLOR e a β -CD, Denadai e colaboradores (2007) fizeram então um estudos da estrutura supramolecular do complexo utilizando métodos como ressonância magnética nuclear (H1, T1 e ROESY), espectroscopia de massa por ionização com eletrospray e calorimetria de titulação isotérmica, confirmando a formação dos complexos na proporção molar de 1:4, o qual é estabilizado fortemente por interações de curta distância, porém sofre um efeito forte e oposto de redução de entropia. A Figura 7 mostra as sugestões do autor para as interações possíveis entre a CLOR e a β -CD.

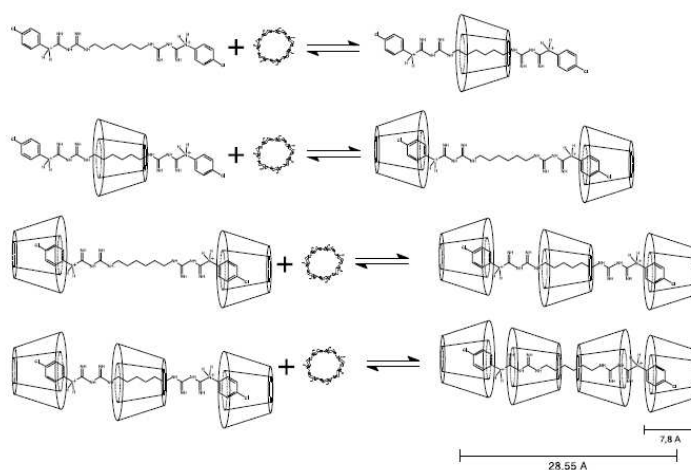


Figura 7: Estruturas tridimensionais propostas para o complexo de inclusão ciclodextrina-clorexidina sendo dependente da taxa molar utilizada: 1:1, 1:2, 1:3 e 1:4, respectivamente (DENADAI *et al*, 2007).

Sendo a substantividade uma das maiores vantagens associadas à CLOR, Franco e colaboradores (2003) avaliaram a substantividade, a atividade antimicrobiana e o efeito morfológico dos complexos de inclusão CLOR:HP- β -CD preparados na proporção molar de 1:2 pelo método de solução. Observou-se então, que a formação do complexo desacelera o processo de desorção da CLOR dos tecidos dentários em cerca de duas vezes, o que sugere que a CD modula a cinética de liberação relacionada à

dissociação da clorexidina garantindo uma liberação lenta em baixas concentrações e alta substantividade e atividade antimicrobiana.

1.4. Hiperplasia Prostática Benigna

Hiperplasia Prostática Benigna (HPB) é uma condição progressiva, relacionada com o envelhecimento dos homens, caracterizada pelo crescimento da próstata acompanhado por sintomas no trato urinário (Isaacs 2008). HPB é a quarta doença mais comumente diagnosticada em homens com idade avançada, sendo que mais de 50% dos homens dos homens com idade acima dos 50 anos são afetados e com cerca de 80 anos 90% dos homens apresentarão a próstata aumentada. As opções de tratamento da HPB incluem medicamentos, terapias minimamente invasivas e cirurgia (SAUSVILLE & NASLUND, 2010). O crescimento exacerbado da próstata leva à compressão do canal uretral causando uma obstrução parcial ou total da uretra e interferindo no fluxo urinário normal. Os sintomas relacionados a esse crescimento podem ser hesitação urinária, aumento da frequência urinária, gotejamento pós-miccional, aumento do risco de infecção no trato urinário e retenção urinária (Trueman, Hood et al. 1999). Esses sintomas no trato urinário inferior (STUI) causados pela HPB são incômodos para a maioria dos pacientes e impactam substancialmente sua qualidade de vida. Além disso, a HPB pode ser uma doença progressiva levando à retenção urinária aguda e, finalmente, à remoção cirúrgica da próstata (KIM *et al*, 2011). Os pacientes apresentam geralmente múltiplos sintomas, mas ocorre o aparecimento de um deles primeiramente causando o decréscimo da qualidade de vida. Câncer na próstata, câncer na bexiga, infecções no trato urinário, prostatite, estenose uretral e pedras nos rins também podem causar STUI (SAUSVILLE & NASLUND, 2010). Sendo assim o diagnóstico da HPB se torna indispensável para o tratamento adequado e melhora da qualidade de vida dos pacientes. O diagnóstico pode ser feito pela observação dos sintomas no trato urinário através do histórico médico, exames físicos, como o exame digital retal, uso da Escala Internacional de Avaliação de Sintomas Prostáticos (IPSS – *International Postate Symptom Score*) e gráfico de volume e frequência urinária (Chapple 2010). Essas ferramentas de avaliação dos sintomas por escalas podem ser usadas para determinar a severidade da doença, documentar a

resposta terapêutica, e detectar a progressão dos sintomas em homens que não estão em tratamento. Além disso, pode-se utilizar a taxa de fluxo urinário máximo ($Q_{m\acute{a}x}$) como uma importante ferramenta para determinar a eficácia da terapia em pacientes com HPB, a qual é mensurada com um urofluxômetro e comparada com as taxas de fluxo urinário de pessoas que não apresentam a patologia (MILLER & MILLER, 2011). A patogênese da HPB não é totalmente elucidada, porém há a interferência da testosterona e da dihidrotestosterona (DHT). Os STUI são gerados por duas classes de componentes: os dinâmicos e os mecânicos. O dinâmico é determinado pelo tônus do músculo liso na região do colo da bexiga e da cápsula prostática. E o mecânico é determinado pelo adenoma em constante crescimento, o qual cresce de 0,2 a 0,5 mL por ano após o término da puberdade como mostra a Figura 8 (Madersbacher and Marszalek 2007).

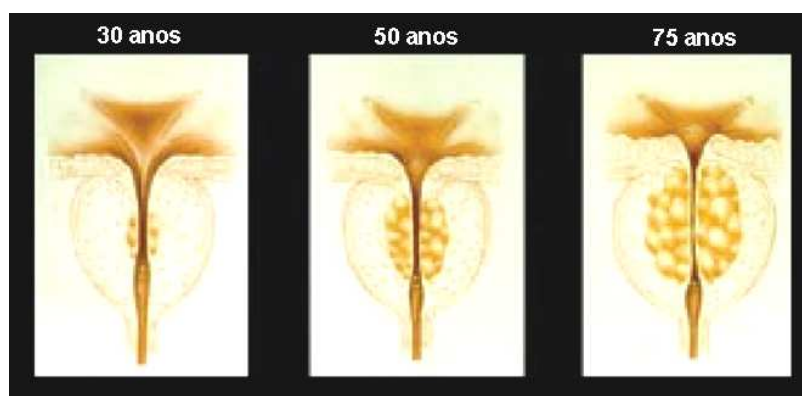


Figura 8: Crescimento celular da próstata ao longo dos anos (adaptado de MADERSBACHER & MARSZALEK, 2007).

Os principais objetivos da terapia da HPB são melhorar os STUI e aumentar a qualidade de vida. Outros objetivos incluem a diminuição da progressão da doença prevenindo complicações, como retenção urinária aguda, disfunção crônica renal, pedras nos rins, incontinência urinária e infecções urinárias recorrentes, e atrasando a necessidade de cirurgia (KIM *et al*, 2011). O tratamento será, então, determinado pela severidade dos sintomas apresentados pelo paciente que é determinada pelo IPSS. Pacientes com sintomas considerados médios ou sem sintomas incômodos podem não fazer o tratamento medicamentoso. Esta estratégia é chamada de “acompanhamento

vigiado” e pode ser realizada até com pacientes com sintomas moderados e severos, os quais sintam que sua qualidade de vida não é comprometida. Pacientes tratados com essa estratégia são aconselhados a diminuir a ingestão de fluidos (especialmente a noite) e a limitar a ingestão de cafeína e álcool. A abordagem terapêutica para pacientes que apresentam sintomas moderados e severos com o decréscimo da qualidade de vida inclui terapia medicamentosa, cirurgia e procedimentos minimamente invasivos (EDWARDS, 2008). A cirurgia pode ser uma opção para pacientes com sintomas severos, aqueles que não respondem a farmacoterapia, ou aqueles com complicações como insuficiência renal, retenção urinária aguda, pedras nos rins, hematúria ou infecções urinárias recorrentes (PAOLONE, 2010). O tratamento mais utilizado para HPB era a ressecção transuretral da próstata. Então, Caine, Perlberg e Meretyk (1978) reportaram pela primeira vez a terapia medicamentosa e, portanto, diversos fármacos efetivos têm sido desenvolvidos, e nos anos recentes, a farmacoterapia tem sido considerada a terapia tradicional na maioria dos pacientes.

As opções de farmacoterapia para o tratamento de HPB incluem antagonistas α -1 adrenérgicos, inibidores da 5α -redutase, anticolinérgicos e fitoterapia. Terapias emergentes para HPB incluem inibidores da fosfodiesterase tipo 5, aplicação da toxina botulínica intraprostática e antagonistas do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH – *Gonadotropin-releasing hormone*) (MILLER & MILLER, 2011). As opções mais utilizadas são os antagonistas α -1 adrenérgicos e os inibidores da 5α -redutase. Os STUI podem ser causados pelo aumento do tônus do músculo liso no colo da bexiga e na uretra prostática e/ou o aumento do tamanho da próstata resulta no bloqueio da saída da bexiga. Bloqueadores α -adrenérgicos relaxam o músculo liso durante a micção e aumentam efetivamente o tamanho do lúmen prostático facilitando a micção. Os bloqueadores α -adrenérgicos tendem a atuar rapidamente, geralmente dentro de poucos dias. Já os inibidores da 5α -redutase diminuem o tecido hiperplásico da próstata através do bloqueio da conversão da testosterona em DHT, o andrógeno mais importante da próstata. Essa diminuição do tecido reduz então a obstrução da bexiga. Os inibidores da 5α -redutase atuam mais lentamente que os antagonistas α -adrenérgicos e podem levar de 6-12 meses para aliviar os sintomas urinários (SAUSVILLE & NASLUND, 2010). Estudos mostraram que os antagonistas α -

adrenérgicos não alteram o risco de retenção urinária aguda ou a necessidade de cirurgia, porém os inibidores da 5 α -redutase diminuem significativamente o risco dessas duas complicações em homens com glândulas aumentadas (MCCONNELL *et al*, 1998). Além disso, os antagonistas α -adrenérgicos possuem alguns efeitos adversos como hipotensão postural com fármacos menos seletivos como a terazosina e a doxazosina (DOX). Este problema pode ser devido a um aumento lento da dosagem e administração ao deitar. O aparecimento de tontura, ao invés da hipotensão, também é comumente relatado com o uso de antagonistas α -adrenérgicos mais seletivos como a tansulosina e a alfuzosina (AUFFENBERG, HELFAND & MCVARY, 2009).

HPB é composta por um componente dinâmico, tratado por antagonistas α -adrenérgicos, e um componente estático, tratado por inibidores da 5 α -redutase, então a terapia combinada com as duas classes medicamentosas parece ser vantajosa. Desde que Glassman e colaboradores (2001) sugeriram pela primeira vez que a combinação de terazosina e finasterida (FIN) poderia aumentar o efeito terapêutico no tratamento de HPB através da observação que, comparando com a monoterapia de terazosina, a terapia combinada aumentou significativamente o índice de apoptose das células prostáticas, esta terapia combinada vem sendo amplamente empregada.

Um estudo realizado pelo *Medical Therapy of Prostatic Symptoms* - MTOPS foi o primeiro a avaliar o impacto do tratamento na progressão clínica da HPB e o risco de complicações. Neste estudo randomizado, 3040 homens receberam placebo, DOX, FIN ou a terapia combinada. Pacientes foram acompanhados por quatro anos e meio e todos os grupos de tratamento demonstraram uma redução significativa no risco de progressão clínica da doença, com um benefício maior observado no grupo tratado com a terapia combinada. A combinação de fármacos também melhorou a pontuação dos sintomas do IPSS e o Q_{máx}. Além disso, os riscos de progressão a retenção urinária aguda e a necessidade de cirurgia foram reduzidos com o tratamento da monoterapia de FIN e da terapia combinada (MCCONNELL *et al*, 2003).

1.4.1. Doxazosina

Os antagonistas α -adrenérgicos atuam no relaxamento do tônus e resistência do músculo liso no colo da bexiga e da próstata. A porção estromal da próstata contém altos níveis de receptores α_1 e α_2 . A ativação dos receptores α_1 leva a um aumento do tônus do músculo liso, constrição uretral e decréscimo do fluxo urinário (AUFFENBERG, HELFAND & MCVARY, 2009).

Os antagonistas do receptor α são divididos em gerações e atualmente existem 3 gerações. A fenoxibenzamina foi o primeiro antagonista do receptor a ser usado no tratamento dos sintomas da HPB. Esse fármaco bloqueia tanto os receptores α_1 quanto α_2 , e embora seja eficaz para os sintomas da HPB, apresenta diversos efeitos colaterais (DOUGLASS & LIN, 2005). A segunda geração de antagonistas α_1 inclui a prazosina, terazosina e DOX que atuam nos três subtipos presentes do receptor α_1 e não são considerados uroseletivos. A prazosina não é aprovada pelo FDA para o tratamento da HPB, pois necessita de doses muito frequentes (SHERMAN, 2003). A principal vantagem dos fármacos de segunda geração é o perfil reduzido de efeitos colaterais, no entanto, eles podem causar hipotensão. Para evitar esses efeitos colaterais, o tratamento com fármacos que não são uroseletivos deve ser iniciado com doses baixas e lentamente aumentadas durante semanas até que a dose ótima seja alcançada (DOUGLASS & LIN, 2005). A DOX foi associada com 80% dos riscos de insuficiência cardíaca em homens com hipertensão e outros fatores cardíacos quando usado como monoterapia para hipertensão, e, portanto, não é recomendada sua monoterapia para o tratamento de hipertensão e HPB (SHERMAN, 2003). Tamsulosina e silodosina são antagonistas do receptor α_1 de terceira geração e são considerados uroseletivos já que se concentram na próstata e têm como alvo os subtipos do receptor α_1 (SCHILIT & BENZEROUAL, 2009). Os agentes de terceira geração são associados com menores efeitos colaterais cardiovasculares que os de segunda geração e podem ser coadministrados com anti-hipertensivos (AUFFENBERG, HELFAND & MCVARY, 2009).

O mesilato de doxazosina (DM) é um derivado da quinazolina e quimicamente denominado monometanossulfonato de 1-(4-amino-6,7-dimetil-2-quinazolinil)-4-(2,3-

diifro-1,4-benzodioxin-2-il)carbonil piperazina (Figura 9). Diferentes formas cristalinas da DM já foram descritas e é importante conhecê-las já que diferentes formas polimórficas apresentam diferentes propriedades biofarmacêuticas e de estabilidade. Os resultados dos estudos dos parâmetros físico-químicos de diferentes formas polimórficas possibilitam a previsão e a explicação de diferentes comportamentos da substância durante o processamento tecnológico (GRČMAN, VREČER & MEDEN, 2002).

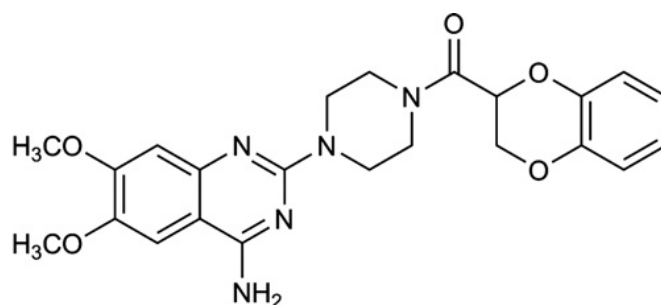


Figura 9: Estrutura química da doxazosina (adaptado de ERCEG *et al*, 2012).

A DOX é uma substância altamente permeável e pouco solúvel, sendo assim pertence à classe biofarmacêutica II e apresenta o pK_a de 6,93 a 25 °C. A formação de sais é uma estratégia bastante usada para modificar e otimizar propriedades físico-químicas de compostos ionizáveis, incluindo solubilidade e dissolução, higroscopia, estabilidade, perfil de impurezas e hábito cristalino (ERCEG *et al*, 2012).

O esquema terapêutico de uma dose diária seria o mais conveniente para os pacientes do que a dosagem de duas ou três vezes ao dia requerido no tratamento com prazosina, levando a uma maior adesão do paciente ao tratamento, principalmente se tratando de uma terapia em longo prazo (GUTHRIE, 1997).

A terapia com DOX é iniciada com 1 mg uma vez ao dia, e baseada na resposta, a dose é aumentada gradativamente no intervalo de 1 a 2 semanas até 2 mg, 4 mg ou 8 mg. A dose máxima recomendada para o tratamento de HPB é 8 mg. Enquanto que para o tratamento de hipertensão, alguns pacientes podem precisar de um aumento adicional até a dosagem final diária de 16 mg (PENENBERG *et al*, 2000). Estudos farmacocinéticos mostram que, seguida da administração oral, a DOX é rapidamente bem absorvida, os picos plasmáticos são alcançados dentro de 2 ou 3 horas, e a

farmacocinética da DOX é linear na faixa de dosagem recomendada de 1 a 16 mg por dia (KAYE, CUSSANS & FAULKNER, 1986). DOX sofre uma biotransformação extensiva em humanos, sendo principalmente por vias que envolvem a demetilação e a hidroxilação no fígado. A biodisponibilidade oral da DOX varia de 63 a 69%. Apresenta uma meia vida de longa eliminação (aproximadamente 22 horas) devido à baixa depuração plasmática em associação com um volume de distribuição moderados e uma alta ligação com proteínas plasmáticas (98%) (VINCENT, HAMILTON & REID, 1986). A administração com alimentos não apresenta efeitos significantes sobre a farmacocinética. Além disso, a farmacocinética, a eficácia e a tolerância da DOX são similares quando é feita a administração pela manhã ou pela noite (GUTHRIE, 1997). Estas características fazem da DOX um modelo ideal para o desenvolvimento de um sistema transdérmico de liberação de fármacos, mesmo considerando-se a existência de fármacos mais seletivos como a tansulosina.

Portanto, a DOX, diante das suas características terapêuticas e fisico-químicas, é um importante fármaco candidato ao desenvolvimento de formulações de liberação transdérmica como descrito por Do Carmo (2011). Estudo que avaliou a permeação transdérmica da DOX utilizando formulações de microemulsões, *patches* e géis de HPC, observando que a DOX apresentou fluxos de permeação da formulação de gel era semelhante ao já descrito para *patches* de prazosina, um análogo estrutural da mesma, confirmando o potencial das formulações para o uso transdérmico do fármaco. Porém, não existem relatos em literatura da tentativa de preparação de complexos de inclusão de DOX e CD, aumentando o interesse na sua caracterização e aplicação.

1.4.2. Finasterida

Os inibidores da 5 α -redutase, (FIN) e dutosterida, tratam o componente estático da HPB bloqueando a conversão da testosterona em DHT na próstata. Andrógenos, primeiramente o DHT, são responsáveis pelo crescimento e desenvolvimento normal da próstata, no entanto, andrógenos podem também causar o crescimento exacerbado do tecido prostático levando a HPB. Os inibidores da 5 α -redutase reduzem o volume da

próstata (AUFFENBERG, HELFAND & MCVARY, 2009). A 5α -redutase tipo I é presente, principalmente no meio exterior à próstata, como no fígado e na pele, enquanto o tipo II é encontrado na próstata, vesículas seminais, epidídimo e fígado. As 5α -redutases tipo II produzem aproximadamente 60% do DHT circulante (DOUGLASS & LIN, 2005). A FIN inibe a 5α -redutase tipo II, enquanto a dutosterida inibe ambas as isoenzimas. Esses fármacos são mais efetivos em homens com o volume da próstata maior que 40 cm^3 e a melhoria dos sintomas é observada pelo menos após 6 meses do início da terapia (SCHILIT & BENZEROUAL, 2009). Os efeitos adversos durante o primeiro ano de tratamento com FIN não são comuns e incluem disfunção erétil, decréscimo da libido e disfunção ejaculatória. Uma revisão de 19 estudos controlados e randomizados mostraram que a FIN melhorou consistentemente os sintomas, $Q_{\text{máx}}$ e volume da próstata (PATEL & CHAPPLE, 2006).

A FIN é uma molécula esteroidal com a fórmula empírica de $\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_2$ e um peso molecular de 373 g/mol. É quimicamente conhecida como (1S, 2R, 7R, 10S, 11S, 14S, 15S)-N-terc-butil-2,15-dimetil-5-oxo-6-azatetraciclo-heptadec-3-ene-14-carboxamida como mostrado na Figura 10. A molécula é solúvel em solventes orgânicos polares como etanol, metanol, DMSO e clorofórmio, assim como em soluções aquosas ácidas e básicas. O sítio ativo da 5α -redutase interage com a lactama do anel A na estrutura do esteróide. A FIN não se liga significativamente ao receptor androgênico nem apresenta atividade anti-androgênica, estrogênica ou progesterona (GORMLEY, 1995). É praticamente insolúvel em água e pertence a classe biofarmacêutica II, apresentando baixa solubilidade e alta permeabilidade. É rapidamente absorvida no trato gastrointestinal com um pico de concentração plasmática de 38 ng/mL atingido dentro de duas horas. O metabolismo da FIN ocorre predominantemente no fígado levando à formação de metabólitos oxidados que são inativos e são eliminados principalmente na bile (60-80%). A meia vida da FIN, independentemente da dose, é de 4,7 a 7,1 horas. No entanto, a supressão de DHT sérico ocorre apenas depois de 48 a 72 horas com uma dose única diária, porém os níveis de DHT não chegam a zero devido à produção residual da enzima 5α -redutase tipo I (GORMLEY *et al*, 1990).

