

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANA CAROLINA CAVAZZIN ASBAHR

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS BINÁRIOS E TERNÁRIOS
DE FINASTERIDA**

Curitiba

2008

ANA CAROLINA CAVAZZIN ASBAHR

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS BINÁRIOS E TERNÁRIOS
DE FINASTERIDA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração Insumos, Medicamentos e Correlatos, Departamento de Farmácia, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Dra. Leticia N. Carpentieri Rodrigues

**Curitiba
2008**

TERMO DE APROVAÇÃO

ANA CAROLINA CAVAZZIN ASBAHR

Título: "Obtenção e caracterização de complexos binários e ternários de finasterida"


Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção de grau de Mestre no Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Paraná, área de concentração Insumos, medicamentos e correlatos.



Profa. Dra. Leticia Norma Carpentieri Rodrigues
Orientadora



Profa. Dra. Silvia Stanisquaski Guterres
Universidade Federal do Rio Grande do Sul



Prof. Dr. Itamar Francisco Andrezza
Universidade Federal do Paraná

Curitiba, 13 de março de 2008.

Aos meus pais, Bárbara e Carlos, meus maiores incentivadores durante toda a realização deste trabalho.

Ao meu avô Luiz (*in memoriam*) pelo papel decisivo na minha educação.

AGRADECIMENTOS

À professora Letícia N. Carpentieri Rodrigues pela dedicação e carinho com que me ajudou a desenvolver este trabalho.

Aos amigos do Herbarium Laboratório Botânico pelo incentivo, apoio e paciência durante a execução deste trabalho, em especial à Dra Anny Trentini, Cristina Beerends, Marianne Martinez, Roberta Ferraro, Danielle Celupi, Alessandra Krug, Joelma Estrada e Gustavo Bertol.

À Luzia Franco pela grande ajuda nos métodos cromatográficos.

À Samira e Rodrigo de Faria pelo apoio e amizade.

À Lalika Araújo pela ajuda em língua inglesa.

À Michelle Georges Issa – IC/USP-SP.

Ao professor Aldo Zarbin – UFPR.

Às professoras Tânia Bonfim e Iara Machado – UFPR.

Ao Departamento de Bioquímica da UFPR.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR.

RESUMO

Ciclodextrinas são conhecidas como bons solubilizantes para vários fármacos, melhorando sua biodisponibilidade quando incorporadas em formulações farmacêuticas. O presente trabalho tem por objetivo formar e caracterizar complexos de inclusão entre um derivado hidroxipropilado de ciclodextrina – a 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD) e um inibidor da 5 α -redutase pouco solúvel em água, a finasterida (FIN), quimicamente a N-(2-metil-2-propil)-oxo-4aza-5 α -androst-1-eno-17B carboxamida, em presença ou ausência de diferentes polímeros (PVP K-30 e quitosana).

Sistemas sólidos FIN/HP β CD, em presença ou ausência de 0,1% (p/p) de PVP K-30 ou 0,3% de quitosana, foram preparados por co-evaporação e liofilização. O estudo de solubilidade de fase foi empregado para investigar as interações entre a FIN e os excipientes em solução aquosa, seja sozinhos ou em combinação. Os complexos binários e ternários de FIN/HP β CD obtidos por co-evaporação e liofilização foram caracterizados por microscopia eletrônica de varredura (SEM), calorimetria exploratória diferencial (DSC) e difração de raios-X (XRD). Por meio da complexação com HP β CD ou HP β CD e polímeros, a solubilidade da FIN em solução aquosa melhorou significativamente. A taxa de dissolução dos complexos FIN/HP β CD foi avaliada e comparada com a do fármaco puro. A taxa de dissolução da FIN dos complexos de inclusão foi mais rápida em relação à FIN pura.

O método de preparação não teve influência nas propriedades físico-químicas dos complexos. Os resultados obtidos sugerem que tanto o método de co-evaporação quanto de liofilização forneceram um grau razoável de amorfização dos sistemas e sugerem a formação de complexos de inclusão reais, binários e ternários de FIN/HP β CD.

Palavras-chave: Finasterida; 2-Hidroxipropil- β -CD; Complexos de inclusão binários e ternários; Diagrama de solubilidade de fase; Microscopia eletrônica de varredura; Calorimetria exploratória diferencial; Difração de raios X; Ensaio de dissolução.