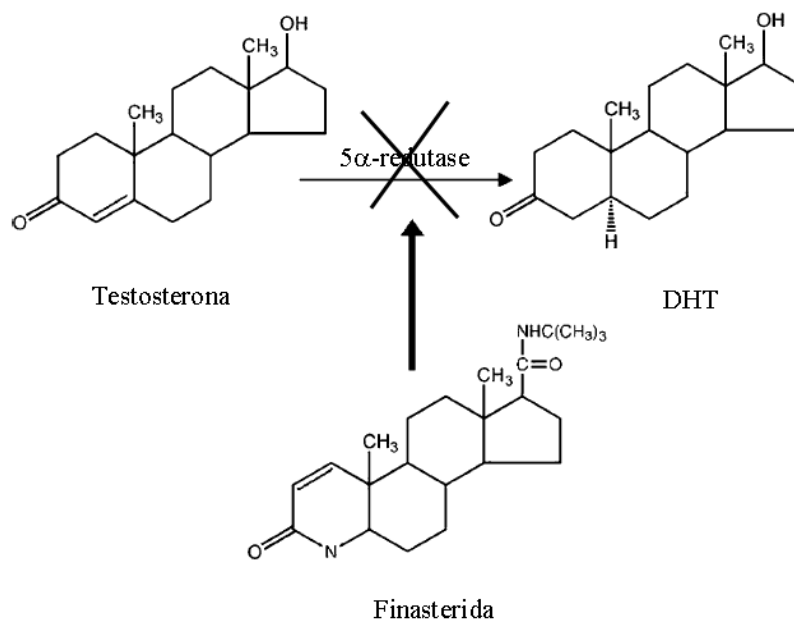


Figura 10: Estrutura química e mecanismo de ação da finasterida (Adaptado de RAO *et al*, 2008).

O objetivo do tratamento com a FIN é reduzir o volume da próstata, aumentar a taxa do fluxo urinário, melhorar os sintomas e prevenir a progressão da doença. A eficácia da FIN sobre os níveis de DHT é monitorada de acordo com os níveis de PSA (*Prostate-specific antigen*), volume da próstata, $Q_{\text{máx}}$ e escala de sintomas (IPSS) (GORMLEY, 1995). O desenvolvimento da HPB é claramente ligado a presença de androgênios circulantes.

Eunucos e homens castrados antes da puberdade possuem a glândula prostática atrofiada (BOSCH *et al*, 1989). Tumores de próstata morfológicamente idênticos podem progredir em taxas muito diferentes, e pacientes na mesma categoria de risco de apresentar o câncer podem responder de maneira diferente ao mesmo tratamento. Essas diferenças são devidas em parte à heterogeneidade biológica do câncer de próstata. Alguns tumores de baixo risco permanecem inativos por mais de uma década, ao passo que outros rapidamente se tornam mortais. A caracterização precisa do potencial biológico do tumor é necessária para personalizar o tratamento do câncer na próstata (LI & KIM, 2009).

Alguns relatos em literatura demonstram o desenvolvimento de formulações transdérmicas de FIN como carreadores lipídicos (RAO *et al*, 2008) e avaliação da ação

de promotores de permeação como Transcutol P, lauril sulfato de sódio e brometo de cetiltrimetil amônio (JAVADZADEH *et al*, 2010). Além disso, já foi descrita a preparação e caracterização de complexos de inclusão de FIN em HP- β -CD, observando um aumento na solubilidade aquosa da mesma (ASBAHR *et al*, 2009).

2. Justificativa

Os complexos de ciclodextrina apresentam diversas vantagens na otimização de fármacos e têm sido utilizado amplamente no aumento da solubilidade aquosa de fármacos pouco solúveis. Porém, diversas outras aplicações já foram descritas e pouco estudadas para os mesmos, como mascaramento de sabor, redução da volatilidade, aumento da estabilidade e atuação como promotores de permeação. Portanto, o estudo mais aprofundado dessas aplicações para diferentes tipos de fármacos se torna de extrema importância científica.

A CLOR é um fármaco amplamente utilizado na terapia de doenças periodontais, porém demonstra problemas como alteração na percepção do sabor, incompatibilidade com excipientes aniônicos e baixa estabilidade físico-química. Sendo assim, a preparação e caracterização dos complexos de inclusão da CLOR e CD visam a avaliação da aplicação dos complexos de inclusão na otimização dessas desvantagens.

A HPB é uma doença progressiva e os seus sintomas influenciam na qualidade de vida dos pacientes que, atualmente, fazem o tratamento longo e dispendioso por via oral levando a diversos efeitos colaterais relacionados a essa via de administração. Sendo assim, a terapia combinada por via transdérmica de fármacos do tipo antagonista α -adrenérgicos e inibidores da 5 α -redutase levaria redução dos riscos de câncer prostático e diminuição dos efeitos colaterais, o que aumenta a importância da avaliação do complexo de inclusão de CD como promotor de permeação de fármacos como FIN e DOX.

3. Objetivos

3.1. Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho consistiu no desenvolvimento e avaliação de sistemas nanoestruturados à base de ciclodextrinas em formulações de enxaguatório bucal contendo gluconato de clorexidina e na promoção de permeação transdérmica de doxazosina base e finasterida em formulações de gel transdérmico.

3.2. Objetivos Específicos

Avaliação da influência do uso de complexos de inclusão no aumento da estabilidade de formulações de enxaguatório bucal contendo gluconato de clorexidina:

- Preparar e caracterizar os complexos de clorexidina com α -, β -, γ -, metil- β e hidroxipropil- β -ciclodextrina;
- Preparar formulações de enxaguatório bucal contendo os complexos de clorexidina e ciclodextrinas;
- Avaliar a atividade bactericida/fungicida dos complexos utilizando o método de halo de inibição;
- Avaliar a estabilidade acelerada das formulações.

Desenvolvimento de formulações transdérmicas de gel contendo doxazosina base e finasterida, avaliando a influência do uso de complexos de inclusão em CD e outros promotores de permeação na permeabilidade cutânea:

- Preparar e caracterizar a doxazosina base a partir de doxazosina mesilato;
- Preparar e caracterizar os complexos de doxazosina base e finasterida com HP- β -ciclodextrinas;
- Avaliar a permeação *ex vivo* em pele de orelha de porco da doxazosina base e finasterida na presença de diferentes promotores de permeação;

- Avaliar a influência da concentração do promotor de permeação na permeação *ex vivo* em pele de orelha de porco de doxazosina base e finasterida;
- Avaliar a influência do agente geleificante na permeação *ex vivo* em pele de orelha de porco de doxazosina base e finasterida.

4. Material e Métodos

4.1. 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:

- Balança analítica - Mettler Toledo AG 204
- Câmara Climática – Nova Ética
- Calorímetro de varredura diferencial – Shimadzu DSC-60
- Células de difusão vertical do tipo Franz - DISA
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência – Perkin Elmer Isocratic LC 250
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência – Shimadzu modelo LC
- Detector espectrofotométrico UV/Vis – Perkin Elmer 785 A
- Difractômetro - Rigaku Miniflex
- DSC - Mettler Toledo
- Espectrofotômetro FT-IR - Perkin Elmer
- Estufa – Heraeus Function Line
- Garras para Célula de Franz – Pyrex
- Liofilizador - Liotop
- Pipeta ajustável- Eppendorf
- Placa aquecedora com agitação - Corning PC 230
- Potenciômetro - Quimis

- Software Statistica® 7.1 – STATSOFT, Inc (2005)
- Vidraria – Pyrex

MATÉRIAS-PRIMAS E REAGENTES:

- Ácido láurico – Sigma Aldrich
- Ácido perclórico 70% – Sigma Aldrich
- α -Ciclodextrina – Sigma Aldrich
- β -Ciclodextrina – Sigma Aldrich
- γ -Ciclodextrina – Sigma Aldrich
- 2-Hidroxiopropil- β -ciclodextrina – Sigma Aldrich
- Metil- β -ciclodextrina – Sigma Aldrich
- Cloreto de sódio P.A. – Spectrum
- Doxazosina Mesilato – NOSCH Laboratories
- Fosfato de potássio dibásico P.A. – Vetec
- Fosfato de sódio hidratado P.A. – Vetec
- Gluconato de Clorexidina – Henrifarma produtos químicos e farmacêuticos
- 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
- Propilenoglicol – Basf
- BHI – Sigma Aldrich
- Trietanolamina – Sigma Aldrich
- Azona – Sinopharm Chemical Reagent
- Poloxamer 407 – Basf
- Periogard® – Colgate®

- Polissorbato 20 - Vetec
- Sorbitol – Sigma Aldrich
- Finasterida – DEG

4.2. Avaliação da influência do uso de complexos de inclusão no aumento da estabilidade de formulações de enxaguatório bucal contendo gluconato de clorexidina

4.2.1. Preparação dos Complexos de Inclusão de Ciclodextrina

4.2.1.1. Método de Solução

O método de solução consiste na adição da solução aquosa de CLOR 20% p/v e as CD nas proporções molares de 1:1, 1:2, 1:3 e 1:4 em 20 mL de água destilada, sob agitação magnética constante por 72 horas. Então, as amostras foram liofilizadas, a granulometria foi ajustada utilizando-se tamis malha 40 e foram realizadas as análises de caracterização descritas no item 4.2.2. (Figura 11).

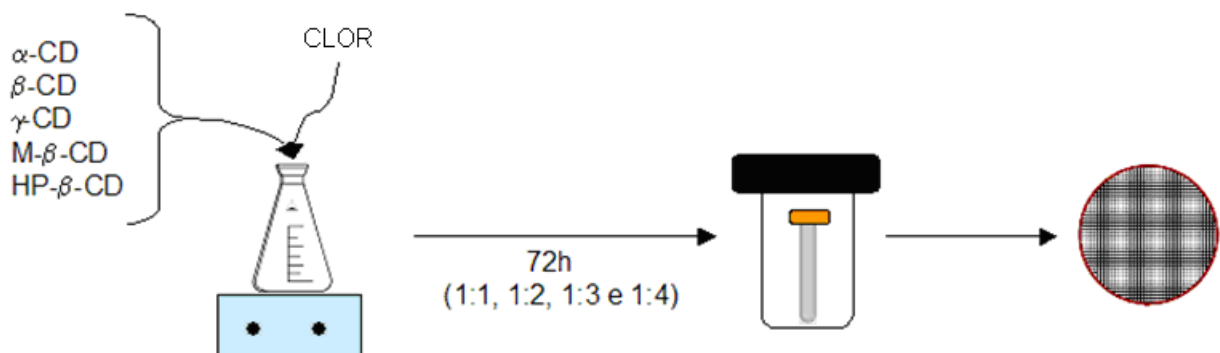


Figura 11: Esquema do método de solução da preparação dos complexos de inclusão.

4.2.1.2. Método de Empastamento

Em um gral de porcelana, foram misturados por 5,0 minutos com auxílio de um pistilo, as proporções molares de 1:1, 1:2, 1:3 e 1:4 de CD e o volume de solução 20% p/v de CLOR ou a massa de FIN, foi adicionada a esta mistura uma solução etanol/água 70/30 v/v até a formação de uma pasta, e homogeneizou-se por 30 minutos ininterruptos. A pasta foi então seca em dessecador a vácuo. Ao fim, se ajustou a granulometria em tamis malha 40 e realizaram-se as análises de caracterização descritas no item 4.2.2. (Figura 12).

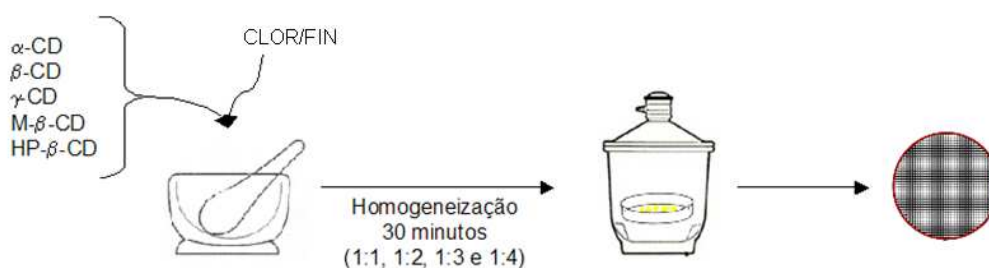


Figura 12: Esquema do método de empastamento da preparação dos complexos de inclusão.

4.2.1.3. Mistura Física

Baseia-se na mistura mecânica dos componentes puros, tanto a CLOR liofilizada quanto todos os tipos de CD, sem a adição de nenhum tipo de solvente, apenas para fim de comparação com os outros métodos.

4.2.2. Caracterização dos Complexos de Inclusão em CD

4.2.2.1. Difração de raios-X

Foram realizadas análises de difração de raios X em um difratômetro Rigaku Miniflex BD11197, a 40KV e 30 mA. A faixa de ângulo 2θ utilizada foi de 2° a 20° . Foram obtidos os perfis de difração das substâncias puras, dos complexos e das misturas físicas.

4.2.2.2. Espectroscopia de Infravermelho

Foram realizadas análises de infravermelho em um espectrofotômetro IR Prestige-21 Shimadzu A210045. A faixa de número de onda empregada foi de 4000 à 400 cm^{-1} utilizando pastilhas de KBr 2% p/p. Foram obtidos espectros das substâncias puras, dos complexos e das misturas físicas.

4.2.2.3. Análise de Calorimetria Diferencial de Varredura

O teste de calorimetria diferencial exploratória foi realizado, na faixa de 25 °C a 300 °C, com as amostras de gluconato de clorexidina e as β -, M- β - e HP- β -ciclodextrinas puras, as misturas físicas e os complexos obtidos por empastamento na proporção molar 1:1. O teste foi realizado em um DSC 822^e Mettler Toledo, em panelas de alumínio hermeticamente seladas, sob fluxo de nitrogênio de 28 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e taxa de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

4.2.3. Determinação da Atividade Bactericida/Fungicida dos Complexos

Para avaliar a atividade bactericida/fungicida dos complexos foi realizado o teste de halo de inibição. Foram então utilizadas as cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC25175) e *Candida albicans* (ATCC36901) cultivados a 37 °C por 24 horas. Em placas de Petri contendo meio de cultura sólido BHI (*Brain Heart Infusion*) foram semeados uniformemente, em toda a superfície, inóculos contendo 10^6 células/ml das cepas acima. Após secagem da superfície, 10 μl de cada solução de gluconato de clorexidina 0,12% e dos complexos de β -, M- β - e HP- β -ciclodextrina obtidos por empastamento na proporção 1:1 (previamente esterilizadas por filtração em membranas estéreis de Millipore de 0,22 μm) foram colocados sobre a superfície do meio de cultura com o microrganismo. Durante a incubação por 24 e 48 horas a 37 °C, as soluções difundem-se para o meio de cultura podendo alterar o crescimento microbiano. As placas contendo *S. mutans* foram mantidas em anaerobiose durante todo o período de incubação. As análises foram realizadas em triplicata.

O efeito inibitório sobre o crescimento microbiano foi verificado a partir da presença de zonas de inibição (zonas claras) na área onde foram depositadas. O tamanho de cada zona de inibição foi medido (mm) para posterior análise e comparação.

4.2.4. Ensaio de Quantificação do Gluconato de Clorexidina

Para realizar as análises de teor das formulações foi proposto um método, de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) utilizando um cromatógrafo Shimadzu modelo LC e detector UV/Vis, desenvolvido e validado por Silva (2009) utilizando-se os parâmetros descritos na Tabela 1.

Tabela 1: Parâmetros utilizados na análise de teor de Gluconato de Clorexidina por CLAE.

Parâmetros	
Coluna cromatográfica	C18 (4,6 mmX25 cm DI; 5 µm)
Fluxo	0,8 mL min ⁻¹
Fase móvel	Metanol:Água:Trietilamina 63:37:0,4 (v/v) pH 3,5
Temperatura	Ambiente
Volume de injeção	20 µL
Tempo de corrida	15 minutos
λ	240 nm

4.2.5. Desenvolvimento de Formulações de Enxaguatório Bucal para o Tratamento de Doenças Periodontais

As formulações de enxaguatórios bucais foram desenvolvidas a partir da formulação base contendo o fármaco e excipientes usados geralmente nesse tipo de formulações, como aromatizantes, conservantes, tensoativo, edulcorante e o veículo.

4.2.6. Estudo de Estabilidade das Formulações de Enxaguatório Bucal

Os testes de estabilidade foram conduzidos conforme descrito na ANVISA RE 01/2005, que descreve o guia para a realização de estudos de estabilidade de produtos farmacêuticos. As formulações, descritas na Tabela 2, foram acondicionadas em uma câmara climática com temperatura, de 45 ± 2 °C, e umidade relativa, de $75 \pm 5\%$, controladas. A embalagem utilizada foi frasco de polietileno branco de 100 mL. Os testes de qualidade realizados nas formulações foram pH e teor de CLOR, pelo método de CLAE descrito no item 4.2.4. As amostras foram testadas no tempo zero, ou seja, logo após sua produção e no 3^o e 6^o mês após o início do estudo.

Tabela 2: Descrição das formulações de enxaguatórios bucais submetidas aos testes de estabilidade.

Formulação	Ativo
Formulação 01	Gluconato de clorexidina 0,12%
Formulação 02	Complexo clorexidina: β -ciclodextrina (1:1) – Empastamento
Formulação 03	Complexo clorexidina:M- β -ciclodextrina (1:1) – Empastamento
Formulação 04	Complexo clorexidina:HP- β -ciclodextrina (1:1) – Empastamento

4.3. Desenvolvimento e avaliação de formulações transdérmicas de gel contendo doxazosina base e finasterida da influência do uso de complexos de inclusão e outros promotores de permeação na permeabilidade cutânea

4.3.1. Preparação e Caracterização da Doxazosina Base

Uma suspensão de DM em água foi obtida sob agitação. Hidróxido de sódio 10% p/v foi adicionado à suspensão até basificação do meio e precipitação do fármaco na sua forma base. A doxazosina base (DB) foi filtrada sob vácuo e seca em dissecador. Após secagem o fármaco, sua granulometria foi ajustada utilizando tamis malha 40.

Foram realizadas análises de difração de raios X em um difratômetro Rigaku Miniflex BD11197 a 40KV e 30 mA. A faixa de ângulo 2θ utilizada foi de 2° a 20° . Foi obtido o perfil de difração da DM a fim de determinar o tipo de polimorfo utilizado.

O teste de calorimetria diferencial exploratória foi realizado, na faixa de 25°C à 400°C . Foram obtidos os perfis térmicos da DM e da DB obtida pelo método descrito acima. O teste foi realizado em painéis de alumínio hermeticamente seladas, sob fluxo de nitrogênio de $28\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

4.3.2. Ensaios de Quantificação da Doxazosina Base e Finasterida

DB e FIN foram quantificadas por CLAE usando o método descrito por Kim e colaboradores (2006) como referência. Um instrumento PerkinElmer com detector UV/Vis usando uma coluna Hypersil BDS C18 (150 mm x 4,6mm; $5\mu\text{m}$) obtida da Altech, a 40°C . Uma solução aquosa composta de Heptano sulfonato de sódio (1,8 mM) e ácido perclórico (10 mM) e metanol (40:60 v/v) a um fluxo de $0,8\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ foi usada como fase móvel em condições isocráticas. A fase móvel foi monitorada a 250 nm. Nestas condições os tempos de retenção foram de cerca de 5 minutos para DB e cerca de 14 minutos para FIN e o tempo de corrida foi de 18 minutos.

Os parâmetros analíticos avaliados para a validação do método foram: seletividade, linearidade e precisão, segundo descrito na RE 899/2003 da ANVISA

(Brasil). A seletividade do método foi testada avaliando a injeção de soluções padrão de DB, FIN e do branco da pele para garantir que não houvesse interferência entre os picos e nem de nenhum componente da pele na quantificação dos ativos. A linearidade foi testada construindo-se a curva das concentrações de 5 a 40 µg/mL de DB e FIN. As curvas foram obtidas em triplicata. O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) foram determinados a partir das curvas de linearidade de ambos os fármacos como $3s/ic$ e $10s/ic$, respectivamente, onde (s) é o desvio padrão entre os valores de intercepto com o eixo y das três curvas e (ic) é a inclinação da reta. A precisão foi avaliada através do desvio padrão obtido na análise de 6 amostras com a mesma concentração.