ABSTRACT

Cyclodextrins are known to be good solubility enhancers for several drugs, improving bioavailability when incorporated in pharmaceutical formulations. In this work we intend to assess and characterize the formation of inclusion complexes between a hydroxypropylated derivative of cyclodextrin - 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP β CD) and a poorly water-soluble 5 α -reductase inhibitor, finasteride (FIN), chemically N-(2-methyl-2-propyl)-oxo-4aza-5 α -androst-1-ene-17 β -carboxamide, in presence or absence of different polymers (PVP K-30 and chitosan).

Equimolar FIN/HP β CD solid systems, in presence or the absence of 0,1% (w/v) of PVP K-30 or 0,3% of chitosan were prepared by co-evaporation and freeze-drying methods. Phase-solubility analysis was used to investigate interactions in aqueous solution between FIN and the excipients, either alone or in combination. FIN/HP β CD co-lyophilized and co-evaporated binary and ternary complexes were characterized by scanning electron microscopy (SEM), differential scanning calorimetry (DSC) and X-ray diffractometry (XRD). Through complexation with HP β CD and with HP β CD and polymers, the solubility of FIN in aqueous solution was improved significantly. The dissolution rate of FIN/HP β CD complexes were investigated and compared with that of the pure drug. The dissolution rate of finasteride from the inclusion complexes was more rapid than finasteride alone.

The preparation method did not influenced the physicochemical properties of the complexes. The results obtained suggest that both co-evaporation and freeze-drying methods yield a reasonable degree of amorphous entities and indicated formation of FIN/HP β CD binary and ternary complexes.

Keywords: Finasteride; 2-Hydroxypropyl- β -CD; Binary and ternary inclusion complexes; Phase-solubility diagrams; Scanning electron microscopy; Differential scanning calorimetry; X-ray diffractometry; Dissolution rate.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - APARELHO GENITO-URINÁRIO MASCULINO.....	20
FIGURA 2 - ESTRUTURA DA TESTOSTERONA E DIIDROTESTOSTERONA.....	21
FIGURA 3 - ASPECTO DA PRÓSTATA NORMAL E DA PRÓSTATA AFETADA PELA HIPERPLASIA BENIGNA.....	23
FIGURA 4 - ESTRUTURA DO FÁRMACO FINASTERIDA.....	28
FIGURA 5 - MECANISMO DE AÇÃO DA FINASTERIDA PROPOSTO POR BULL E COLABORADORES (1996).....	30
FIGURA 6 - ESTRUTURA DA CICLODEXTRINA E VISTA LATERAL DO ASPECTO TRONCO-CÔNICO DA MOLÉCULA.....	40
FIGURA 7 - ESTRUTURA DO DERIVADO HPCD. EM DESTAQUE, AS POSIÇÕES DOS GRUPOS SUBSTITUINTES.....	43
FIGURA 8 - ESQUEMA DE FUNCIONAMENTO DE UM DIFRATÔMETRO DE RAIOS-X.....	53
FIGURA 9 - REPRESENTAÇÃO DOS COMPLEXOS FÁRMACO-CD-POLÍMERO EM SOLUÇÃO.....	59
FIGURA 10 - CROMATOGRAMA OBTIDO PARA A FINASTERIDA EM PRESENÇA DE HP β CD.....	69
FIGURA 11 - CURVA ANALITICA EMPREGADA PARA QUANTIFICAÇÃO DA FINASTERIDA NOS ENSAIOS DE SOLUBILIDADE.....	70
FIGURA 12 - CROMATOGRAMA OBTIDO PARA FINASTERIDA NOS ENSAIOS DE DISSOLUÇÃO.....	70
FIGURA 13 - CURVA ANALITICA EMPREGADA PARA QUANTIFICAÇÃO DA FINASTERIDA NOS ENSAIOS DE DISSOLUÇÃO.....	71
FIGURA 14 - DIAGRAMA DE SOLUBILIDADE DE FASE PARA A FINASTERIDA A 25 °C EM PRESENÇA DE HP β CD.....	71

FIGURA 15 - EFEITO DA ADIÇÃO DE DIFERENTES QUANTIDADES DOS POLÍMEROS QUITOSANA E PVP K-30 SOBRE A SOLUBILIDADE DA FINASTERIDA.....	73
FIGURA 16 - DIAGRAMAS DE SOLUBILIDADE DE FASES DA FINASTERIDA EM SOLUÇÃO AQUOSA DE HPβCD NA PRESENÇA OU AUSÊNCIA DE POLÍMEROS QUITOSANA E PVP K-30 A 25 °C.....	73
FIGURA 17 - REGRESSÃO LINEAR DOS DIAGRAMAS DE SOLUBILIDADE DE FASES DA FINASTERIDA EM SOLUÇÃO AQUOSA DE HPβCD NA PRESENÇA OU AUSÊNCIA DE POLÍMEROS QUITOSANA (0,3%) E PVP K-30 (0,1%) A 25 °C.....	74
FIGURA 18 - CURVAS DSC DA FINASTERIDA (FIN), QUITOSANA (CHITOSAN), PVP K-30, HPβCD E DAS MISTURAS FÍSICAS FINASTERIDA/HPβCD (PM1); FINASTERIDA:HPβCD:QUITOSANA (PM2) E FINASTERIDA:HPβCD:PVP K-30 (PM3), OBTIDAS SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE NITROGÊNIO (100 mL.min ⁻¹) E RAZÃO DE AQUECIMENTO DE 10°C min ⁻¹	79
FIGURA 19 - CURVAS DSC DA FINASTERIDA (PADRÃO SECUNDÁRIO DE REFERÊNCIA), QUITOSANA, PVP K-30, HPβCD, COMPLEXOS BINÁRIOS FINASTERIDA:HPβCD OBTIDOS POR LIOFILIZAÇÃO (BL) OU COEVAPORAÇÃO (BC), COMPLEXOS TERNÁRIOS FINASTERIDA:HPβCD:PVP K-30 OBTIDOS POR LIOFILIZAÇÃO (TL2) OU COEVAPORAÇÃO (TC2), E COMPLEXOS TERNÁRIOS FINASTERIDA:HPβCD:QUITOSANA OBTIDOS POR LIOFILIZAÇÃO (TL1) OU COEVAPORAÇÃO (TC1), OBTIDAS SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE NITROGÊNIO (100 mL.min ⁻¹) E RAZÃO DE AQUECIMENTO DE 10°C min ⁻¹	81
FIGURA 20 - DIFRATOGRAMAS OBTIDOS PARA A FINASTERIDA (PADRÃO SECUNDÁRIO DE REFERÊNCIA) E HPβCD, OPERANDO A 40 KV E 40 mA, COM VELOCIDADE DE VARREDURA DE 2 GRAUS/MINUTO (2 THETA).....	82
FIGURA 21 - DIFRATOGRAMAS OBTIDOS PARA A FINASTERIDA (FIN), MISTURA-FÍSICA FINASTERIDA: HPβCD 1:1 (PM1) E SISTEMAS BINÁRIOS FINASTERIDA:HPβCD OBTIDOS POR COEVAPORAÇÃO (BC) E LIOFILIZAÇÃO (BL), OPERANDO A 40 KV E 40 mA, COM VELOCIDADE DE VARREDURA DE 2 GRAUS/MINUTO (2 THETA).....	82