4.3.3. Diagrama de Fases

Os diagramas de fases dos complexos de HP-β-CD com DB e FIN foram inicialmente realizados com uma quantidade em excesso dos fármacos adicionadas a soluções aquosas contendo concentrações crescentes de HP-β-CD de 0 a 5 mmolL⁻¹. As suspensões foram equilibradas à temperatura ambiente sob agitação magnética por 72 horas. Foram então filtradas (membrana com tamanho de poro de 0,45 µm) e analisadas pelo método de CLAE descrito no item 4.3.2.

Foram construídos os gráficos de concentração de CD *versus* a absorbância dos fármacos. As constantes de estabilidade aparentes (K_c) dos complexos obtidos foram calculadas através do coeficiente angular dos diagramas de solubilidade e da solubilidade dos fármacos em água (S_0), onde $K_c = \text{coeficiente angular}/S_0(1 - \text{coeficiente angular})$ (HIGUCHI & CONNORS, 1965).

4.3.4. Teste de Solubilidade

A solubilidade da DB e da FIN foi testada em diversos meios a fim de determinar tanto o meio receptor do ensaio de permeabilidade, e assim, garantir as condições de saturação do meio, quanto para fins formulativos. Os meios receptores testados foram água, PBS (pH 7,4), solução de HP-β-CD (2,5% p/v) em tampão PBS (*Phosphate Buffered Saline*). Enquanto que as misturas de excipientes utilizados para determinar a

solubilidade das diversas formulações foram uma mistura de propilenoglicol (PPG) e Azona® (3% p/p), uma mistura de PPG e ácido láurico (5% p/p), além da solubilidade do complexo de FIN:HP-β-CD (1:1) na mistura de PPG e Azona® (3% p/p). Um excesso dos fármacos foi adicionado em cada um dos solventes descritos e deixados sob agitação por 24 horas. Em seguida, as suspensões foram filtradas em filtros de celulose regenerada de 0,45 μm. Os fármacos foram quantificados nas soluções finais obtidas utilizando o método analítico descrito no 4.3.2.

4.3.5. Ensaio de Permeação *ex vivo*

Os experimentos de permeação *ex vivo* foram realizados utilizando células de difusão do tipo Franz através de pele de orelha de porco. A pele foi extraída da parte externa de orelhas de porco obtidas de um matadouro localizado em Parma, Itália. Os pêlos foram cortados e a pele foi imersa em água a 60 °C por 2 minutos. A epiderme foi separada da derme usando uma espátula. Quando não usada imediatamente, a pele foi mantida em refrigerador (2-5 °C) por até 3 dias, conforme descrito por Do Carmo (2011). A área disponível para a permeação foi de 0,6 cm² e o volume do compartimento receptor contendo a solução receptora (HP-β-CD 2,5% p/v em PBS pH 7,4) a 37°C, foi de aproximadamente 4 mL. O regime de dose infinita foi utilizado em todos os experimentos, realizados em triplicata para cada formulação. Alíquotas de 300 μL foram retiradas do compartimento receptor em intervalos de tempos específicos (0,1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 22, 23 e 24 horas) e imediatamente repostas com o mesmo volume de solução receptora aquecida a 37°C. Os parâmetros da permeação foram calculados a partir do gráfico obtido da quantidade permeada acumulada versus o tempo. O fluxo (J) foi calculado a partir do coeficiente angular da porção linear da curva, enquanto o *lagtime* foi obtido da extrapolação da porção linear até o eixo do tempo. Além disso, o coeficiente de permeação (P) foi calculado pela divisão do valor do fluxo pela concentração de fármacos na formulação (MOSER *et al*, 2001).

4.3.5.1. Efeito de Diferentes Promotores de Permeação

O efeito de diferentes promotores de permeação foi igualmente avaliado. Para isso soluções saturadas de PPG de ambos os fármacos contendo Azona® 3% (p/p), ácido láurico 5% (p/p) e complexos de HP-β-CD:FIN 1:1 (p/p) foram preparadas e testadas.

4.3.5.2. Efeito da concentração de Azona®

O efeito da concentração de Azona® na permeação de ambos os fármacos foi avaliado. Portanto, soluções saturadas de ambos os fármacos contendo PPG e 0, 1, 3 e 5% (p/p) de Azona® foram preparadas e a permeação foi avaliada em triplicata utilizando o método descrito no item 3.3.5.

4.3.5.3. Efeito do Agente Geleificante

Finalmente, foram preparados géis usando dois tipos de agente geleificante. Primeiro, o gel de HPC 10% (p/p) foi preparado por dispersão em uma solução saturada de ambos os fármacos contendo PPG e Azona® 3% (p/p) sob agitação magnética. Além disso, o gel de P407 foi obtido através da preparação de uma solução aquosa do polímero dissolvido sob refrigeração por 24 horas. Esta solução foi então adicionada na concentração de 60% (p/p) a uma solução saturada de ambos os fármacos contendo PPG e Azona® 3% (p/p) obtendo um gel espontaneamente à temperatura ambiente.

A viscosidade dos géis foi determinada utilizando um viscosómetro Brookfield modelo DV II acoplado a um Helipath Stand, o spindle B(92) a uma temperatura de 24 °C e uma velocidade de 3 rpm.

4.4. Análise Estatística

Foi realizada ANOVA (*Analysis of Variance*) de um fator para a comparação entre os fluxos encontrados e para se diferenciar estatisticamente as formulações.

5. Resultados e Discussão

5.1. Avaliação da influência do uso de complexos de inclusão no aumento da estabilidade de formulações de enxaguatório bucal contendo gluconato de clorexidina

5.1.1. Preparação dos Complexos de Inclusão de Ciclodextrina

Foram preparados os complexos de inclusão de CLOR e α -, β -, γ -, M- β - e HP- β -CD conforme descrito nos itens 4.2.1.1 e 4.2.1.2. A obtenção de um complexo de inclusão sólido após a solução de CLOR ser submetida aos métodos descritos é uma evidência de formação dos mesmos. Foi obtido um pó branco e amorfo quando preparados todos os complexos pelo método de empastamento. Porém, através do método de solução, os complexos de CLOR e α -CD (1:3 e 1:4), β -CD (1:4) e γ -CD (1:2, 1:3 e 1:4) após a liofilização se apresentaram como uma pasta úmida, o que evidencia a não formação do complexo de inclusão e, além disso, impossibilita a realização das análises de caracterização do mesmo.

5.1.1. Caracterização dos complexos

A caracterização dos complexos de inclusão foi realizada através de métodos físicos como difração de raios-x, espectroscopia de infravermelho e análise calorimétrica diferencial. Não foi possível avaliar o diagrama de fases de Higuchi (HIGUCHI & CONNORS, 1965) assim como sua constante de estabilidade, pois o gluconato de clorexidina é uma substância altamente solúvel em água, então foram caracterizadas diversas proporções molares a fim de determinar a mais indicada na obtenção das formulações finais.

5.1.1.1. Difração de Raios-X

Primeiramente, foram preparadas as amostras pelo método de empastamento utilizando a α -, β - e γ -CD nas diferentes proporções molares a fim de determinar quais seriam as condições que levassem a melhor eficiência na formação dos complexos de

inclusão. E, somente em seguida, foram preparadas as amostras utilizando o método de solução.

Os padrões de difração das amostras preparadas com α -CD estão demonstrados na Figura 13. Inicialmente obtiveram-se os resultados dos complexos formulados pelo método de empastamento em todas as concentrações molares, das misturas físicas e dos componentes puros. Não foi possível a obtenção dos padrões de difração dos complexos obtidos por solução nas proporções de 1:3 e 1:4, já que não foi possível a secagem dos mesmos por liofilização.

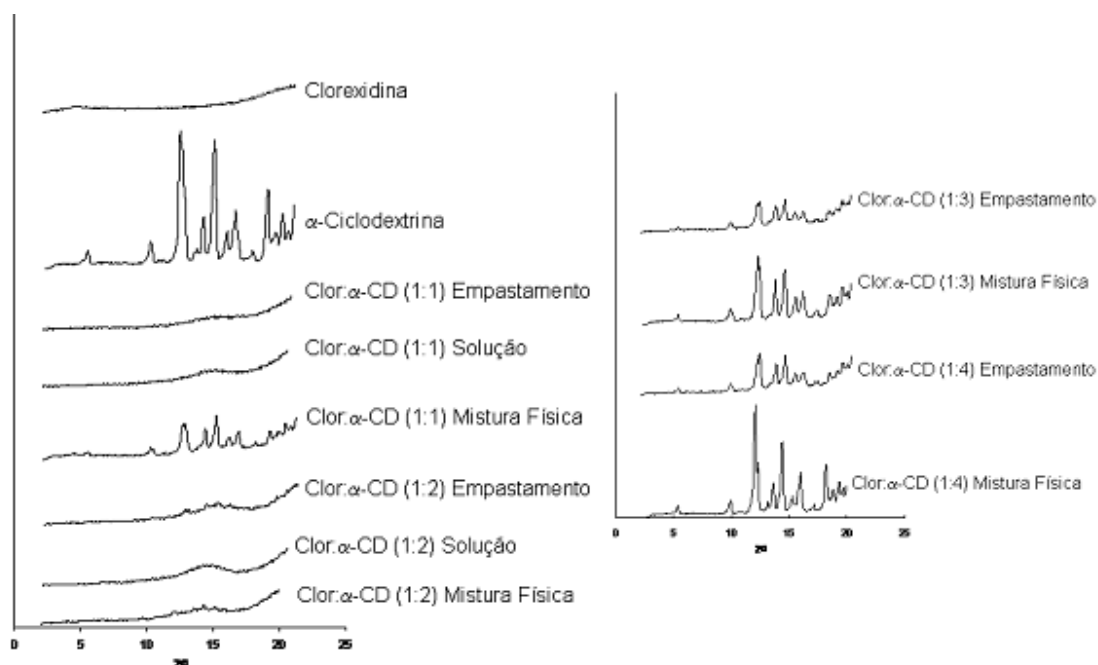


Figura 13: Padrões de difração das substâncias puras e dos complexos obtidos com α -CD nas diferentes proporções molares pelos métodos de solução e empastamento.

A α -CD mostrou um padrão de difração com picos bem definidos o que é uma característica de substância altamente cristalina. Estes picos e suas intensidades estão sintetizados na Tabela 3. A análise do padrão de difração da α -CD apresentou picos de maior intensidade em 2θ são os em $11,8^\circ$ e $14,3^\circ$, o que é similar com resultado já

descrito em literatura demonstrado na Figura 14, onde os picos mais proeminentes na faixa de 2θ de 2° a 20° , são os picos em $11,8^\circ$ e $14,2^\circ$ (SONG, TENG & YANG, 2006).

Tabela 3: Picos e intensidades presentes no padrão de difração da α -CD.

2θ	α -CD
5,25	646
9,75	914
<u>11,85</u>	<u>4776</u>
13,55	1706
<u>14,30</u>	<u>4500</u>
15,20	1245
15,80	2066
18,10	2750
19,20	1838

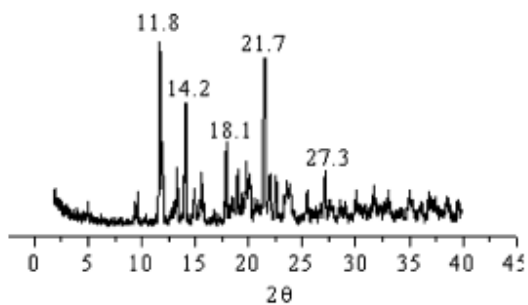


Figura 14: Padrão de difração referência da α -CD (SONG, TENG & YANG, 2006).

Por outro lado, a CLOR se mostrou com um perfil mais amorfo, provavelmente porque foram obtidos do liofilizado da solução 20% (p/v) de gluconato de clorexidina.

O resultado esperado é que haja a formação de um material mais amorfo devido a um fenômeno de desordem decorrente da inclusão, como o obtido por Cortés *et al* (2001), que fez a inclusão do cloridrato de CLOR e β -CD e obteve uma redução da cristalinidade após a obtenção do complexo de inclusão. Baseando-se nesse relato, observa-se que as proporções molares que geraram materiais mais amorfos que seus componentes puros e que as misturas físicas, após a complexação do CLOR com α -CD, foram 1:1 e 1:2. Onde houve reduções nas intensidades dos picos principais de 80-90%, demonstrando a redução da cristalinidade causada pela inclusão. Ao mesmo tempo em que as demais concentrações demonstraram uma redução de apenas 40-50%, similar ao efeito de diluição previsto na mistura física, da intensidade desses picos, não evidenciando claramente a formação dos complexos. O mesmo foi observado para as amostras preparadas pelo método de solução testadas (80-90% de redução na intensidade dos picos), demonstrando que não existe diferença evidente entre os métodos na preparação dos complexos CLOR: α -CD.

Os padrões de difração das amostras preparadas com β -CD estão demonstrados na Figura 15. Inicialmente obtiveram-se os resultados dos complexos formulados pelo método de empastamento nas concentrações molares de 1:1, 1:2, 1:3 e 1:4, das misturas físicas e dos componentes puros. Porém, não foi possível a obtenção do padrão de difração do complexo obtido por solução na proporção de 1:4, já que não foi possível a secagem do mesmo por liofilização. Assim como α -CD, a β -CD é uma substância altamente cristalina, tendo como picos principais de maior intensidade nos ângulos de 12,5° e 19,6°, como demonstrado na Tabela 4.

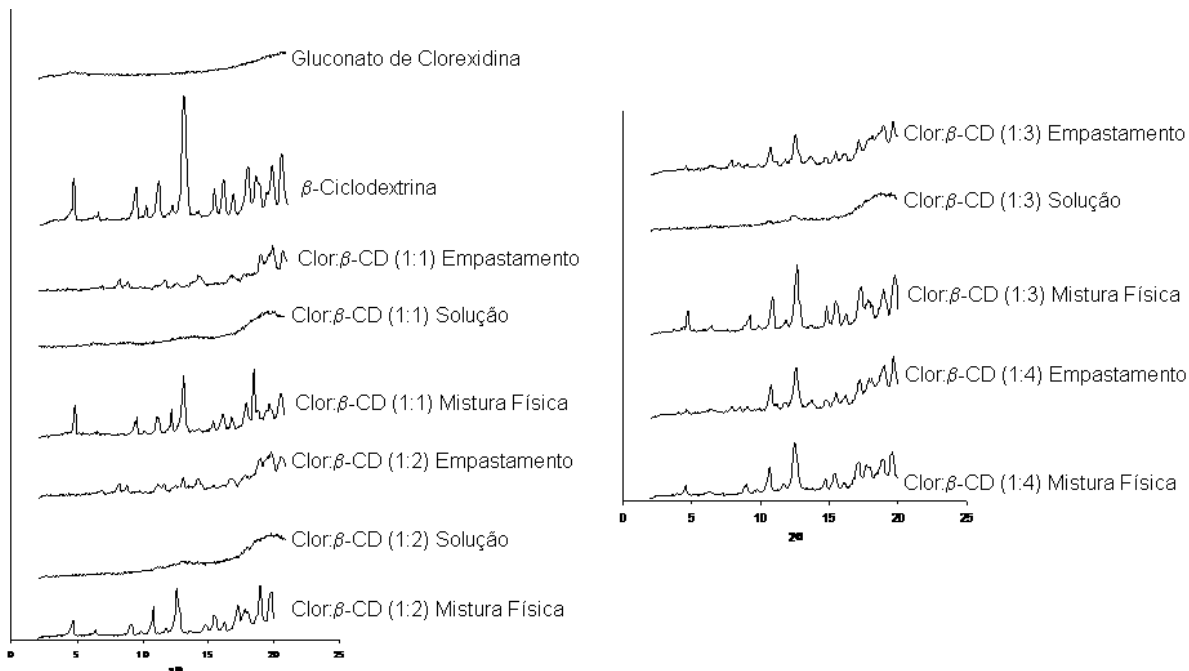


Figura 15: Padrões de difração das substâncias puras e dos complexos obtidos com β -CD nas diferentes proporções molares pelos métodos de solução e empastamento.

Tabela 4: Picos e intensidades presentes no padrão de difração da β -CD.

2θ	β-CD
4,55	1757
9,05	1423
10,70	1647
<u>12,50</u>	<u>4801</u>
14,75	1332
15,40	1690
16,10	1160
17,20	2166
17,80	1743
18,90	2206
<u>19,60</u>	<u>1620</u>

De forma análoga, espera-se, para os complexos de inclusão de β -CD, o mesmo comportamento dos complexos formados de α -CD, ou seja, a formação de um material mais amorfo que seus componentes puros e as misturas físicas. Isso foi caracterizado pela redução da intensidade dos picos principais. O padrão amorfo foi encontrado nas concentrações molares 1:1, 1:2 e 1:3, onde houve reduções de intensidade de 80-90% e a concentração de 1:4 apresentou redução de apenas cerca de 30%. Pode-se observar, através dos padrões de difração, que o método de empastamento produziu materiais mais amorfos nas concentrações 1:1, 1:2 e 1:3 que pelo método de solução, com redução de intensidade de cerca de 70-80%. Porém, não se pode perceber nenhuma diferença evidente entre as metodologias nas concentrações molares testadas por difração de raios-X.

Os padrões de difração das amostras preparadas com γ -CD estão demonstrados na Figura 16. Inicialmente, obtiveram-se os resultados dos complexos formulados pelo método de empastamento nas concentrações molares de 1:1, 1:2, 1:3 e 1:4, das misturas físicas e dos componentes puros. Porém, não foi possível a obtenção dos padrões de difração dos complexos obtidos por solução nas proporções de 1:2, 1:3 e 1:4, já que não foi possível a secagem dos mesmos por liofilização. Assim como as demais, o padrão de difração da γ -CD pura mostrou-se com picos bem definidos característicos de um material cristalino. Seus picos principais e as respectivas intensidades são descritos na Tabela 5.

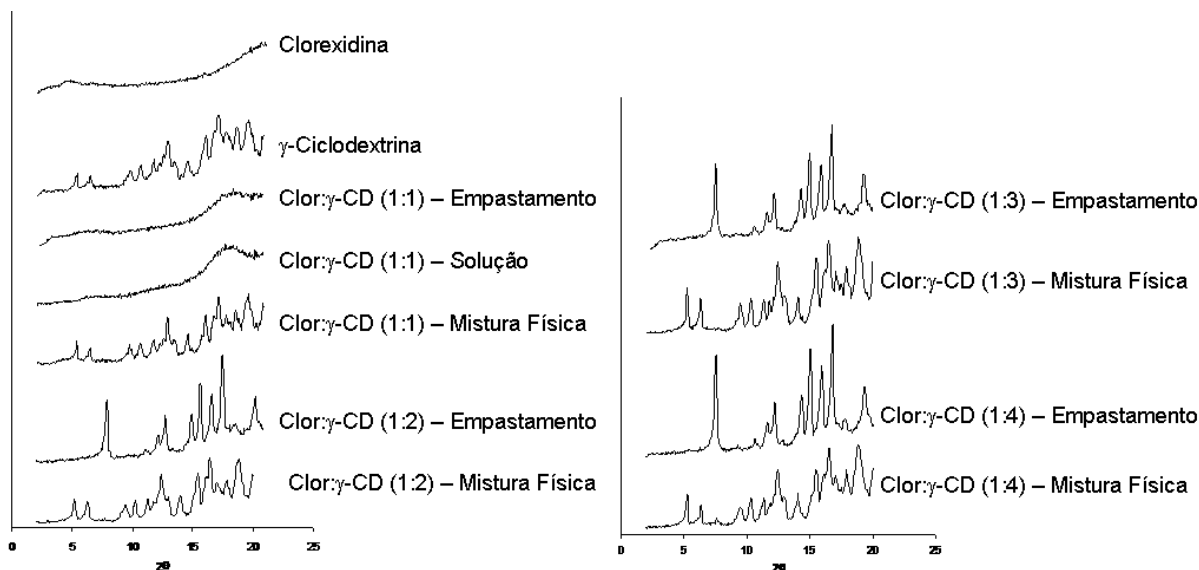


Figura 16: Padrões de difração das substâncias puras e dos complexos obtidos com γ -CD nas diferentes proporções molares pelos métodos de solução e empastamento.

Tabela 5: Picos e intensidades presentes no padrão de difração da γ -CD.

2θ	γ-CD
5,15	541
6,25	488
9,45	585
10,25	704
11,30	812
12,40	1168
14,00	783
15,40	1273
<u>16,45</u>	<u>1689</u>
17,10	1334
17,90	1407
<u>18,80</u>	<u>1587</u>

Assim como as duas primeiras CD estudadas, os padrões de difração que evidenciam a inclusão foram os que representem materiais mais amorfos, apresentando uma redução na intensidade dos sinais de 50-60% na proporção 1:1 obtida tanto por empastamento quanto por solução, que é superior a obtida pelo efeito de diluição observado na mistura física. Por essa técnica, não se pode eleger o melhor método, já que os padrões de difração demonstraram o mesmo resultado em todas as concentrações testadas.

Os resultados das amostras preparadas pelos métodos de solução e empastamento, as misturas físicas e os componentes puros da inclusão da CLOR e da M- β -CD estão demonstrados na Figura 17. O padrão de difração da M- β -CD pura mostrou-se altamente cristalino como as demais CD (Tabela 6). Todavia, os padrões de difração dos complexos de inclusão por ambos os métodos em todas as proporções molares mostraram um padrão mais amorfo que os componentes puros e as misturas físicas, com uma redução de intensidade de 80-90%. Isto evidencia que em qualquer proporção molar e pelos dois métodos é possível obter complexos de inclusão de CLOR e M- β -CD.

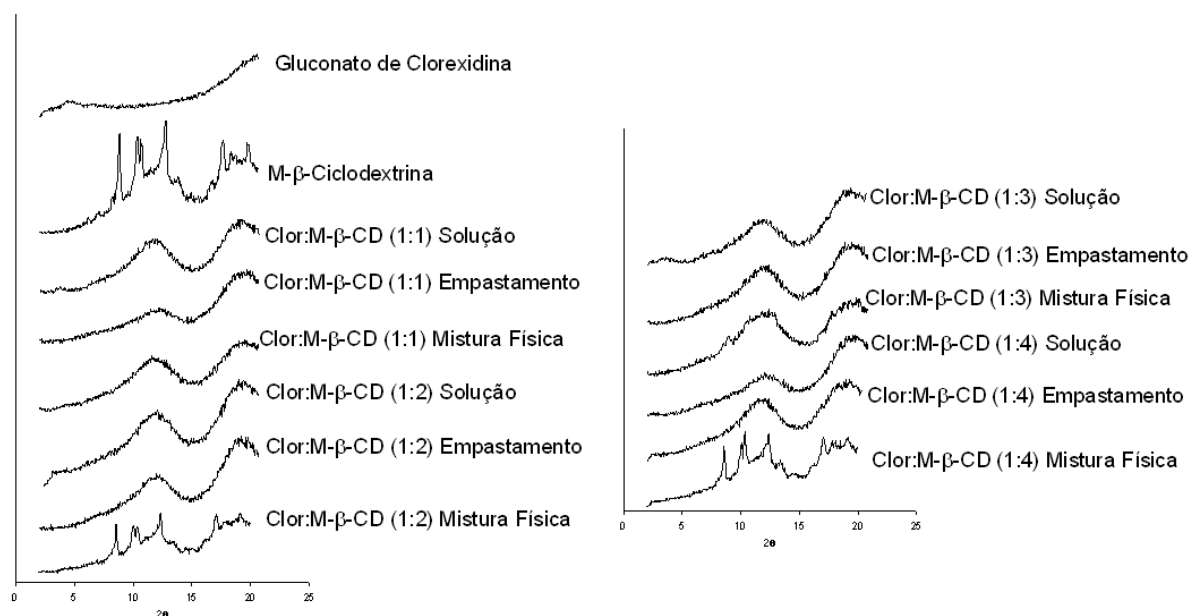


Figura 17: Padrões de difração das substâncias puras e dos complexos obtidos com M- β -CD nas diferentes proporções molares pelos métodos de solução e empastamento.

Tabela 6: Picos e intensidades presentes no padrão de difração da M- β -CD.

2θ	M-β-CD
8,55	1715
10,50	1754
<u>12,35</u>	<u>1857</u>
17,10	1687
19,20	1641

Os resultados de difração de raios-X das amostras preparadas pelos métodos de solução e empastamento, as misturas físicas e os componentes puros da inclusão da CLOR e HP- β -CD estão demonstrados na Figura 18.

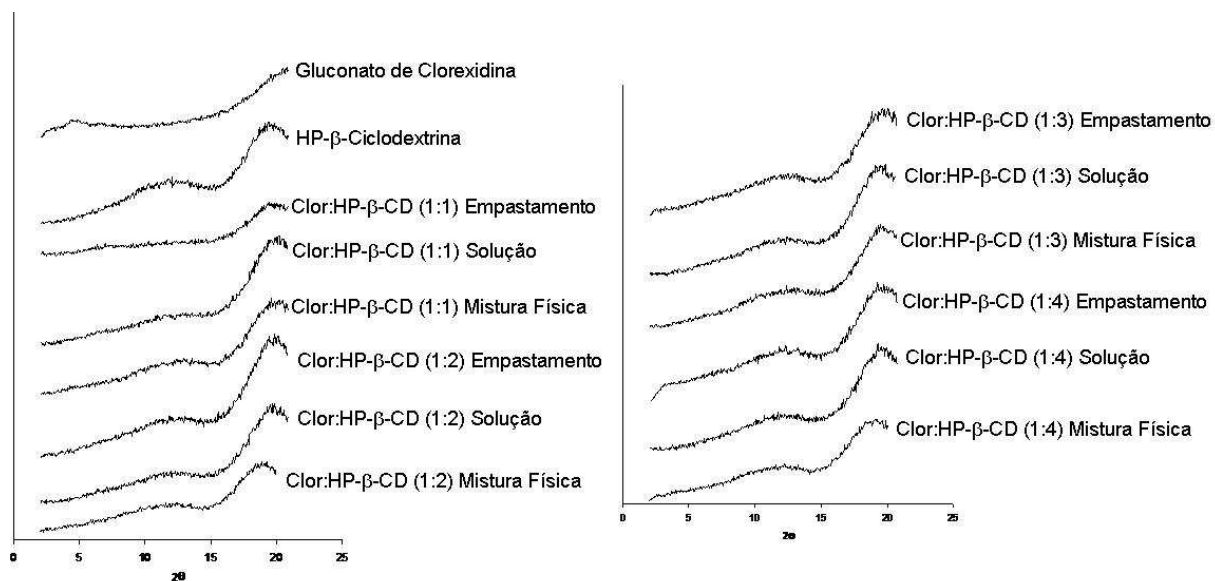


Figura 18: Padrões de difração das substâncias puras e dos complexos obtidos com HP- β -CD nas diferentes proporções molares pelos métodos de solução e empastamento.

Os picos característicos de maior intensidade da HP- β -CD foram detectados nos ângulos de 11,40° e 19,30°. Foi possível observar a redução destes picos, de cerca de 60%, no padrão de difração do complexo de proporção molar 1:1 pelo método de empastamento, demonstrando então que para este tipo de complexo a metodologia empregada é determinante para sua formação.

O padrão de difração da HP- β -CD pura mostrou um material levemente cristalino (Tabela 7). Enquanto, o padrão de difração do complexo de inclusão obtido pelo método de empastamento na concentração molar 1:1 mostrou um padrão mais amorfo que os componentes puros e as misturas físicas. Isto evidencia que provavelmente somente pelo método de empastamento na concentração molar 1:1 é possível obter complexos de inclusão de CLOR e HP- β -CD.

Tabela 7: Picos e intensidades presentes no padrão de difração da HP- β -CD.

2θ	HP-β-CD
11,40	817
<u>19,30</u>	<u>1565</u>

Este fenômeno de desordem observado por difração de raios-X causado pela inclusão de fármacos em CD foi observado por diversos autores com diversos fármacos. Como Song, Teng e Yang (2006), que observaram este fenômeno na inclusão de triptofano com α - e β -ciclodextrinas. Também foi observado por Kim e colaboradores (2007), que obtiveram os mesmos padrões com a inclusão de sinvastatina em HP- β -CD.

4.2.1.3. Espectroscopia de Infravermelho

Foram obtidos os espectros de infravermelho da β -CD, M- β -CD, HP- β -CD, CLOR, das misturas físicas e dos complexos de inclusão.

Os resultados da análise de infravermelho dos componentes puros, das misturas físicas e dos complexos formados entre CLOR e β -CD são demonstrados na Figura 19. Através da análise do espectro de infravermelho da CLOR pura percebe-se que as bandas de 1700 a 1500 cm^{-1} , que são características do estiramento da ligação C=C que constitui os anéis aromáticos da CLOR, são as bandas que identificam a substância e se diferenciam das bandas características da molécula da β -CD. Essas bandas continuam a serem observadas tanto nas misturas físicas quanto nos complexos obtidos, garantindo a integridade e presença da molécula de CLOR (CORTÉS *et al*, 2001).

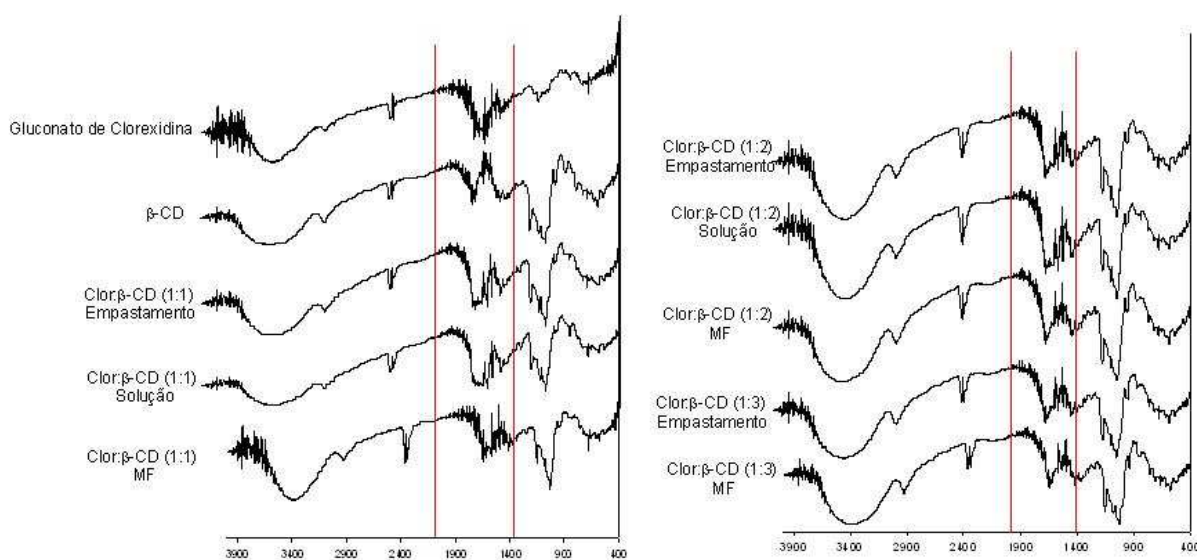


Figura 19: Espectros das substâncias puras e dos complexos obtidos com β -CD nas diferentes proporções molares pelos métodos de solução e empastamento.

Os resultados da análise de infravermelho dos componentes puros, das misturas físicas e dos complexos formados entre CLOR e M- β -CD são demonstrados na Figura 20. Assim como o observado para os complexos de β -CD, os complexos de M- β -CD não alteram a integridade da molécula de CLOR, já que não se observou deslocamentos significativos que evidenciem mudança em sua estrutura química.

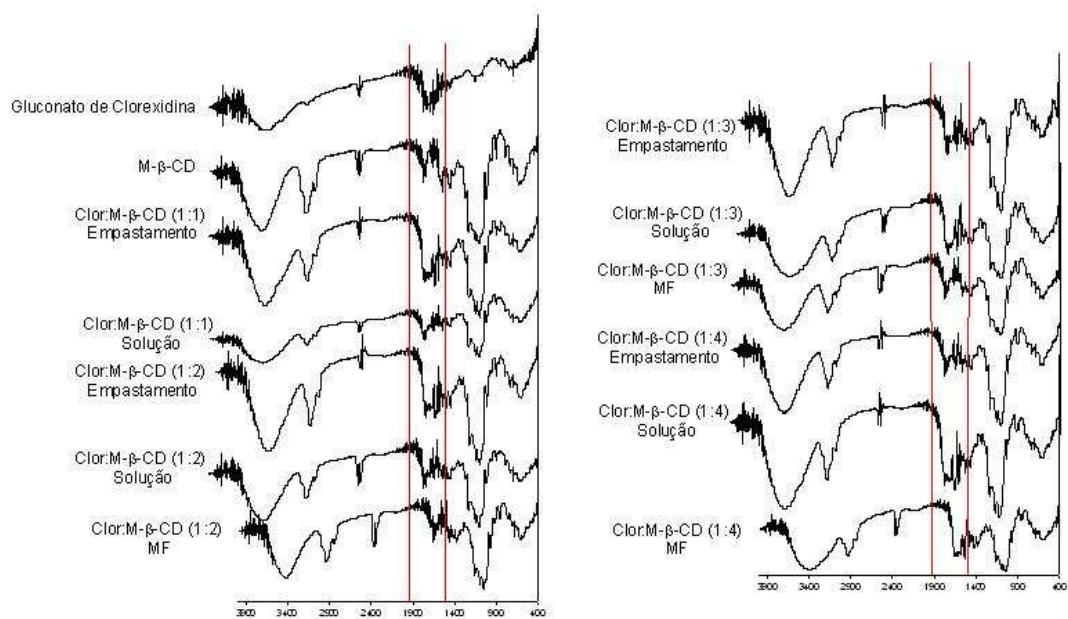


Figura 20: Espectros das substâncias puras e dos complexos obtidos com M-β-CD nas diferentes proporções molares pelos métodos de solução e empastamento.

Os resultados da análise de infravermelho dos componentes puros, das misturas físicas e dos complexos formados entre gluconato de clorexidina e HP-β-CD são demonstrados na Figura 21. Como o observado nos demais complexos, a HP-β-CD não interferiu na integridade da molécula de CLOR.

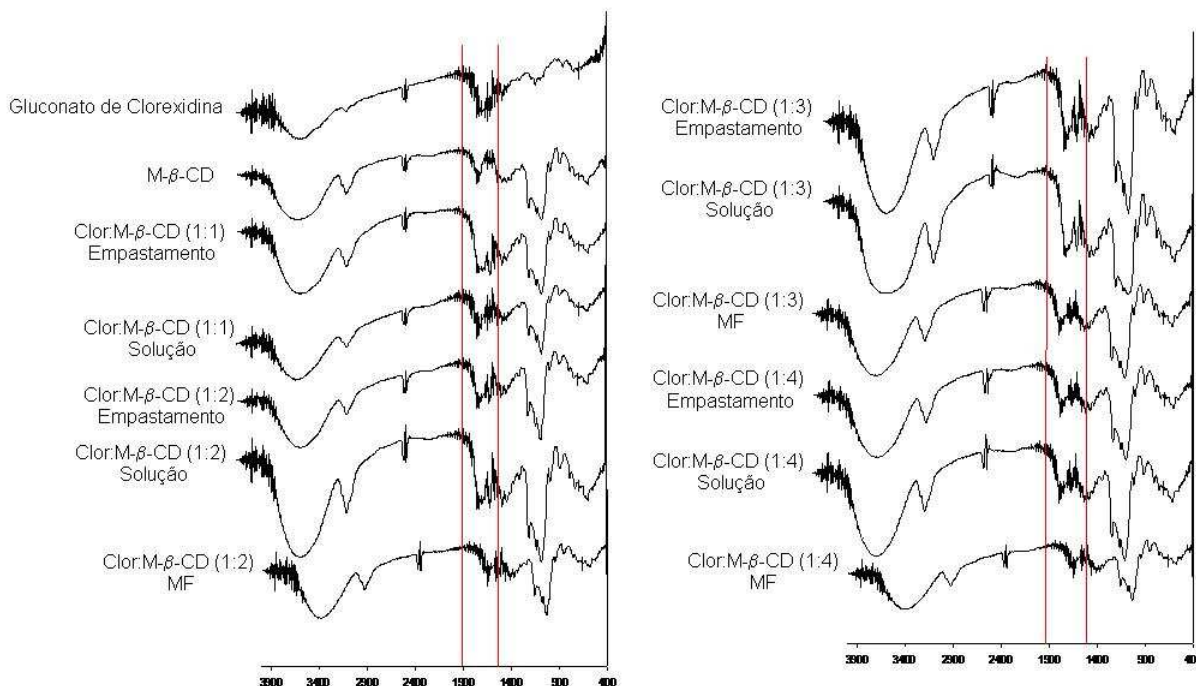


Figura 21: Espectros das substâncias puras e dos complexos obtidos com HP- β -CD nas diferentes proporções molares pelos métodos de solução e empastamento.

5.1.1.3. Análise de Calorimetria Diferencial de Varredura

A análise térmica é uma técnica comumente utilizada para a investigação quantitativa da formação dos complexos de inclusão de CD, a qual é baseado na comparação do comportamento térmico dos componentes puros, suas misturas físicas e dos complexos de inclusão (GIORDANO, NOVAK & MOYANO, 2001). Os perfis térmicos das substâncias puras e dos complexos de inclusão são mostrados na Figura 22. Sendo assim, observa-se que a clorexidina demonstra uma estabilidade de 25 a 174 °C seguida de uma sequência de eventos de decomposição térmica. Os termogramas dos complexos de inclusão não demonstraram o pico de degradação da clorexidina para todos os complexos contendo β -CD e seus derivados sintéticos. Esta é uma evidência da formação de um novo composto supramolecular característico dos complexos de inclusão. O desaparecimento ou o encurtamento do pico referente ao ponto de fusão das moléculas inclusas é considerado uma evidência conclusiva da formação de

complexos de inclusão (GIORDANO, NOVAK & MOYANO, 2001). Yallapu, Jaggi e Chauhan (2010) observaram os mesmos padrões na inclusão de curcumina, onde o pico endotérmico do ponto de fusão desapareceu nas curvas de DSC dos complexos. Portanto, o método de empastamento é adequado para a produção de complexos de inclusão de CLOR e β -CD, M- β -CD e HP- β -CD.

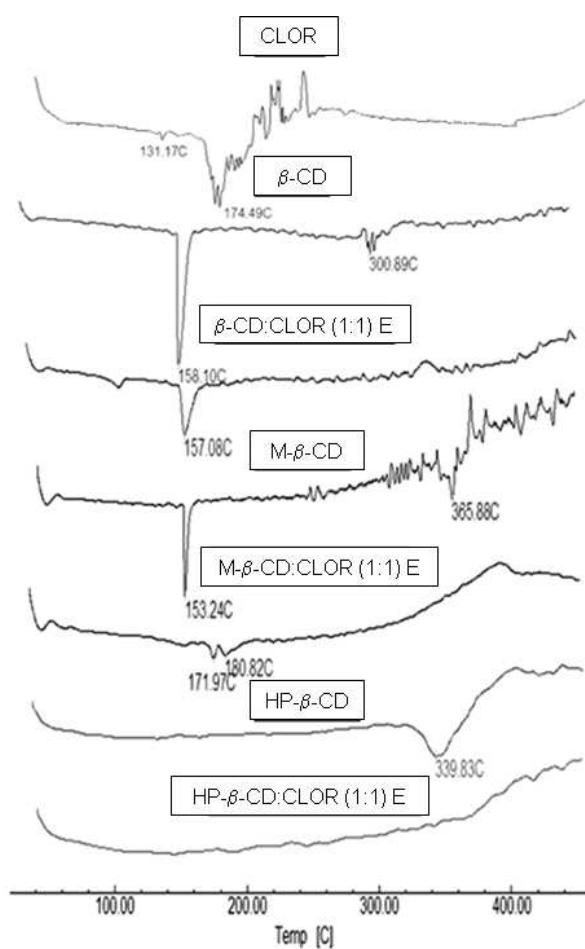


Figura 22: Perfis térmicos das substâncias puras e seus complexos de inclusão na proporção molar de 1:1 obtidos por empastamento (E).

5.1.2. Determinação da Atividade Bactericida/Fungicida dos Complexos

O teste de inibição foi realizado para avaliar a manutenção do efeito bactericida e/ou fungicida da CLOR quando associada a CD formando complexos de inclusão. As amostras testadas estão descritas na Tabela 8 e os diâmetros dos halos de inibição para *C. albicans* e *S. mutans* são mostrados na Tabela 9. Todas as amostras foram tão efetivas quanto a solução aquosa de CLOR contra uma bactéria gram-positiva e um fungo. No entanto, Cortés e colaboradores (2001) demonstrou que o complexo de inclusão de CLOR: β -CD apresentou uma atividade antibacteriana modificada, quando medida sua concentração inibitória mínima, aumentando sua eficácia com baixas concentrações contra uma bactéria patogênica.

Tabela 8: Amostras testadas para o halo de inibição.

Número da Amostra	Descrição
1	Solução 0,12% (p/v) do complexo CLOR: β -CD
2	Solução 0,12% (p/v) do complexo CLOR:M- β -CD
3	Solução 0,12% (p/v) do complexo CLOR:HP- β -CD
4	Solução 0,12% (p/v) de gluconato de clorexidina

Tabela 9: Diâmetros dos halos de inibição obtidos em triplicata para as amostras testadas contra *C. albicans* e *S. mutans*.

<i>C. albicans</i>		<i>S. mutans</i>	
Formulação	Diâmetro Médio (cm)	Formulação	Diâmetro Médio (cm)
1	1,50 ± 0,01	1	1,70 + 0,01
2	1,60 ± 0,01	2	1,80 + 0,01
3	1,53 ± 0,06	3	1,70 + 0,01
4	1,57 ± 0,06	4	1,70 + 0,01

Novamente, pode-se observar que os complexos obtiveram o halo de inibição muito similar ao do controle, demonstrando que a atividade bactericida da CLOR se mantém mesmo depois da formação do complexo. Além disso, nenhuma melhora deveria ser observada visto que as CD não possuem atividade bactericida ou fungicida.