FIGURA 22 - DIFRATOGRAMAS OBTIDOS PARA A FINASTERIDA (FIN); MISTURA-FÍSICA FINASTERIDA:HPβCD:QUITOSANA (PM2) E SISTEMAS TERNÁRIOS OBTIDOS POR COEVAPORAÇÃO (TC1) E LIOFILIZAÇÃO (TL1), OPERANDO A 40 KV E 40 MA, COM VELOCIDADE DE VARREDURA DE 2 GRAUS/MINUTO (2 THETA).....	83
FIGURA 23 - DIFRATOGRAMAS OBTIDOS PARA A FINASTERIDA (FIN), MISTURA-FÍSICA FINASTERIDA:HPβCD:PVP K-30 (PM3) E SISTEMAS TERNÁRIOS OBTIDOS POR COEVAPORAÇÃO (TC2) E LIOFILIZAÇÃO (TL2), OPERANDO A 40 KV E 40 MA, COM VELOCIDADE DE VARREDURA DE 2 GRAUS/MINUTO (2 THETA).....	83
FIGURA 24 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DA FINASTERIDA (A), HPβCD (B), MISTURA FÍSICA FINASTERIDA:HPβCD (1:1) (C); SISTEMAS BINÁRIOS OBTIDO POR COEVAPORAÇÃO (D) E LIOFILIZAÇÃO (E), OBTIDOS EM MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA JEOL MOD. JSM-6360 LV.....	85
FIGURA 25 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DA MISTURA-FÍSICA FINASTERIDA:HPβCD:QUITOSANA (F) E SISTEMAS TERNÁRIOS FINASTERIDA:HPβCD:QUITOSANA OBTIDO POR COEVAPORAÇÃO (G) E LIOFILIZAÇÃO (H), OBTIDOS EM MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA JEOL MOD. JSM-6360 LV.....	86
FIGURA 26 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DA MISTURA-FÍSICA FINASTERIDA: HPβCD:PVP K-30 (I) E SISTEMAS TERNÁRIOS FINASTERIDA:HPβCD: PVP K-30 OBTIDOS POR COEVAPORAÇÃO (J) E POR LIOFILIZAÇÃO (K), OBTIDOS EM MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA JEOL MOD. JSM-6360 LV.....	87
FIGURA 27 - PERFIL DE DISSOLUÇÃO DAS PASTILHAS CONTENDO O FÁRMACO FIANSTERIDA (FIN) E OS COMPLEXOS BINÁRIOS COEVAPORADO (BC) E COLIOFILIZADO (BL); COMPLEXOS TERNÁRIOS COM QUITOSANA COEVAPORADO (TC1) E COLIOFILIZADO (TL1); E COMPLEXOS TERNÁRIOS COM PVP K-30 COEVAPORADO (TC2) E COLIOFILIZADO (TL2).....	89
FIGURA 28 - FOTOGRAFIA MOSTRANDO O ASPECTO DE UMA PASTILHA DURANTE O ENSAIO DE DISSOLUÇÃO.....	89

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – AÇÕES DA TESTOSTERONA E DA DIIDROTESTOSTERONA NO ORGANISMO MASCULINO DURANTE A PUBERDADE E PÓS-PUBERAIS.....	22
TABELA 2 – EMPREGO DAS CDS NA SOLUBILIZAÇÃO DE FÁRMACOS.....	38
TABELA 3 – SOLUBILIDADE E PESO MOLECULAR DE ALGUMAS CICLODEXTRINAS NATURAIS E MODIFICADAS.....	42
TABELA 4 – EXEMPLOS DE MEDICAMENTOS CONTENDO CICLODEXTRINAS COMERCIALIZADOS NO MUNDO.....	61
TABELA 5 – VALORES DE SOLUBILIDADE INTRÍNSECA (S_0), INTERCEPTO DOS DIAGRAMAS DE SOLUBILIDADE DE FASE (S_{int}) E COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE PEARSON (r).....	75
TABELA 6 – CONSTANTES DE COMPLEXAÇÃO ($K_{1:1}$), EFICIÊNCIA DE COMPLEXAÇÃO (CE), RAZÃO MOLAR DE COMPLEXAÇÃO (F:CD) E GANHO DE MASSA CALCULADAS A PARTIR DOS DIAGRAMAS DE SOLUBILIDADE DE FASE PARA OS SISTEMAS BINÁRIO DE FINASTERIDA E HP β CD E TERNÁRIOS CONTENDO FINASTERIDA, HP β CD E PVP K-30 OU QUITOSANA.....	76

LISTA DE ABREVIATURAS

BC – complexo binário coevaporado (finasterida + HP β CD)

BL – complexo binário liofilizado (finasterida + HP β CD)