5.1.3. Desenvolvimento de Formulações de Enxaguatório Bucal para o Tratamento de Doenças Periodontais

Foram preparadas as formulações de enxaguatório bucal utilizando a formulação descrita na Tabela 10 através do método de preparo geral, que consiste na adição dos componentes em parte da água com posterior dissolução dos mesmos, seguida da adição de q.s.p. da água até o volume final de 100 mL e observou-se que se obtiveram soluções lípidas e que os complexos foram extremamente solúveis no veículo. O pH das formulações desenvolvidas, do placebo e da formulação controle (Periogard®) estão também descritos na Tabela 11.

Tabela 10: Fórmula-base para produção de solução (0,120% Gluconato de Clorexidina)

Componentes	Função	Quantidade
Gluconato de Clorexidina	Agente Antimicrobiano	0,120% p/v
Ou Complexo de Inclusão		
Essência de Menta Hidrossolúvel	Aromatizante	0,100% v/v
Álcool etílico	Conservante	0,050% v/v
Polissorbato 20	Tensoativo	0,500% p/v
Sorbitol (Solução 70%)	Edulcorante e umectante	15,00% v/v
Mentol	Flavorizante	0,010% p/v
Álcool etílico	Veículo	2 mL
Água	Veículo	100 mL

Tabela 11: Formulações de enxaguatório bucal preparadas e medida de pH.

Formulação	pH
Placebo	4,16
Periogard®	5,61
Gluconato de Clorexidina	4,94
Complexo Clorexidina:β-CD	4,00
Complexo Clorexidina:M-β-CD	4,26
Complexo Clorexidina:HP-β-CD	4,16

A CLOR tem como grande vantagem a sua substantividade, que se caracteriza pela sua capacidade de se aderir à superfície dentária. O pH da cavidade oral afeta significativamente tanto a ligação quanto a liberação da CLOR (ELLEPOLA & SAMARANAYAKE, 2001). Bonesvoll e colaboradores (1974) foram os primeiros a descrever o efeito do pH na retenção da CLOR na cavidade bucal. Foram testados enxaguatórios com pH de 1,5; 3; 6,4 e 9 e observada a retenção da CLOR. Constatou-se, então, que a quantidade de CLOR retida quando usados enxaguatórios com pH 1,5 e 3 foi duas vezes menor que com o enxaguatório com pH 6,4. Além disso, o aumento no pH não parece influenciar na retenção, já que não houve diferenças significativas entre pH 6,4 e 9. Os resultados são consistentes com a hipótese de que a CLOR catiônica se liga eletrostaticamente aos grupos aniônicos presentes nas proteínas salivares e estruturais. Sendo assim, os enxaguatórios contendo CLOR devem apresentar pH de aproximadamente 5,0, já que o pKa dos grupos aniônicos constituintes dessas proteínas está em torno de 4,5 (BONESVOLL *et al*, 1974). Dentre as formulações propostas observou-se que os pH permanecem entre 4-6, o que é adequado para garantir a manutenção das características de retenção inerentes à CLOR.

5.4.1. Estudo de Estabilidade das Formulações de Enxaguatório Bucal

As CD são conhecidas por acelerar ou desacelerar vários tipos de reações apresentando muitas características cinéticas das reações enzimáticas, ou seja, formação do complexo catalisador-substrato, inibição competitiva, saturação e catálise estereoespecífica (BENDER & KOMIYAMA, 1978). Quando um grupo éster da molécula inclusa é fixado proximalmente ao sítio catalítico da CD, ou seja, os grupos hidroxila secundários, há uma aceleração da hidrólise. Por outro lado, a hidrólise é desacelerada quando os grupos éster são incluso no interior da cavidade (UEKAMA, HIRAYAMA & IRIE, 1998).

Diversos relatos em literatura demonstram a utilização da CD a fim de estabilizar fármacos ou aditivos alimentares. A penicilina G foi estabilizada em uma solução aquosa de tampão de cloroacetato com a inclusão em HP- β -CD. O incluso apresentou uma taxa de degradação 9 vezes menor que o composto livre. A energia de ativação

para a reação de degradação foi a mesma tanto para o fármaco complexado quanto livre, porém houve uma redução da entropia de ativação, sugerindo que o impedimento estérico foi determinante para a redução da taxa de degradação (ONG, SUNDERLAND & MCDONALD, 1997).

Inicialmente, foi investigada a estabilidade das formulações de enxaguatórios bucais de CLOR, pois a mesma apresenta diversas incompatibilidades com excipientes comuns, como alguns íons e compostos orgânicos. Essas reações de incompatibilidade levam à formação do produto de degradação *p*-cloroanilina e sua consequente precipitação (BASRANI *et al*, 2007; RASIMICK *et al*, 2008). Não foram observadas nenhuma precipitação ou incompatibilidade entre a CLOR e os excipientes da formulação até 48 horas depois da sua preparação com CLOR pura. As formulações de enxaguatório bucal foram produzidas com a CLOR pura e os complexos de inclusão com a concentração de 0,12% de CLOR. Essas amostras foram estocadas em uma câmara climática a 40 °C ± 2°C e 75% ± 5% umidade relativa (UR) a fim de avaliar a estabilidade térmica das formulações. Os resultados estão apresentados na Tabela 12 e os perfis de estabilidade das formulações estão demonstrados na Figura 23. Observa-se, então, um grande aumento na estabilidade de todos os nanossistemas estudados, indicando uma potencial aplicação comercial do novo derivado de β-CD, capaz de manter a concentração de CLOR em 94,15% após 6 meses de estudo.

Tabela 12: Resultados das análises de pH e teor das formulações de enxaguatório bucal submetidas ao estudo de estabilidade acelerada de 6 meses a 40 ± 2 °C e 75 ± 5% UR.

Formulação	0 mês		3º mês		6º mês	
	pH	%	pH	%	pH	%
Clorexidina 0,12% (p/v)	4,94	103,38	4,97	35,43	4,95	34,48
CLOR:β-CD 1:1 E	4,00	98,71	4,05	73,94	4,01	72,00
CLOR:M-β-CD 1:1 E	4,26	103,24	4,23	95,89	4,24	94,15
CLOR:HP-β-CD 1:1 E	4,16	111,72	4,21	99,37	4,11	87,06

E – Empastamento

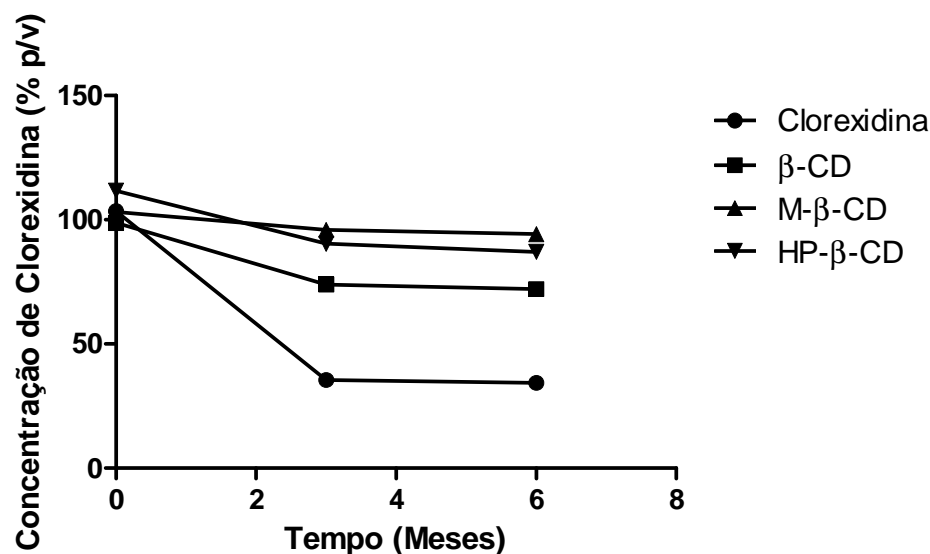


Figura 23: Perfis de estabilidade das formulações de exagatório bucal submetidas ao estudo de estabilidade acelerada de 6 meses a 40 ± 2 °C e $75 \pm 5\%$ UR.

5.2. Desenvolvimento e avaliação de formulações transdérmicas de gel contendo doxazosina base e finasterida da influência do uso de complexos de inclusão e outros promotores de permeação na permeabilidade cutânea

5.2.1. Síntese e Caracterização da Doxazosina Base

Os padrões de difração da DB e da DM estão demonstrados na Figura 24. Algumas diferenças entre os padrões cristalinos de DB e DM são observadas. Ecerge e colaboradores (2012) demonstraram o padrão de DRX da DB e o mesmo apresentou diversas similaridades com o obtido neste trabalho, corroborando a efetividade do método de preparação testado. A DM apresenta algumas formas cristalinas diferentes já descritas (SOHN & LEE, 2005). O padrão de difração de DM é idêntico ao do cristal do padrão de referência da forma II (MORS DORF & GRAFE, 2000). Os padrões térmicos da DB e DM estão demonstrados na Figura 25. Ambos os perfis térmicos demonstraram um pico endotérmico único e fino correspondente aos pontos de fusão das substâncias. O ponto de fusão experimental da DB foi de $257,5$ °C, o qual foi similar ao já descrito de $255,8$ °C (ERCEG *et al*, 2012). Enquanto o ponto de fusão da DM foi de $269,9$ °C, sendo similar ao já descrito para o padrão de referência da forma II de

266 °C (MORSDORF & GRAFE, 2000). Além disso, Do Carmo (2011) preparou a DB utilizando o mesmo método e condições confirmando a obtenção da mesma através de análises de RMN de H^1 e C^{13} .

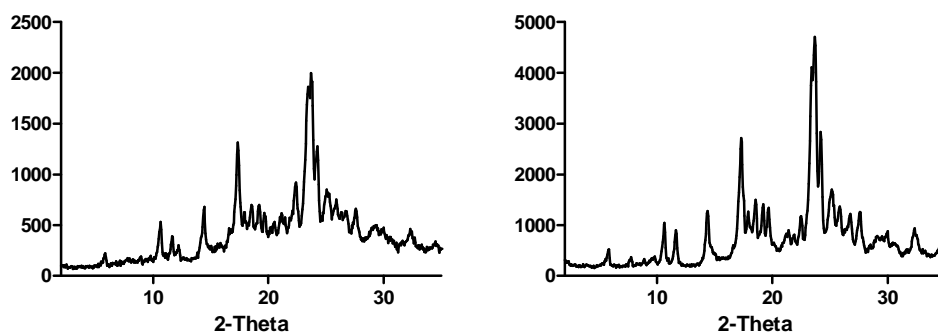


Figura 24: Padrões de difração da doxazosina base (esquerda) e da doxazosina mesilato (direita).

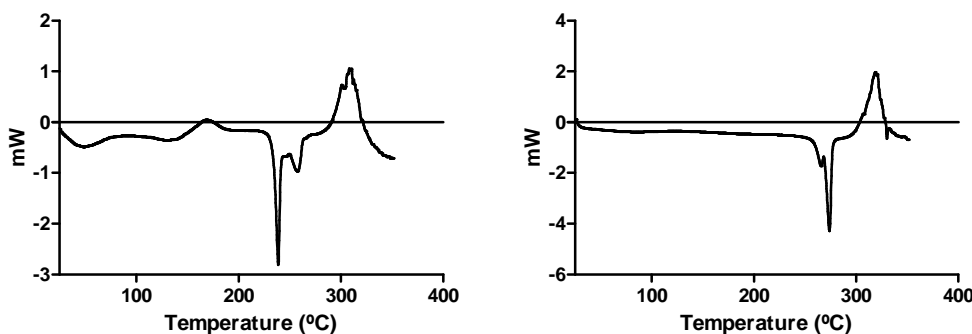


Figura 25: Perfis térmicos da doxazosina base (esquerda) e da doxazosina mesilato (direita).

5.2.2. Diagrama de fases

Os diagramas de solubilidade de fases dos complexos de FIN e DOX com HP- β -CD estão demonstrados na Figura 26. A HP- β -CD foi utilizada por ter a solubilidade mais alta dentre os derivados de β -CD, além do fato do complexo de FIN e esta CD já ter sido descrito em literatura. Através do gráfico do diagrama de solubilidade de fases do complexo entre a DOX e a HP- β -CD observa-se que há inicialmente um aumento da solubilidade do fármaco com o aumento da concentração da HP- β -CD, seguido de uma estabilização e formação de um desvio negativo. Esse diagrama seria característico de

complexos do tipo A_N de Higuchi e Connors (1965). Essa curvatura negativa do diagrama é obtida em complexos caracterizados pelo aumento da proporção de CD no complexo, uma alteração na interação soluto-solvente ou uma combinação de ambos. A formação de complexos do tipo A_N impossibilita a determinação da constante de estabilidade K_c dos complexos. O mesmo perfil de diagrama foi observado por Koontz e Marcy (2003) na complexação da nantamicina, um antimicótico de amplo espectro com baixa solubilidade, com HP- β -CD e γ -CD.

O diagrama de fases obtido entre a FIN e a HP- β -CD foi similar ao mostrado por Ashbahr e colaboradores (2009), mostrando-se do tipo A_L de Higuchi, ou seja, caracterizado por um aumento linear com R^2 de 0,9917 no gráfico da concentração de FIN *versus* a concentração de HP- β -CD. Esta é uma evidência de complexação de primeira ordem e a inclinação de 0,0798 sendo menor que 1 sugere uma estequiometria de 1:1. Consequentemente, a constante de estabilidade foi também similar, de 840 molL^{-1} , e sendo entre 100 e 1000 molL^{-1} é adequada para a preparação dos complexos.

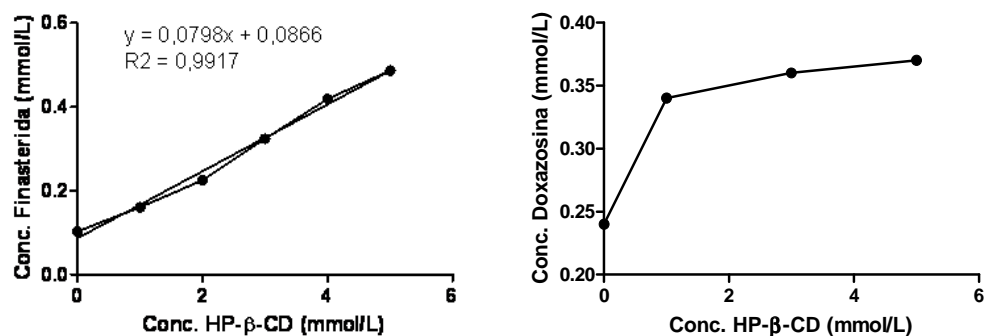


Figura 26: Diagramas de solubilidade de fases dos complexos de inclusão de finasterida (esquerda) e doxazosina (direita) com HP- β -CD.

5.2.3. Ensaio de Quantificação da Doxazosina Base e Finasterida

A seletividade do método de quantificação da DB e da FIN por CLAE foi observada visto que se observaram tempos de retenção diferentes de ambos os fármacos, mostrando que não existe interferência entre eles. Assim como não houve

interferência dos componentes da pele na análise, como demonstrado nas Figura 27, 28 e 29.

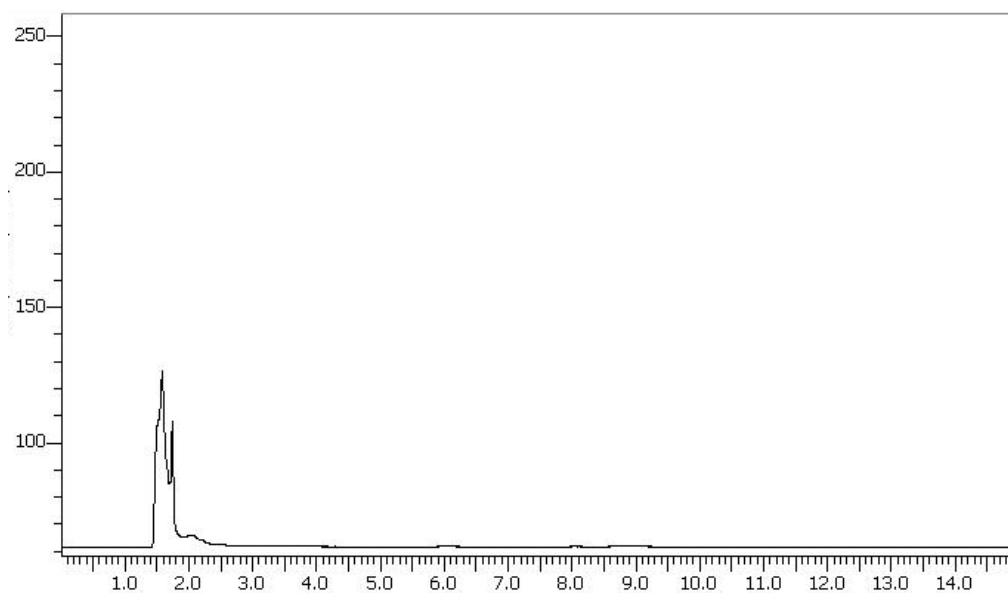


Figura 27 – Cromatograma do branco da pele.

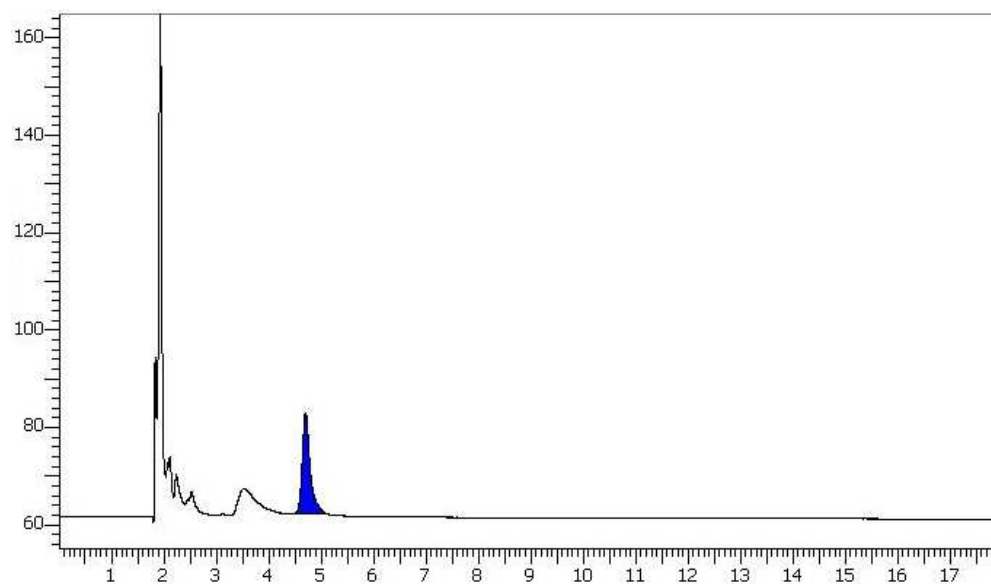


Figura 28 – Cromatograma do padrão de doxazosinha base.

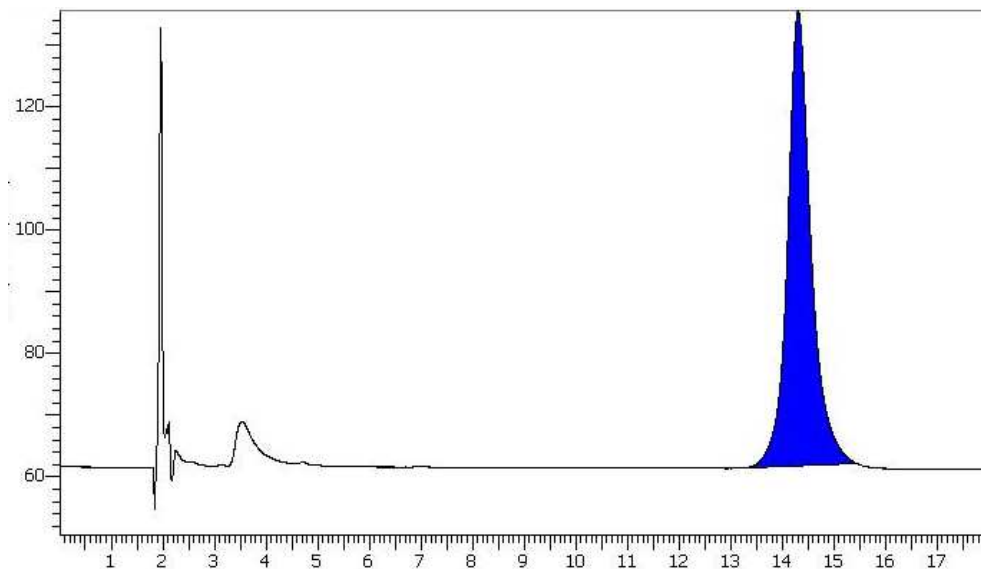


Figura 29 – Cromatograma do padrão de finasterida.

O método demonstrou-se linear na faixa de concentração de ambos os fármacos utilizada desde que as retas apresentaram o coeficiente de determinação entre 0,996 e 0,999, como demonstrado na Figura 30.

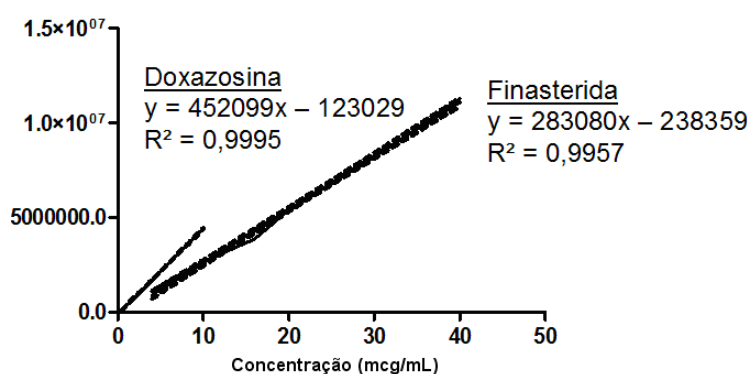


Figura 30: Linearidade do método analítico de CLAE utilizado para quantificação de doxazosina e finasterida.

Através das curvas obtidas foram calculados os limites de detecção e quantificação e os valores obtidos estão descritos na Tabela 13.

Tabela 13: Valores de Limite de Detecção e de Quantificação obtidos através do método analítico de CLAE utilizado para quantificação de doxazosina e finasterida.

Fármaco	Limite de Detecção	Limite de Quantificação
Doxazosina	0,1314 µg/mL	0,4379 µg/mL
Finasterida	0,1311 µg/mL	0,4371 µg/mL

O método se mostrou preciso desde que apresentou variação aceitável com desvio padrão relativo abaixo de 2% como demonstrado na Tabela 14.

Tabela 14: Dados obtidos na análise de precisão do método analítico de CLAE utilizado para quantificação de doxazosina e finasterida.

Amostra	Área	
	Área Doxazosina	Finasterida
1	2155932,35	5391817,87
2	2108886,64	5398121,81
3	2119001,29	5358445,07
4	2113164,55	5376157,67
5	2122250,4	5389376,9
6	2114491,38	5368828,71
Média	2122287,77	5380458,01
DP	17125,23	15224,36
DPR	0,81	0,28

O método sendo linear na faixa de concentração utilizada para ambos os fármacos, seletivo em relação aos fármacos e aos constituintes da pele e sendo reprodutível, pode ser utilizado nos ensaios de permeação sem levar a interferências nos mesmos.

5.2.4. Teste de Solubilidade

A solubilidade da DB e da FIN foi testada nos meios receptores dos testes de permeação e nos componentes da formulação para garantir as condições *sink* e determinar a concentração dos componentes nas formulações. O PPG foi escolhido como solvente porque já foi demonstrado em literatura que possui uma ação promotora de permeação devido ao seu efeito de cosolvente, onde a atividade termodinâmica é considerada a força motriz dessa ação (BARRY, 1983) e também pelo seu mecanismo de carreador, já que o PPG possui grau de afinidade pela pele promovendo então o movimento do fármaco através da mesma (HOELGAARD & MØLLGAARD, 1985). Além disso, foram utilizados diversos tipos de promotores de permeação como a Azona®, o ácido láurico e a HP- β -CD. A solubilidade dos fármacos nos meios relevantes está descrita na Tabela 15. Além disso, a DB é menos solúvel nos componentes da formulação que a FIN. Finalmente, a formação do complexo de HP- β -CD com a FIN leva a um considerável aumento na solubilidade do fármaco em água e, conseqüentemente, uma diminuição da sua solubilidade nos componentes utilizados no desenvolvimento da formulação de gel transdérmico.

Tabela 15: Solubilidade da doxazosina base e da finasterida nas misturas do veículo e os promotores de permeação utilizados

Solventes	Doxazosina (mg/mL)	Finasterida (mg/mL)
PPG + Azona® 3% p/p	7,35	43,34
PPG + Ácido Láurico 5% p/p	6,85	51,63
PPG + Azona® 3% p/p + Complexo HP β CD:FIN (1:1)	N/A	4,40

HP β CD – Hidroxipropil- β -ciclodextrina; PPG – Propilenoglicol.

Ambos os fármacos foram solúveis em PBS apenas na presença de um agente solubilizante que foi a HP- β -CD levando a uma solubilidade aceitável para garantir as condições *sink* do experimento (Tabela 16).

Tabela 16: Solubilidade da doxazosina base e da finasterida em soluções receptoras.

Solventes	Doxazosina (mg/mL)	Finasterida (mg/mL)
PBS pH 7,4	N/D	N/D
PBS pH 7.4 + HP β CD		
2,5%p/v	1,09	1,24

PBS – *Phosphate Buffer Solution* – Tampão Fosfato; HP β CD – Hidroxipropil- β -ciclodextrina.

5.2.5. Ensaios de Permeação *ex vivo*

5.2.5.1. Efeito de Diferentes Promotores de Permeação

A via de administração utilizada no tratamento com DOX e FIN de HPB é a via oral. Porém alguns estudos já foram feitos a cerca da permeabilidade cutânea dos fármacos. Foi investigada a permeabilidade cutânea da FIN utilizando formulações de lipossomas e a avaliação da ação de surfactantes e cossurfactantes (RAO *et al*, 2008; JAVADZADEH *et al*, 2010). A permeabilidade cutânea da DOX foi estudada utilizando diversas formulações como microemulsões, *patches* e géis contendo promotores de permeação (DO CARMO, 2011).

A permeabilidade transdérmica de fármacos pode ser avaliada através de parâmetros como fluxo (J), que determina a velocidade de entrada do fármaco por área aplicada de formulação. Porém o fluxo pode ser variado de acordo com os componentes da formulação e pela concentração do fármaco na mesma. Portanto, para fins de comparação de formulações com conteúdo de fármacos diferentes, pode-se utilizar o parâmetro chamado de coeficiente de permeação (P), que é a divisão do fluxo pela concentração de fármaco determinando uma relação entre a quantidade de fármaco permeada em relação a área de aplicação e o tempo (MOSER *et al*, 2001)

Os perfis de permeação das soluções saturadas de ambos os fármacos em PPG contendo diferentes promotores de permeação estão demonstrados na Figura 31. A solução contendo Azona® 3% p/p demonstrou ser mais efetiva obtendo o maior J e P entre os promotores utilizados, sendo estatisticamente diferente ($p < 0,05$) dos fluxos observados para o ácido láurico e a HP- β -CD.

Javadzadeh e colaboradores (2010) demonstraram que o promotor de permeação que levou a um aumento do fluxo de permeação da FIN utilizando soluções de PPG foi o Transcutol P em comparação com outros surfactantes de caráter iônico, como brometo de cetilmetilamônio e o lauril sulfato de sódio. Os autores obtiveram um P de $0,144 \text{ cmh}^{-1}$ utilizando Transcutol P® 1% (p/p), que é menor que o obtido neste estudo utilizando azona® 3% (p/p) de $2,85 \text{ cmh}^{-1}$, evidenciando uma maior efetividade da Azona® como promotor de permeação cutânea para FIN.

Existem diversos relatos do uso e eficácia de ácidos graxos de cadeia longa como promotores de permeação (WILLIAMS & BARRY, 2004). Diferentes mecanismos de ação já foram descritos como aumento da solubilidade e partição dos fármacos, o rompimento da função de barreira do estrato córneo e a formação de par iônico. No entanto, os fármacos com características e condições de aplicação individuais são determinantes para a efetividade desses compostos como promotores de permeação (STOTT, WILLIAMS & BARRY, 2001). Diversos relatos sobre a efetividade ou não do ácido láurico como promotor de permeação são encontrados em literatura. Como exemplo, Cooper (1984) descreveu que nem o ácido láurico nem o ácido caprílico tiveram efeito sobre a permeação de ácido salicílico. O ácido láurico não foi efetivo como promotor de permeação já que levou a um decréscimo do fluxo de permeação e coeficiente de permeação de ambos os fármacos como mostrado na Tabela 17, apesar de ter esta indicação farmacotécnica. No entanto, foi o promotor de permeação que apresentou menor *lagtime* para FIN e maior para DOX, confirmando a teoria de que o efeito promotor de permeação depende da interação do mesmo com a pele e com o fármaco.

Tabela 17 – Fluxo, lag time e Coeficiente de Permeação (P) das permeações *in vitro* da finasterida e doxazosina base na avaliação do efeito de diferentes promotores de permeação (n = 3).

Formulação	FIN J ($\mu\text{gcm}^{-2}\text{h}^{-1}$)	FIN T _{lag} (h)	FIN P (cmh^{-1})	DB J ($\mu\text{gcm}^{-2}\text{h}^{-1}$)	DB T _{lag} (h)	DB P (cmh^{-1})
Azona® 3% p/p (AZ3)	79,01 ± 11,09	4,69 ± 0,16	2,850± 1,58	63,32 ± 17,15	4,82 ± 0,17	11,51 ± 1,20
Ácido Láurico 5% p/p (LA5)	0,56 ± 0,15	1,45 ± 0,62	0,016 ± 0,007	0,04 ± 0,01	38,08 ± 16,54	0,008 ± 0,002
Azona® 3% p/p + HPβCD:FIN 1:1 p/p (AZHPβCD/FIN)	0,80 ± 0,16	2,86 ± 1,38	0,24 ± 0,07	N/T	N/T	N/T

N/T – Não testado; HP-β-CD – Hidroxipropil-β-ciclodextrina; FIN – Finasterida; DB – Doxazosina Base; J – Fluxo; T_{lag} – LagTime; P – Coeficiente de Permeação.

As CD são descritas como bons promotores de permeação de fármacos pouco solúveis através de membranas biológicas. Atuam como carreadores e aumentam a disponibilidade dos fármacos na superfície da barreira biológica (MÁSSON *et al*, 1999). Sua utilização na permeação dérmica já foi descrita para diversos fármacos como avobenzona (BOUNOURE *et al*, 2007; YANG *et al*, 2008) e metopimazina (BOUNOURE *et al*, 2007). O efeito das CD nas taxas de permeação de fármacos através da pele pode ser determinado tanto pela atividade termodinâmica do fármaco quanto pelo coeficiente de partição entre o fármaco e o veículo. O conceito de atividade termodinâmica foi descrito por Higuchi e Connors (1965) e representa a tendência de liberação do fármaco. Se acredita que o aumento desta atividade leva a um aumento da permeação do fármaco através da pele. Além disso, a atividade termodinâmica é proporcional à solubilidade dos fármacos no veículo e se torna máxima com a saturação da solução.

As CD podem afetar a permeabilidade de fármacos através da pele pela interação com alguns de seus componentes. Essa conclusão foi obtida através do aumento da permeação de fármacos que não interagem com as CD ou com um pré-tratamento da pele com CD. Sendo assim, acredita-se que as CD apresentam um efeito indireto sobre a pele. Porém, não foram observados resultados promissores da

combinação entre CD e promotores de permeação com fármacos lipofílicos, indicando que essa combinação é mais adequada para fármacos hidrofílicos (MATSUDA & ARMA, 1999).

O aumento da disponibilidade do fármaco se dá pelo aumento da concentração do fármaco no meio aquoso externo das membranas ou do veículo. Porém, Uekama e Otagiri (1987) mostraram que a liberação de predinisona foi diminuída pela complexação com M- β -CD quando utilizada em uma formulação que não continha água. Essa diminuição deve ser devido à redução da solubilidade do fármaco através da formação do complexo, indicando que o tipo de veículo utilizado influencia fortemente no efeito promotor das CD. O uso da HP- β -CD levou a um coeficiente de permeação de $0,24 \text{ cmh}^{-1}$, ou seja, cerca de 10 vezes menor que o observado pela azona®, porém maior que o observado por Javadzadeh e colaboradores (2010) utilizando Trancutol P®.

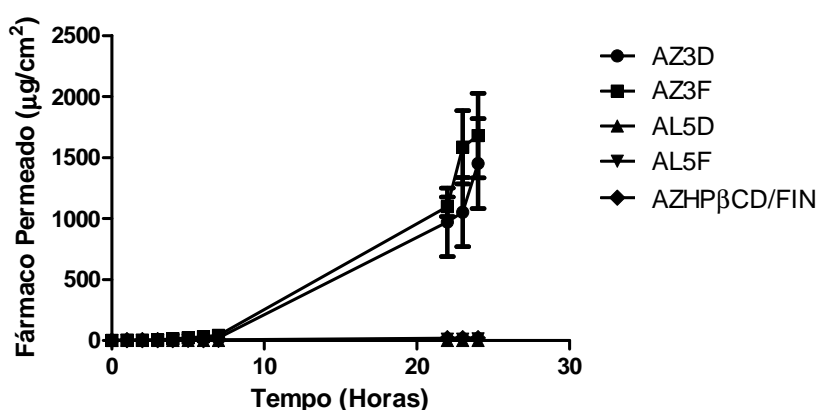


Figure 31: Perfil de permeação *in vitro* de doxazosina base (D) e finasterida (F) em soluções saturadas contendo propilenoglicol e os diferentes promotores de permeação: azona® 3% p/p (AZ3D e AZ3F), ácido Láurico 5% p/p (AL5D e AL5F) e complexo de finasterida:HP- β -CD 1:1 e Azona® 3% p/p (AZHP β CD/FIN). $Q \pm DP$; n = 3.

5.2.5.2. Efeito da concentração de Azona®

O efeito da concentração da Azona® na permeação da DB e FIN através da pele foi avaliado testando diferentes soluções saturadas de PPG contendo 0, 1, 3 e 5% (p/p) de azona®. Os perfis de permeação estão demonstrados na Figura 32. A azona® foi a

primeira substância designada para atuar como promotor de permeação através da pele. É uma substância altamente lipossolúvel e é solúvel na maioria dos solventes orgânicos como alcoóis e PPG. Dados na literatura mostram que azona® não é irritante ou alergênica. A azona® tem sido amplamente utilizada como promotor do transporte pela pele de diversos fármacos como esteróides, antibióticos e agentes antivirais. A efetividade da azona® parece ser fortemente dependente da concentração sendo mais efetiva em baixas concentrações (WILLIAMS & BARRY, 2004). Assim, azona® aumenta a permeabilidade de compostos pela pele através da desordem da sua bicamada lipídica, causando a solubilização dos lipídeos e uma aumentada fluidificação da sua estrutura (GALLARATE *et al*, 1993). Os valores de fluxo obtidos usando diferentes concentrações de azona®, melhor promotor testado, estão resumidos na Tabela 18. Os fluxos e os coeficientes de permeação de DB e FIN são aumentados quando as concentrações de 3% e 5% de azona® são utilizadas. Um aumento do fluxo e do coeficiente de permeação entre concentrações de 1% e 3% de azona® é observado, porém parece ser estabilizado, já que não existe diferença estatística entre as concentrações de 3% e 5% de azona® ($p > 0,05$), apresentando ainda uma pequena tendência de decaimento. Então, os resultados sugerem que a azona® aumenta a permeação de DB e FIN de maneira direta, porém alcança um platô com concentrações maiores que 3% (p/p). Portanto, a concentração da azona® capaz de promover melhores taxas de permeação de DB e FIN é 3% (p/p). Porém, as soluções saturadas de PPG e azona®, de um modo geral, apresentam um *lagtime* bastante elevado o que inviabilizaria o uso terapêutico como formulações transdérmicas.

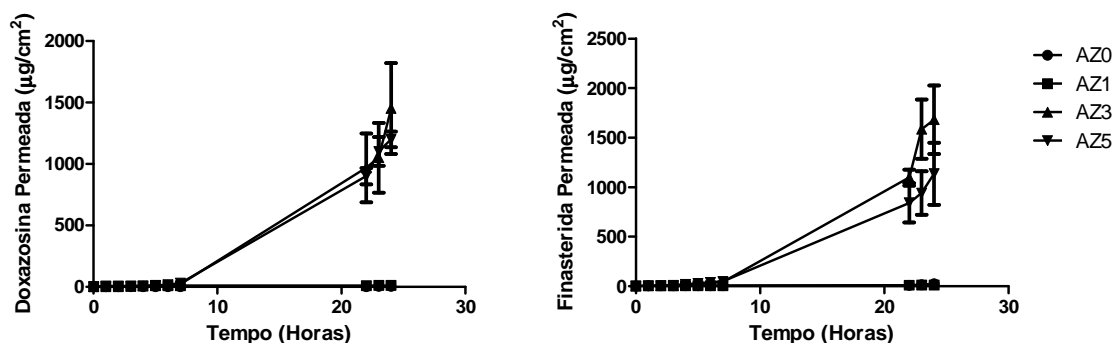


Figura 32: Perfil de permeação *in vitro* de Doxazosina base (esquerda) e finasterida (direita) em soluções saturadas contendo diferentes concentrações de azona® de 0% (AZ0), 1% (AZ1), 3% (AZ3) e 5% p/p (AZ5). $Q \pm DP$; $n = 3$

Tabela 18– Fluxo, *lag time* e Coeficiente de Permeação das permeações *in vitro* da finasterida e doxazosina base na avaliação do efeito da concentração da Azona® ($n=3$).

Formulação	FIN J ($\mu\text{gcm}^{-2}\text{h}^{-1}$)	FIN T_{lag} (h)	FIN P (cmh^{-1})	DB J ($\mu\text{gcm}^{-2}\text{h}^{-1}$)	DB T_{lag} (h)	DB P (cmh^{-1})
Propilenoglicol (AZ0)	$0,79 \pm 0,12$	$13,29 \pm 1,65$	$0,032 \pm 0,003$	$0,33 \pm 0,04$	$6,86 \pm 1,77$	$0,047 \pm 0,004$
Azona® 1% p/p (AZ1)	$0,41 \pm 0,10$	$44,30 \pm 13,12$	$0,011 \pm 0,001$	$0,09 \pm 0,01$	$139,36 \pm 13,50$	$0,018 \pm 0,003$
Azona® 3% p/p (AZ3)	$79,01 \pm 11,09$	$4,69 \pm 0,16$	$2,85 \pm 0,020$	$63,32 \pm 17,15$	$4,82 \pm 0,17$	$11,51 \pm 0,40$
Azona® 5% p/p (AZ5)	$77,44 \pm 14,68$	$5,00 \pm 0,35$	$4,27 \pm 0,040$	$51,40 \pm 10,41$	$5,16 \pm 0,19$	$12,85 \pm 0,70$

FIN – Finasterida; DB – Doxazosina Base; J – Fluxo; T_{lag} – LagTime; P – Coeficiente de Permeação.

5.2.5.3. Efeito dos Agentes Geleificantes

Os perfis de permeação dos géis produzidos com os polímeros HPC e P407 estão demonstrados na Figura 33. A utilização de P407 como agente geleificante se mostrou muito mais efetiva na promoção da permeação dos fármacos ($p < 0,05$). Os coeficientes de permeação dos géis contendo P407 foram de $1,36$ e $7,54 \text{ cmh}^{-1}$ para FIN e DOX, respectivamente. Sendo então mais de 5 vezes maior que os apresentados pelo HPC

de 0,31 e 0,76 cmh⁻¹ para FIN e DOX, respectivamente (Tabela 19). As formulações de géis apresentaram um coeficiente de permeação menor que as soluções saturadas, o que já se esperava visto que a formação da rede tridimensional do gel de HPC e das micelas do gel de P407 impedindo a livre interação dos fármacos com a membrana biológica. Os *lagtime* das formulações de HPC foram cerca de 3 vezes maiores que os apresentados pelas formulações de P407, o que sugere que há uma maior retenção do fármaco na formulação de HPC. Talasaz e colaboradores (2008) avaliaram a liberação de vancomicina a partir de um sistema de liberação de geleificação *in situ* utilizando P407 e aditivos como HPMC e HPC. Observaram então que a adição de HPC levou a um retardo na liberação do fármaco. Porém, o *lagtime* da formulação contendo P407 foi 4 vezes menor que o obtido para a solução saturada, demonstrando que de alguma maneira o polímero aumenta a interação entre os fármacos e os constituintes do estrato córneo.