CD – ciclodextrina

α -CD - α -ciclodextrina

β -CD - β -ciclodextrina

γ -CD - γ -ciclodextrina

AC β CD – acetil- β -ciclodextrina

DHP β CD – dihidroxipropil- β -ciclodextrina

DM β CD – dimetil- β -ciclodextrina

HE β CD – hidroxietil- β -ciclodextrina

HP β CD – hidroxipropil- β -ciclodextrina

M β CD – metil- β -ciclodextrina

RM β CD – β -ciclodextrina randomicamente metilada

SBE β CD – sulfobutiléter- β -ciclodextrina

CE – eficiência de complexação

CSD – Cambridge Crystal Structure Database

DSC – calorimetria exploratória diferencial

EV – endovenosa

FDA – Food and Drug Administration

FIN – finasterida

$\Delta H_{\text{fusão}}$ – entalpia de fusão

HDMB – brometo de hexadimetrina

HEC – hidroxietilcelulose

HPC – hidroxipropilcelulose

HEMC – hidroxietilmetilcelulose

HPMC – hidroxipropilmetilcelulose

IM – intramuscular

IPSS – International prostate symptom score

IV – infravermelho

K_c – constante de complexação
LH – hormônio luteinizante
LHRH – hormônio liberador do hormônio luteinizante
MC – metilcelulose
Na-CMC – carboximetilcelulose sódica
PM1 – Mistura física 1 (finasterida + HP β CD)
PM2 – Mistura física 2 (finasterida + HP β CD + quitosana)
PM3 – Mistura física 3 (finasterida + HP β CD + PVP K-30)
PSA – antígeno prostático específico
PVA – álcool polivinílico
PVP – polivinilpirrolidona
 r – coeficiente de correlação de Pearson
 S_0 – solubilidade intrínseca
 S_{int} – intercepto do diagrama de solubilidade de fase
RMN – ressonância magnética nuclear
SEM – microscopia eletrônica de varredura
 $T_{fusão}$ – temperatura de fusão
TC1 – complexo ternário coevaporado 1 (finasterida + HP β CD + quitosana)
TC2 – complexo ternário coevaporado 2 (finasterida + HP β CD + PVP K-30)
TL1 – complexo ternário liofilizado 1 (finasterida + HP β CD + quitosana)
TL2 – complexo ternário liofilizado 2 (finasterida + HP β CD + PVP K-30)
XRD – difração de raios X

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	16
2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
2.1 AS DOENÇAS DA PRÓSTATA.....	19
2.1.1 Considerações Gerais.....	19
2.1.2 A Próstata e os Hormônios Androgênicos.....	20
2.1.3 O Diagnóstico das Doenças da Próstata.....	22
2.1.4 Doenças da Próstata - A Escolha do Tratamento	25
2.1.4.1 Farmacoterapia nas Doenças da Próstata	26
2.1.4.2 Finasterida.....	28
2.1.4.2.1 Aspectos Físico-químicos.....	28
2.1.4.2.2 Aspectos Farmacológicos	29
2.2 ABSORÇÃO E BIODISPONIBILIDADE DE FÁRMACOS	32
2.2.1 Biodisponibilidade de Fármacos Pouco Solúveis	36
2.3 AS CICLODEXTRINAS	37
2.3.1 Toxicidade das ciclodextrinas.....	41
2.3.2 Ciclodextrinas hidroxialquiladas	43
2.3.3 Fatores que interferem na complexação	44
2.3.4 Caracterização dos Complexos de Inclusão	47
2.3.4.1 Detecção da Formação de Complexos em Solução	48
2.3.4.2 Detecção da Formação de Complexos no Estado Sólido	50
2.3.4.2.1 Microscopia eletrônica de varredura (SEM)	50
2.3.4.2.2 Difração de raios X.....	52
2.3.4.2.3 Métodos termoanalíticos	54
2.3.5 Estratégias para aumentar a eficiência de complexação das ciclodextrinas	55
2.3.6 Aplicação Farmacêutica das Ciclodextrinas.....	59
3 – OBJETIVOS	62
3.1 OBJETIVO GERAL	62
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	62
4 – MATERIAIS E MÉTODOS.....	63
4.1 MATERIAIS.....	63
4.1.1 Amostragem e Substância Química de Referência.....	63
4.1.2 Reagentes e Solventes	63
4.1.3 Instrumentação.....	63
4.2 MÉTODOS	64
4.2.1 Desenvolvimento de Metodologia Analítica.....	64
4.2.2 Preparo dos Sistemas Binários e Ternários	65
4.2.3 Ensaio de solubilidade.....	66
4.2.4 Caracterização dos Sistemas Binários e Ternários.....	66
5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	69
5.1 METODOLOGIA ANALÍTICA PARA QUANTIFICAÇÃO DA FINASTERIDA.....	69
5.1.1 Quantificação da finasterida no ensaio de solubilidade.....	69
5.1.2 Quantificação da finasterida no ensaio de dissolução.....	70
5.2 ENSAIO DE SOLUBILIDADE.....	71
5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS SISTEMAS BINÁRIOS E TERNÁRIOS	79

5.3.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	79
5.3.2 Difração de Raios X.....	81
5.2.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM)	84
5.3.4 Ensaio de dissolução.....	88
6 – CONCLUSÃO.....	90
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91

1 – INTRODUÇÃO

Até o início da década de 60, era comum que se considerasse um medicamento eficaz clinicamente apenas assegurando-se o controle de qualidade, que incluía o conhecimento das propriedades físicas e físico-químicas do fármaco. Até então não havia preocupações em relação ao comportamento da forma farmacêutica no organismo. Entretanto, várias evidências demonstraram que determinados componentes da formulação bem como as técnicas de fabricação poderiam dar origem a um medicamento ineficaz ou até mesmo tóxico (ABDOU, 1989).

Diversos trabalhos descritos na literatura mencionam que, a partir da década de 60, a ineficácia clínica e, em alguns casos, intoxicações graves, serviram de alerta para estudos mais aprofundados sobre os componentes da formulação, processos empregados e características físico-químicas dos fármacos (STORPIRTIS, 1993; GONZÁLEZ et al., 1995).

Com o avanço das pesquisas científicas, a qualidade dos medicamentos passou a ser associada também aos aspectos farmacotécnicos, denominando-se de qualidade biofarmacêutica ou biofarmacotécnica (SHARGEL e YU, 1993; STORPIRTIS *et al.*, 1999).

Dentre as formas farmacêuticas de uso oral, as formas farmacêuticas sólidas – particularmente os comprimidos – têm merecido destaque pela possibilidade de apresentarem problemas de biodisponibilidade.

Para obtenção do efeito terapêutico a partir de um medicamento na forma comprimido, quando administrado por via oral, é necessário que o fármaco passe da forma em que se encontra para outra em que seja diretamente absorvível. Este processo, chamado de liberação, é anterior a absorção e se desenvolve em duas etapas: (1) a desagregação, a qual envolve um aumento da área superficial do fármaco pela formação de grânulos e partículas menores, seguida (2) da dissolução nos líquidos orgânicos.

Vários são os fatores que interferem na liberação de um fármaco, sendo o principal deles a sua solubilidade no trato gastrintestinal. Em geral, fármacos pouco solúveis apresentam biodisponibilidade reduzida. A forma do sólido afeta

diretamente sua solubilidade e, em conseqüência, sua dissolução, estabilidade e biodisponibilidade. Os fármacos sólidos podem existir como substâncias cristalinas ou partículas amorfas, sem estrutura identificável. O caráter amorfo ou cristalino de uma substância pode afetar sua estabilidade e atividade. De um modo geral, a forma amorfa apresenta maior solubilidade, velocidade de dissolução e biodisponibilidade que a forma cristalina, uma vez que, no estado amorfo, a energia necessária para separação das moléculas, coesas ao acaso, é menor que para a forma cristalina. Por outro lado, formas cristalinas são mais estáveis que as formas amorfas (GRANT, 1999; SHARGEL e YU, 1999). Processos vigorosos de moagem podem induzir ao aparecimento da forma amorfa, indesejável, já que podem converter-se rapidamente nas formas cristalinas conduzindo a alterações na dissolução e biodisponibilidade do fármaco (BRITAIN e FIESE, 1999).

Diversas técnicas são disponíveis para aumentar as características de solubilidade e biodisponibilidade de fármacos. Dentre elas, a complexação com ciclodextrinas tem sido amplamente estudada (LOFTSSON e BREWSTER, 1996; BADWAN, 1997; BREWSTER e LOFTSSON, 2007).