Esta interação se deve às características físico-químicas do Poloxamer P407, que é um copolímero em blocos não iônico composto de polioxietileno-polipropileno que apresenta uma atividade surfactante e de fórmula química (EO)₉₉(PO)₆₅(EO)₉₉ (RUIZ *et al*, 2007). P407 é mais solúvel em água fria como um resultado do aumento da solvatação e das ligações de hidrogênio em baixas temperaturas (GILBERT *et al*, 1986). A gelificação térmica reversível é uma característica interessante da solução aquosa contendo de 20 a 30% p/p de P407, isto é, são líquidas em baixas temperaturas de 4 a 5°C e géis a temperatura ambiente (JØRGENSEN *et al*, 1997). Geralmente, co-solventes, como etanol e propilenoglicol (PPG), são adicionados a formulações para facilitar a dissolução de fármacos hidrofóbicos. Esses co-solventes podem alterar as temperaturas de transição e as características dos géis (MALMSTEM & LINDMAN, 1992). Esses copolímeros formam micelas monomoleculares quando em baixas concentrações, porém altas concentrações levam a formação de agregados multimoleculares que consistem de um núcleo central hidrofóbico com suas cadeias de polioxietilenos hidrofílicas viradas para o meio externo (ESCOBAR-CHAVES *et al*, 2006). Essa característica micelar permite a incorporação de fármacos hidrofílicos no ambiente exterior e fármacos hidrofóbicos particionados dentro das micelas. Geralmente, sob condições em que o gel não é dissolvido no meio, o sistema mostra

um perfil de liberação de Higuchi e uma diminuição do coeficiente do fármaco no gel com o aumento do conteúdo de P407 na formulação como uma consequência do aumento da viscosidade e rigidez do gel. Ruiz e colaboradores (2007) demonstraram que a permeação do ativo a partir das micelas do poloxamer depende das características físico-químicas do fármaco, do veículo e da barreira córnea. Devido à atividade surfactante do P407, o mesmo apresenta a habilidade de alterar a barreira lipídica na camada córnea e aumentar a permeabilidade na pele.

O menor coeficiente de permeação observado na utilização do gel de HPC também pode ser devido a sua maior viscosidade de $4,34 \times 10^3$ cps em relação ao gel de P407, que obteve a viscosidade de 312 cps. Alguns fatores podem influenciar teoricamente no efeito do agente geleificante na permeação de fármacos, dentre eles estão as propriedades reológicas do gel, a interação química entre o agente geleificante e os fármacos e a interação do polímero com a membrana biológica. Gallagher e colaboradores (2003) preparam géis contendo HPC e Carbosil® de modo que ambos tivessem as mesmas características reológicas. Em seguida, testaram a liberação de ketoprofeno dessas formulações observando uma grande diferença na liberação do fármaco entre as duas formulações. O gel de HPC apresentou uma liberação quase duas vezes maior que a do Carbosil®, comprovando a teoria que a interação entre o fármaco e o agente geleificante é tanto ou mais relevante que a viscosidade da formulação na liberação. O aumento da viscosidade também não se mostrou significativo na permeação de furosemida através da pele, quando Agyralides, Dallas e Rekkas (2004) fizeram um estudo usando design fatorial de 3^3 para avaliar o efeito do tipo e concentração de promotor de permeação e a concentração de HPC. Observaram que a concentração de agente geleificante não afetou significativamente a permeação transdérmica do fármaco, em outras palavras, a viscosidade do gel, dentro do estudado, não influenciou significativamente a permeação da furosemida através da membrana. Além disso, os polímeros utilizados são de caráter não iônico (PILLAI & PANCHAGNULA, 2003; BABU & PANDIT, 2005). Sendo assim, descarta-se a hipótese da interação iônica entre os fármacos e os polímeros, como foi observado por Babu e Pandit (2005) que testaram a permeação do bupranolol (BPL) utilizando polímeros não iônicos (HPC, HPMC) e aniônicos (CMC). Observaram então que a liberação de BPL a

partir dos géis com polímeros não iônicos foi muito maior que a de polímeros aniônicos, concluindo que o fármaco, se ionizado, pode se complexar com os polímeros retardando assim sua liberação da formulação, como o observado neste estudo.

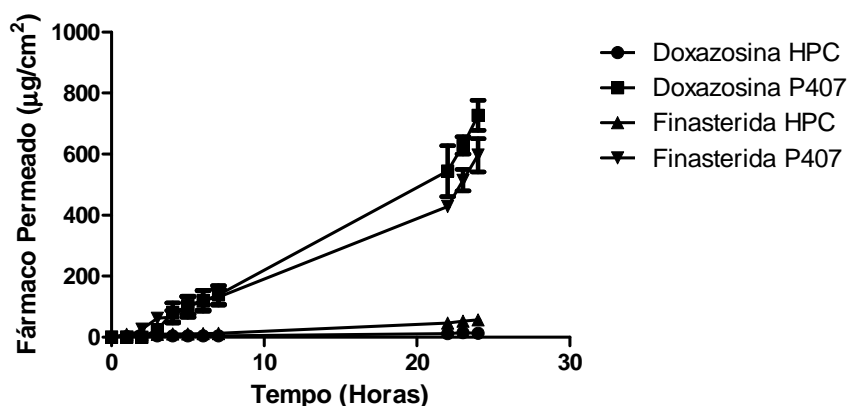


Figura 33: Perfil de permeação *in vitro* de Doxazosina base e Finasterida nas formulações de géis contendo Propilenoglicol e Azona® 3% p/p com os polímeros Hidroxipropilcelulose (HPC) e Poloxamer 407 (P407). $Q \pm DP$; $n = 3$

Tabela 19 – Fluxo, *lag time* e Coeficiente de Permeação das permeações *in vitro* da finasterida e doxazosina base na avaliação do efeito do agente gelificante ($n=3$).

Formulação	FIN J ($\mu\text{gcm}^{-2}\text{h}^{-1}$)	FIN T_{lag} (h)	FIN P (cmh^{-1})	DB J ($\mu\text{gcm}^{-2}\text{h}^{-1}$)	DB T_{lag} (h)	DB P (cmh^{-1})
Hidroxipropilcelulose Gel (HPC)	$2,20 \pm 0,53$	$2,97 \pm 0,62$	$0,314 \pm 0,020$	$0,48 \pm 0,11$	$4,60 \pm 1,35$	$0,76 \pm 0,02$
Poloxamer 407 Gel (P407)	$23,09 \pm 1,36$	$1,01 \pm 0,59$	$1,36 \pm 0,080$	$30,18 \pm 4,69$	$1,97 \pm 0,53$	$7,54 \pm 0,090$

FIN – Finasterida; DB – Doxazosina Base; J – Fluxo; T_{lag} – *Lag Time*; P – Coeficiente de Permeação.

A interação entre os componentes da formulação e o estrato córneo parece ser a causa principal para os diferentes fluxos de permeação observados. As diferenças na natureza do veículo, por exemplo, sua hidrofiliicidade, além da tortuosidade e construção da rede do gel, afetam a ligação do fármaco ao veículo e, conseqüentemente, a taxa de liberação. A habilidade da água em aumentar a difusão

dos fármacos através da pele tem sido associada a sua interação com os grupos polares dos lipídeos do estrato córneo (LUSIANA & MÜLLER-GOYMAN, 2011). Essa interação desfaz o empacotamento lipídico e proporciona maiores espaços para a difusão. Portanto, as formulações de P407 apresentam maior conteúdo aquoso que as formulações de HPC e, por isso, apresentam um maior fluxo de permeação. O mesmo foi observado por Lusiana e Müller-Goymann (2011) que compararam diferentes formulações transdérmicas de cloridrato de terbinafina, sendo uma delas composta por P407. Observaram que o fluxo de permeação das formulações contendo P407 foi superior às que não o continham, assim como sua acumulação no estrato córneo. Esse aumento apresentado pela formulação contendo P407 parece estar associado a sua característica mais hidrofílica que as demais formulações. A partir do conhecimento de que o estrato córneo apresenta 4 transições endotérmicas (T1, T2, T3 e T4) quando aquecido a 120 °C (BARRY, 1987), pode-se estudar o efeitos de diversas substâncias sobre a fluidização dos lipídeos da pele através da observação do deslocamento desses picos. Winkler e Müller-Goymann (2005) avaliou a interação de uma formulação de P407 contendo ácido 5-aminolevulínico com o estrato córneo utilizando DSC. Observaram que a formulação levou a uma redução das temperaturas das transições endotérmicas relevantes do estrato córneo de 8-10 °C, constatando assim que os altos fluxos de permeação encontrados para a mesma formulação poderiam ser devido a interação entre o polímero e a camada córnea. Portanto, o maior coeficiente de permeação observado para o gel contendo P407 se deve a sua capacidade de levar a fluidização dos lipídeos do estrato córneo, permitindo a absorção mais elevada dos fármacos.

6. Conclusão

Foi possível preparar e avaliar a utilização da CD como nanossistema de liberação de fármaco com aplicabilidade no incremento de estabilidade da CLOR e na permeação transdérmica da DOX e FIN.

Os complexos de inclusão de CLOR e CD foram caracterizados e foi possível determinar a proporção molar e o método mais indicado para a produção dos mesmos. Além disso, observou-se que a inclusão da CLOR na cavidade da CD não alterou sua estrutura química, nem a sua atividade bactericida/fungicida quando testado com cepas de *S. mutans* e *C. albicans*, viabilizando seu uso no tratamento de doenças periodontais. Verificou-se ainda, que a inclusão da molécula de CLOR na cavidade da β -CD leva a um aumento na sua estabilidade química quando submetidos a um estudo de estabilidade acelerada ($40^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ e $75\%\pm 5\%$ UR). Assim como, que as CD substituídas levam a um aumento na estabilidade devido ao seu potencial efeito estérico diminuindo as reações de degradação do fármaco.

Os complexos de inclusão de FIN e HP- β -CD foram caracterizados e obteve-se a proporção molar adequada e sua constante de estabilidade para sua formação através da análise do diagrama de fases. A mesma análise não foi possível para os complexos de DOX e HP- β -CD, pois o diagrama de fases foi do tipo A_N , o qual não pode ser determinada sua constante de estabilidade. A permeabilidade dos fármacos foi avaliada em formulações avaliando o efeito do uso de diferentes tipos de promotores de permeação e observou-se que a Azona® 3% (p/p) levou a um coeficiente de permeação mais elevado que os demais promotores testados. Portanto, avaliou-se o efeito da concentração na Azona® na permeabilidade de ambos os fármacos, observando que não havia diferença estatística entre as concentrações de 3 e 5% (p/p). Por fim, foi avaliado o efeito do agente gelificante na permeação dos fármacos, observando-se que o P407 levou a um coeficiente de permeação mais elevado que o HPC, e uma diminuição do *lagtime*, decorrente de sua característica anfífila e micelar que leva a uma maior interação da formulação com os constituintes da pele.

7. Perspectivas

A avaliação de outras potenciais vantagens da utilização dos complexos de inclusão de CLOR e CD pode ser realizada, como a avaliação do mascaramento do sabor através de testes sensoriais utilizando voluntários, ou avaliação do incremento do tempo de permanência da CLOR na cavidade oral quando incluída na CD em ensaios *in vivo*.

Estudos aprofundados de reologia e otimização da formulação de géis podem ser realizados utilizando outros agentes geleificantes, a fim de estudar o perfil de permeação transdérmica da FIN e DOX. Ensaios de irritação cutânea e futuros ensaios *in vivo* deverão ser realizados para futura aplicação terapêutica das formulações desenvolvidas.

8. Referências Bibliográficas

ADAMS, D.; ADDY, M. **Mothrinses**. *Advances in Dental Research*, v. 8, p. 291-301, 1994.

ASBAHR, A. C. C.; FRANCO, L.; BARISON, A.; SILVA, C. W. P.; FERRAZ, H. G.; RODRIGUES, L. N. C. **Binary and ternary inclusion complexes of finasteride in HP β CD and polymers: Preparation and characterization**. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, v. 17 (7), p. 2718-2723, 2009

AGYRALIDES, G. G.; DALLAS, P. P.; REKKAS, D. M. **Development and in vitro evaluation of furosemide transdermal formulations using experimental design techniques**. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 281 (1-2), p. 35-43, 2004.

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. **Pharmaceutics: the design and manufacture of medicines**. 3^a Edição; New York: Churchill Livingstone, 2007.

BABU, R. J.; PANDIT, J. K. **Effect of penetration enhancers on the transdermal delivery of bupranolol through rat skin**. *Drug Delivery: Journal of Drug Delivery and Targeting of Therapeutic Agents*, v. 12 (3), p. 165-169, 2005.

BARRY, B. W. **Dermatological Formulations: Percutaneous Absorption**. Taylor & Francis, 1983.

BARRY, B. W. **Mode of action of penetration enhancers in human skin**. *Journal of Controlled Release*, v. 6, p. 85-97, 1987.

BASCONES, A.; MORANTES, S. **Antisépticos orales: Revisión de la literatura y perspectiva actual.** *Avances em Periodoncia*, v. 18 (1), 2006.

BASRANI, B.R.; MANEK, S.; SODHI, R. N, S.; FILLERY, E.; MANZUR, A. **Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate.** *Journal of Endoontics*, v. 33(8), p.966–969, 2007.

BENDER, M. L.; KOMIYAMA, M. **Cyclodextrin Chemistry.** Michigan, Springer-Verlag, 1978.

BONESVOLL, P.; LÖKKEN, P.; RÖLLA, G.; PAUS, P. N. **Retention of chlorhexidine in the human oral cavity after mouth rinses.** *Archives of Oral Biology*, v. 19 (3), p. 209-212, 1974.

BOSCH, R. J. L. H.; GRIFFITHS, D. J.; BLOM, J. H. M.; SCHROEDER, F. H. **Treatment of benign prostatic hyperplasia by androgen deprivation: Effects on prostate size and urodynamic parameters.** *Journal of Urology*, v. 141 (1), p. 68-72, 1989.

BOUNOURE, F.; LAHIANI-SKIBA, M.; BARBOT, C.; SUGHIR, A.; MALLET, E.; JEZEQUEL, S.; DIDIER, L.; ARNAUD, P.; SKIBA, M. **Effect of partially methylated β cyclodextrin on percutaneous absorption of metopimazine.** *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, v. 57 (1-4), p. 191-195, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RE nº 1, de 29 de julho de 2005. Autorizar ad referendum, a publicação do **Guia para a Realização de Estudos de Estabilidade**, em anexo. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 1 ago. 2005. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/e-legis/>.14 jan 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Determinar a publicação do **“Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos”** anexo. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 2 jun. 2003. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/e-legis/>.14 jan 2013.

CAINE, M.; PERLBERG, S.; MERETYK, S. **A placebo-controlled double-blind study of the effect of phenoxybenxamine in benign prostatic obstruction.** *British Journal of Urology*, v. 50 (7), p. 551-554, 1978.

CHAPPLE, C. **Overview of Evidence for Contemporary Management of Lower Urinary Tract Symptoms Presumed Due to Benign Prostatic Hyperplasia in Males.** *European Urology Supplements*, v. 9 (4), p. 482-485, 2010.

COOPER, E. R. **Increased skin permeability for lipophilic molecules.** *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 73 (8), p. 1153-1156, 1984.

CORTÉS, M. E.; SINISTERRA, R. D.; AVILA-CAMPOS, M. J.; ROCHA, R. G. **The chlorhexidine:β-cyclodextrin inclusion compound: Preparation, characterization and microbiological evaluation.** *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, v. 40 (4), p. 297-302, 2001.

CURDY, C.; KALIA, Y. N.; GUY, R. H. **Non-invasive assessment of the effects of iontophoresis on human skin in-vivo.** *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 53 (6), p. 769-777, 2001.

DAS, N. G.; DAS, S. K. **Controlled-release of oral dosage forms.** *Formulation, Fill & Finish – Pharmaceutical Technology*, v. 27, p. 10-16, 2003.

DAVIS, M. E.; BREWSTER, M. E. **Cyclodextrin-based pharmaceuticals: Past, present and future.** *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 3 (12), p. 1023-1035, 2004.

DENADAI, A. M. L.; TEIXEIRA, K. I.; SANTORO, M. M.; PIMENTA, A. M. C.; COSTÉS, M. E.; SINISTERRA, R. D. **Supramolecular self-assembly of β-cyclodextrin: an effective carrier of the antimicrobial agent chlorhexidine.** *Carbohydrate Research*, v. 342 (15), p. 2286-2296, 2007.

DODZIUK, H. **Cyclodextrin and their complexes: Chemistry, analytical methods, applications.** 1a Edição; Weinheim; WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2006.

DOUGLASS, M. A.; LIN, J. C. **Update on the treatment of benign prostatic hyperplasia.** *Formulary*, v. 40 (2), 50-64, 2005.

DO CARMO, F. A. **Preparo e avaliação de formulações transdérmicas de doxazosina para o tratamento da hiperplasia prostática benigna.** Rio de Janeiro, 2011. Tese de Doutorado (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

DUBRUL, E. L. **Anatomia oral.** 8ª ed. São paulo: Artes medicas, 1991.

DUCHÊNE, D.; WOUESSIDJEW, D.; PONCHEL, G. **Cyclodextrins and carrier systems.** *Journal of Controlled Release*, v. 62 (1-2), p. 263-268, 1999.

EDWARDS, J. L. **Diagnosis and management of benign prostatic hyperplasia.** *American Family Physician*, v. 77 (10), p. 1403-1413, 2008.

ELLEPOLA, A. N. B.; SAMARANAYAKE, L. P. **Investigative Methods for Studying the Adhesion and Cell Surface Hydrophobicity of Candida Species: An Overview.** *Microbial Ecology in Health & Disease*, v. 13, p. 46-54, 2001.

ERCEG, M.; VERTZONI, M.; CERÍĆ, H.; DUMIĆ, M.; CETINA-ČIŽMEK, B.; REPPAS, C. **In vitro vs. canine data for assessing early exposure of doxazosin base and its mesylate salt.** *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 80 (2), p. 402-409, 2012.

ESCOBAR-CHÁVEZ, J. J.; LÓPEZ-CERVANTES, M.; NAÏK, A.; KALIA, Y. N.; QUINTANAR-GUERREO, D.; GANEM-QUINTANAR, A. **Applications of thermo-reversible pluronic F-127 gels in pharmaceutical formulations.** *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, v. 9 (3), p. 339-358, 2006.

FARDAL, O.; TURNBULL, R. S. **A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry.** *Journal of American Dental Association*, v.112(6), p. 863-869, 1986.

FRANCO, C. F.; PATARO, A. L.; SOUZA, L. C. R.; SANTOS, V. R.; COSTÉS, M. E.; SINISTERRA, R. D. **In vitro Effects of a Chlorhexidine Controlled Delivery System.** *Artificial Organs*, v. 27 (5), p. 486-491, 2003.

GALLAGHER, S. J.; TROTTE, L.; HEARD, C. M. **Ketoprofen: Release from, permeation across and rheology of simple gel formulation that simulate increasing dryness.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 268 (1-2), p. 37-45, 2003.

GALLARATE, M.; GASCO, M. R.; TROTTA, M.; CHETONI, P.; SAETTONE, M. F. **Preparation and evaluation in vitro of solutions and o/w microemulsions containing levobunolol as ion-pair.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 100 (1-3), p. 219-225, 1993.

GILBERT, J. C.; HADGRFT, J.; BYE, A.; BROOKES, L. G. **Drug release from Pluronic F-127 gels.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 32 (2-3), p. 223-228, 1986.

GIORDANO, F.; NOVAK, C.; MOYANO, J. R. **Thermal analysis of cyclodextrins and their inclusion compounds.** *Termochimica Acta*, v. 380 (2), p. 123-151, 2001.

GIUNCHEDI, P.; JULIANO, C.; GAVINI, B.; COSSU, M.; SORRENTI, M. **Formulation and in vivo evaluation of chlorhexidine buccal tablets prepared using drug-loaded chitosan microspheres.** *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 53, p. 233-239, 2001.

GLASSMAN, D. T.; CHON, J. K.; BORKOWSKI, A.; JACOBS, S. C.; KYPRIANOU, N. **Combined effect of terazosin and finasteride on apoptosis, cell proliferation, and transforming growth factor- β expression in benign prostatic hyperplasia.** *Prostate*, v. 46 (1), p. 45-51, 2001.

GORMLEY, G. J. **Finasteride: A review.** *Biomedicine and Pharmacotherapy*, v. 49 (7-8), p. 319-324, 1995.

GORMLEY, G. J.; STONER, E.; RITTMASER, R. S.; GREGG, H.; THOMPSON, D. L.; LASSETER, K. C.; VLASSES, P. H. STAIN, E. A. **Effects on finasteride (MK-906), a 5 α -reductase inhibitor, on circulating androgens in male volunteers.** *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v.70 (4), p. 1136-1141, 1990.

GOULD, S.; SCOTT, C. **2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD): A toxicology review.** *Food and Chemical Toxicology*, v. 43 (10), p. 1451-1459, 2005.

GRČMAN, M.; VREČER, F.; MEDEN, A. **Some physico-chemical properties of doxazosin mesylate polymorphic forms and its amorphous state.** *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 68 (2), p. 373-387, 2002.

GUIMARÃES, A. N. **Impactos da utilização de diferentes critérios clínicos diagnósticos na prevalência, associação causal e extensão da doença periodontal.** Minas Gerais, 112 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Periodontia, Universidade Federal de Minas Gerais, 2005.

GUTHRIE, R. **Doxazosin for benign prostatic hyperplasia in primary care.** *Clinical Therapeutics*, v. 19 (6), p. 1269-1277, 1997.

GUYTON, A. C. D. **Fisiologia Médica.** 10^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

HEDGES, A. R. **Industrial applications of cyclodextrins.** *Chemical Reviews*, v. 98, p. 2035–2044, 1998.

HELMS, J. A.; DELLA-FERA, M.A.; MOTT, A. E.; FRANK, M. E. **Effects of chlorhexidine on human taste perception.** *Archives of Oral Biology*, v. 40, p. 913-920, 1995.

HIGUCHI, T.; CONNORS, L. A. **Phase-solubility techniques.** *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation*, v. 4, p. 117-212, 1965.

HIRAYAMA, F.; UEKAMA, K. **Cyclodextrin-based controlled drug release system.** *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 36 (1), p. 125-141, 1999.

HOELGAARD, A.; MØLLGAARD, B. **Dermal drug delivery – Improvement by choice of vehicle of drug derivative.** *Journal of Controlled Release*, v. 2 (0), p. 111-120, 1985.

ISAACS, J. T. **Prostate stem cells and benign prostatic hyperplasia.** *Prostate*, v. 68 (9), p. 1025-1034, 2008.

JARHO, P.; VELDE, D.; STELLA, V. J. **Cyclodextrin-catalyzed deacetylation of spironolactone is pH and cyclodextrin dependent.** *Journal of Pharmaceutical Science*, v. 89 (2), p. 241-249, 2000.

JAVADZADEH, Y.; SHOKRI, J.; HALLAJ-NEZHADI, S.; HAMISHEHKAR, H.; NOKHODCHI, A. **Enhancement of percutaneous absorption of Finasteride by cosolvents, cosurfactant and surfactants.** *Pharmaceutical Development and Technology*, v. 15 (6), p. 619-625, 2010.

JØRGENSEN, E. B.; HVIDT, S.; BROWN, W.; SCHILLÉN, K. **Effects of salts on the micellization and gelation of a triblock copolymer studied by rheology and light scattering.** *Macromolecules*, v. 30 (8), p. 2355-2364, 1997.

KAYE, B.; CUSSANS, N. J.; FAULKNER, J. K. **The metabolism and kinetics of doxazosin in man, mouse, rat and dog.** *British Journal of Clinical Pharmacology*, v. 21 (1), p. 19S-25S, 1986.

KIM, H. W.; MOON, D. G.; KIM, H. M.; HWANG, J. H.; KIM, S. C.; NAM, S. G.; PARK, J. T. **Effect of shifting from combination therapy to monotherapy of α -blockers or 5 α -reductase inhibitors on prostate volume and symptoms in patients with benign prostatic hyperplasia.** *Korean Journal of Urology*, v. 52 (10), p. 681-686, 2011.

KIM, M. S.; KIM, J.; PARK, H. J.; LEE, S.; WOO, J.; HWANG, S. **Preparation and characterization of simvastatin/hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex using supercritical antisolvent (SAS) process.** *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 66 (3), p. 413-421, 2007.

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 (11), p. 1172-1177, 2006.

KOONTONGKAEW, S., JITPUKDEEBODINTRA, S. **Interaction of chlorhexidine with cytoplasmic membranes os streptococcus mutans GS-5.** *Caries Research*, v. 29(5), p.413-417, 1995.

KOONTZ, J. L.; MARCY, J. E. **Formation of Natamycin:Cyclodextrin Inclusion Complexes and Their Characterization.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 51 (24), p. 7106-7110, 2003.

KOROLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J. H. **Química Farmacêutica.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.

KRISTMUNDSÖTTIR, T.; LOFTSSON, T.; HOLBROOK, W. P. **Formulation and clinical evaluation of a hydrocortisone solution for the treatment of oral disease.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 139 (1-2), p. 63-68, 1996.

LASSERRE, R.; GUO, X. J.; CONCHONAUD, F.; HAMON, Y.; HAWCHAR, O.; BERNARD, A.; SOUDJA, S. M.; LENNE, P.; RIGNEAULT, H.; OLIVE, D.; BISMUTH, G.; NUNÈS, J. A.; PAYRASTRE, B.; MARGUET, D.; HE, H. **Raft nanodomains contribute to Akt/PKB plasma membrane recruitment and activation.** *Nature Chemical Biology*, v. 4 (9), p. 538-547, 2008.

LI, J.; KIM, J. **Molecular profiles of finasteride effects on prostate carcinogenesis.** *Cancer Prevention Research*, v. 2 (6), p. 518-524, 2009.

LIÑARES, J.; MARTÍN-HERRERO, J. E. **Bases farmacomicrobiológicas del tratamiento antibiótico de las enfermedades periodontales y periimplatarias.** *Avances en Periodoncia e Implantología*, v. 15, p. 139-147, 2003.

LOESCHE, W. J. **Cárie dental: uma infecção tratável.** Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1993.

LOFTSSON, T.; BREWSTER, M. E. **Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. Drug solubilization and stabilization.** *Journal of Pharmaceutical Science*, v. 85 (10), p. 1017-1025, 1996.

LOFTSSON, T.; DUCHÊNE, D. **Cyclodextrins and their pharmaceutical applications.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 329 (1-2), p. 1-11, 2007.

LOFTSSON, T.; FRIORIKSDOTTIR, H.; INGVARSDOTTIR, G.; JONSDOTTIR, B.; SIGUROARDOTTIR, A. M. **The influence of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin on diffusion rates and transdermal delivery of hydrocortisone.** *Drug development and Industrial Pharmacy*, v. 20 (9), p. 1699-1708, 1994.

LUSIANA, C.; MÜLLER-GOYMANN, C. C. **Preparation, characterization, and in vitro permeation study of terbinafine HCl in poloxamer 407 – based thermogelling formulation for topical application.** *AAPS PharmSciTech*, v. 12 (2), p. 496-506, 2011.

MADERSBACHER, S.; MARSZALEK, M. **Benign prostate hyperplasia. Success and limitations of pharmacological therapy.** *Der Internist*, v. 48 (10), p. 1157-1164, 2007.

MALMSTEN, M.; LINDMAN, B. **Self-assembly in aqueous block copolymer solutions.** *Macromolecules*, v. 25 (20), p. 5440-5445, 1992.

MANDEL, I. D. **The functions of saliva.** *Journal Dental Research*, V.66, p. 623-627, 1987.

MÁSSON, M.; LOFTSSON, T.; MÁSSON, G.; STEFÁNSSON, E. **Cyclodextrins as permeation enhancers: Some theoretical evaluations and in vitro testing.** *Journal of Controlled Release*, v. 59 (1), p. 107-118, 1999.

MATSUDA, H.; ARIMA, H. **Cyclodextrins in transdermal and rectal delivery.** *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 36 (1), p. 81-99, 1999.

MCCONNELL, J. D.; BRUSKEWITZ, R.; WALSH, P.; ANDRIOLE, G.; LIEBER, M.; LOGAN HOLTGREWE, H.; ALBERTSEN, P.; ROEHRBORN, C. G.; NICKEL, J. C.; WANG, D. Z.; TAYLOR, A. M.; WALDSTREICHER, J. **The effect of finasteride on the risk of acute urinary retention and the need for surgical treatment among men with benign prostatic hyperplasia.** *New England Journal of Medicine*, v. 338 (9), p. 557-563, 1998.

MCCONELL, J. D.; ROEHRBORN, C. G.; BAUTISTA, O. M.; ANDRIOLE Jr, G. L.; DIXON, C. M.; KUSEK, J. W.; LEPOR, H.; MCVARY, K. T.; NYBERG Jr, L. M.; CLARKE, H. S.; CRAWFORD, E. D.; DIOKNO, A.; FOLEY, J. P.; FOSTER, H. E.; JACOBS, S. C.; KAPLAN, S. A.; KREDER, K. J.; LIEBER, M. M.; LUCIA, M. S.; MILLER, G. J.; MENON, M.; MILAM, D. F.; RAMSDELL, J. W.; SCHENKMAN, N. S.; SLAWIN, K. M.; SMITH, J. A. **The Long-Term Effect of Doxazosin, Finasteride, and Combination Therapy on the Clinical Progression of Benign Prostatic Hyperplasia.** *New England Journal of Medicine*, v. 349 (25), p. 2387-2398, 2003.

MILLER, S. W.; MILLER, M. S. **Urological disorders in men: Urinary incontinence and benign prostatic hyperplasia.** *Journal of Pharmacy Practice*, v. 24 (4), p. 374-385, 2011.

MORSODORF, J.P.; GRAFE, I. **Polymorphic form of doxazosin mesylate (Form I).** Em *UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE GRANTED PATENT*, 2000.

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.

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 (4), p. 365-372, 2000.

MURA, P.; MAESTRELLI, F.; CIRRI, M. **Ternary systems of naproxen with hydroxypropyl- β -cyclodextrin and aminoacids.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 260 (2), p. 293-302, 2003.

NEWBRUN, E. **Agentes anticáries e antiplaca: antigengivite. Farmacologia e terapêutica para dentistas.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.

ONG, J. K.; SUNDERLAND, V. B.; MCDONALD, C. **Influence of hydroxypropyl beta-cyclodextrin on the stability of benzylpenicillin in chloroacetate buffer .** *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 49, p. 617-621, 1997.

PANCHAGNULA, R.; SALVE, P. S.; THOMAS, N. S.; JAIN, A. K.; RAMARAO, P. **Transdermal delivery of naloxone: Effect of water, propylene glycol, ethanol and their binary combinations on permeation through rat skin.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 219 (1-2), p. 95-105, 2001.

PAOLONE, D. R. **Benign Prostatic Hyperplasia.** *Clinics in Geriatric Medicine*, v. 26 (2), p. 223-239, 2010.

PATEL, A. K.; CHAPPLE, C. R. **Benign prostatic hyperplasia: Treatment in primary care.** *British Medical Journal*, v. 333 (7567), 535-539, 2006.

PENENBERG, D.; CHUNG, M.; WALMSLEY, P.; VASHI, V. **The effects of hepatic impairment on the pharmacokinetics of doxazosin.** *Journal of Clinical Pharmacology*, v. 40 (1), p. 67-73, 2000.

PEZZINI, B. R.; SILVA, M. A. S.; FERRAZ, H. G. **Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: Sistemas monolíticos e multiparticulados.** *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 43 (4), p. 491-502, 2007.

PILLAI, O.; PANCHAGNULA, R. **Transdermal delivery of insulin form poloxamer gel: Ex vivo and in vivo skin permeation studies in rat using iontophoresis and chemical enhancers.** *Journal of Controlled Release*, v. 89 (1), p. 127-1240, 2003.

PRISTA, L. N.; MORGADO, R. M. R.; ALVES, A. C. **Tecnologia Farmacêutica.** 6ª ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2002.

RAO, Y.; ZHENG, F.; ZHANG, X.; GAO, J.; LIANG, W. **In vitro percutaneous permeation and skin accumulation of finasteride using vesicular ethosomal carriers.** *AAPS PharmSciTech*, v. 9 (3), p. 860-865, 2008.

RASIMICK, B. J.; NEKICH, M.; HLADEK, M. M.; MUSIKANT, B. L.; DEUTSCH, A. S. **Interaction between chlorhexidine digluconate and EDTA.** *Journal of Endodontic*, v. 34 (12), p. 1521–1523, 2008.

RUIZ, M. A.; CLARES, B.; MORALES, M. E.; GALLARDO, V. **Preparation, rheological study, and characterization of an organogel as a system for transdermal release of active principles.** *Pharmaceutical Development and Technology*, v. 12 (6), p. 637-644, 2007.

SÁ-BARRETO, L. C. L.; CUNHA-FILHO, M. S. S. **Ciclodextrina: Importante excipiente farmacêutico funcional.** *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 27 (4), 629-636, 2008.

SAUSVILLE, J.; NASLUND, M. **Benign prostatic hyperplasia and prostate cancer: An overview for primary care physicians.** *International Journal of Clinical Practice*, v. 64 (13), p. 1740-1745, 2010.

SCHEUPLEIN, R.J.; BLANK, I. H. **Permeability of the skin.** *Physiological Reviews*, v. 51 (4), p. 702-747, 1971.

SCHILIT, S.; BENZEROUAL, K. E. **Silodosin: A selective α -adrenergic receptor antagonist for the treatment of benign prostatic hyperplasia.** *Clinical Therapeutics*, v. 31 (11), p. 2489-2502, 2009.

SHERMAN, J. **Benign Prostatic hyperplasia.** Em: *Pharmacotherapy Self-Assessment Program*. 4a Edição, Lenexa, American College of Clinical Pharmacy, 2003.

SILVA, L. F. J. S. **Nova associação de digluconato de clorexidina e cloridrato de lidocaína em gel urogenital. Desenvolvimento farmacotécnico, avaliação da qualidade e da estabilidade da formulação.** Rio de Janeiro, 2009. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

SINGH, U. V.; AITHAL, K.S.; UDUPA, N. **Inclusion complex of plumbagin with betacyclodextrin as evidenced by spectral data and molecular modelling.** *Pharmazie*, v. 53 (3), p. 208-210, 1998.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIELMAN, T. A. **Principles of Instrumental Analyses.** 6a Edição; Philadelphia; Saunders College Publishing, 2007.

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

SONG, L. X.; TENG, C. F.; YANG, Y. **Preparation and Characterization of the Solid Inclusion Compounds of α -, β -Cyclodextrin with Phenylalanine (D-, L- and DL-Phe).** *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, v. 54 (3-4), p. 221-232, 2006.

STEVENSON, C. L.; SANTINI, J. T.; LANGER, R. **Reservoir-based drug delivery systems utilizing microtechnology.** *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 64 (14), p. 1590-1602, 2012.

STOTT, P. W.; WILLIAMS, A. C.; BARRY, B. W. **Mechanistic study into the enhanced transdermal permeation of a model beta-blocker, propranolol, by fatty acids: A melting point depression effect.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 219 (1-2), p. 161-176, 2001.

SWEETMAN, S. C. **Martindale: The Complete Drug Reference.** 32a Edição; London: Pharmaceutical Press, 1999.

SZENTE, L.; SZEJTLI, J. **Highly soluble cyclodextrin derivatives: Chemistry, properties and trends in development.** *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 36 (1), p. 17-28, 1999.

SZETJTLI, J. **Medicinal applications of cyclodextrins.** *Medicinal Research Reviews*, v. 14 (3), p. 353-386, 1994.

TALASAZ, A. H. H.; GHAREMANKHANI, A. A.; MOGHADAM, S. H.; MALESKSHAHI, M. R.; ATYABI, F.; DINARVAND, R. **In situ gel forming systems of poloxamer 407 and hydroxypropyl cellulose or hydroxypropyl methyl cellulose mixtures for controlled delivery of vancomycin.** *Journal of Applied Polymer Science*, v. 109 (4), p. 2369-2374, 2008.

TORRES, C. R. G.; KUBO, C. H.; ANIDO, A. A.; RODRIGUES, J. R. **Agentes antimicrobianos e seu potencial uso na Odontologia.** *Pós-Grad Rev Fac Odontol São José dos Campos*, V. 3(2), p. 43-52, 2000.

TRUEMAN, P.; HOOD, S. C.; NAYAK, U. S. L.; MRAZEK, M. F. **Prevalence of lower urinary tract symptoms and self-reported diagnosed 'benign prostatic hyperplasia', and their effect on quality of life in a community-based survey of men in the UK.** *BJU International*, v. 83 (4), p. 410-415, 1999.

UEKAMA, K.; HIRAYAMA, F.; IRIE, T. **Cyclodextrin drug Carrier systems.** *Chemical Reviews*, v. 98 (5), p. 2045-2076, 1998.

UEKAMA, K.; OTAGIRI, M. **Cyclodextrins in drug carrier systems.** *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, v. 3 (1), p. 1-40, 1987.

UTSUKI, T.; HIRAYAMA, F.; UEKAMA, K. **Different photodimerization behaviour of tranilast in α -, β - e γ -cyclodextrin complexes: Cavity-size and stoichiometry dependence.** *Journal of Chemical Society, Perkin Transaction*, v. 2 (1), p. 109-114, 1993.

UZUNIAN, A.; BIRNER, E. **Biologia.** 1ª ed. São Paulo: Harbra, 2001.

VAAHTONIEMI, L. H., KARLQVIST, K., ALTONEN, M., RAISANEN, S. **Mouth-rising with chlorhexidine causes a delayed, temporary increase in the levels of oral viridans.** *Acta odontologica Scandinavica*, v.53(4), p. 226-229, 1995.

VASCONCELOS, J. **O uso da clorexidina na prática odontológica.** *Jornal de Assessoria ao Odontologista*, v. 4, p. 27, 2001.

VENKATRAMAN, S.; GALE, R. **Skin adhesives and skin adhesion: 1. Transdermal drug delivery systems.** *Biomaterials*, v. 19 (13), p. 1119-1136, 1998.

VINCENT, J.; HAMILTON, C. A.; REID, J. L. **The cardiovascular effects of trimazosin and prazosin in the rabbit.** *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, v. 13 (8), p. 593-608, 1986.

VYAS, A.; SARAF, S.; SARAF, S. **Cyclodextrin based novel drug delivery systems.** *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, v. 62 (1-2), p. 23-42, 2008.

WANG, S.; LOU, X. **Numerical methods for the estimation of effective diffusion coefficients of 2D controlled drug delivery systems.** *Optimization and Engineering*, v. 11 (4), p. 611-626, 2010.

WANG, X.; BRUSSEAU, M. L. **Solubilization of some low-polarity organic compounds by hydroxypropyl- β -cyclodextrin.** *Environmental Science and Technology*, v. 27 (13), p. 2821-2825, 1993.

WILLIAMS, A. C.; BARRY, B. W. **Penetration enhancers.** *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 56 (5), p. 603-618, 2004.

WINFIELD, A. J.; RICHARDS, R. M. **Pharmaceutical practices.** 2^a Edição. Churchill Livingstone, 1988.

WINKLER, A.; MÜLLER-GOYMANN, C. C. **The influence of topical formulation on the permeation of 5-aminolevulinic acid and its n-butyl ester through excised human stratum corneum.** *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 60 (3), p. 427-437, 2005.

YALLAPU M.M.; JAGGI M.; CHAUHAN S.C. **Beta-Cyclodextrin-curcumin selfassembly enhances curcumin delivery in prostate cancer cells.** *Colloids Surf B Biointerfaces*, v.79(1), p.113–125, 2010.

YANG, J.; WILEY, C. J.; GODWIN, D. A.; FELTON, L. A. **Influence of hydroxypropyl β cyclodextrin on transdermal penetration and photostability of avobezone.** *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v, 69 (2), p. 605-612, 2008.

ZANELA, N. L. M., **Influência de bochechos com soluções antimicrobianas na inibição da placa dentária, em crianças.** Tese de doutorado faculdade de odontologia da USP, 1999.

9. Anexos

Parte deste trabalho foi apresentada nos seguintes congressos:

Como trabalho completo:

PUPE, C. G. ; SILVA, L. C. ; MATTOS JUNIOR, A. ; CABRAL, L. M. . Preparation and Characterization of Inclusion Complex Formation Between Chlorhexidine and Beta-Cyclodextrin Derivatives. Praga. Proceedings of the 6th International Conference on Polysaccharides-Glycoscience. Praga: Czech Chemical Society, 2010. p. 69-72.

Como resumo:

PUPE, C. G. ; VILARDI, M. ; MENEZES, J. C. V. ; ROCHA, H. A. ; Sousa, V. P. ; CABRAL, L. M. . Preparation and evaluation of new nanostructured systems for controlling oral pathologies caused by *S. mutans* and *C. albicans*. Washington. 2011 AAPS Annual Meeting and Exposition, 2011.

PUPE, C. G. ; CARMO, F. A. ; MONTEIRO, L. M. ; CABRAL, L. M. . Avaliação da formação de complexo de inclusão de clorexidina-ciclodextrinas. Rio de Janeiro. II Simpósio Interno de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Farmácia da UFRJ, 2009.

PUPE, C. G. ; Sousa, V. P. ; CABRAL, L. M. . Preparação e avaliação de complexos de inclusão entre clorexidina-beta-ciclodextrina e seus derivados. Rio de Janeiro. II Simpósio Interno de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Farmácia da UFRJ, 2009.

PUPE, C. G. ; CABRAL, L. M. . Preparation and Evaluation of Inclusion Complex Formation Between Chlorhexidine and Beta-Cyclodextrin. Ribeirão Preto. 7th International Congress of Pharmaceutical Sciences, 2009.

Artigo completo publicado em periódico:

PUPE, C. G. ; VILARDI, M. ; RODRIGUES, C. R. ; ROCHA, H. A. ; MAIA, L. C. ; Sousa, V. P. ; CABRAL, L. M. . **Preparation and evaluation of antimicrobial activity of nanosystems for the control of oral pathogens.** *International Journal of Nanomedicine*, v. 6, p. 2581-2590, 2011.

Artigo completo submetido a periódico:

PUPE, C.G.; CARMO, F. A.; SOUSA, V. P.; CASTRO, H. C.; RODRIGUES, C. R.; PADULA, C.; SANTI, P.; CABRAL, L. M. **Development of a transdermal system for combination therapy of benign prostatic hyperplasia.** *European Journal of Pharmaceutical Science*.