Ciclodextrinas naturais (CDs) são oligossacarídeos cíclicos contendo seis (α -ciclodextrinas), sete (β -ciclodextrinas) ou oito (γ -ciclodextrinas) unidades de α -1,4-glicopiranosose, contendo uma superfície externa hidrofílica e uma cavidade central hidrofóbica, a qual pode acomodar uma variedade de fármacos lipofílicos (VEIGA *et al.*, 1995). Estes complexos têm mostrado aumentar a estabilidade (ANDERSEN e BUNDGAARD, 1984; LOFTSSON *et al.*, 1989), solubilidade, velocidade de dissolução (PITHA *et al.*, 1986; BLANCO *et al.*, 1991; LOFTSSON, 2002) e biodisponibilidade (CHOW e KARARA, 1986; VILA-JATO, BLANCO e TORRES, 1988), além de reduzir efeitos colaterais associados com alguns fármacos (OTERO-ESPINAR *et al.*, 1991; LIN *et al.*, 1994).

O processo de envelhecimento humano está associado a um aumento na freqüência de várias enfermidades e, no caso dos homens, as alterações benignas e malignas da próstata estão entre as patologias mais comuns. A partir dos quarenta anos de idade, mudanças hiperplásicas começam a ocorrer e, por volta dos oitenta anos, atingem cerca de 90% dos homens, sendo 70% destas de caráter maligno. O carcinoma de próstata é a forma mais comum de neoplasia em indivíduos do sexo

masculino e a segunda principal causa de óbito por câncer. Estima-se que sejam detectados cerca de 200.000 novos casos por ano, sendo que 20% dos pacientes vão a óbito. A faixa etária mais atingida é de 70 a 75 anos, porém a frequência de casos já começa a aumentar a partir dos 50 anos (SCHER, 2001).

A finasterida é um azasteróide, administrado por via oral, que inibe competitivamente a enzima 5 α -redutase tipo II e assim diminui os níveis plasmáticos de diidrotestosterona em 60 a 70% e as concentrações prostáticas em cerca de 85%. A meia-vida da finasterida é de cerca de 6 horas em pacientes com menos de 60 anos, podendo estender-se a até oito horas em pacientes com mais de 70 anos. A taxa de ligação às proteínas plasmáticas é de cerca de 90%. O fármaco apresenta baixa solubilidade em água (classe II, SCB) e biodisponibilidade oral variável – 63% (KOROLKOVAS *et al.*, 1995) a 80% (GORMLEY, 1995). Dois polímeros enantiotrópicos (forma I e forma II) foram descritos por Wenslow e colaboradores em 2000. A forma II apresenta maior solubilidade em ciclohexano do que a forma I (WENSLOW *et al.*, 2000).

Com base nestes estudos, o presente trabalho tem como objetivo estudar as interações de finasterida com HP- β -ciclodextrina em presença ou ausência de polímeros naturais (quitosana) e sintéticos (PVP K-30), visando melhorar a solubilidade e velocidade de dissolução do fármaco e, conseqüentemente, suas características de biodisponibilidade.

2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 AS DOENÇAS DA PRÓSTATA

2.1.1 Considerações Gerais

As alterações benignas e malignas da próstata estão entre as patologias mais comuns associadas ao envelhecimento de indivíduos do sexo masculino. Estima-se que sejam detectados cerca de 200.000 novos casos de câncer de próstata por ano, sendo que 20% dos pacientes vão a óbito. A faixa etária mais atingida é de 70 a 75 anos, porém a frequência de casos já começa a aumentar a partir dos 50 anos (SCHER, 2001).

A hiperplasia benigna é a alteração prostática mais comum. Ela está associada a sintomas irritativos e oclusivos do trato urinário inferior, como retenção urinária, fluxo urinário reduzido, urgência em urinar, esvaziamento incompleto da bexiga urinária, disúria e incontinência urinária, que causam incômodo e uma diminuição na qualidade de vida do paciente. Histologicamente, a doença está caracterizada por um aumento das células normais da próstata, mas sua causa ainda não está bem definida (LOGAN e BELGERI, 2005).

As causas do carcinoma prostático também não são totalmente conhecidas. Fatores hereditários foram investigados, mas não foi possível associa-los a nenhuma alteração cromossômica específica. Sabe-se que o fator étnico exerce influência importante, pois os estudos revelam que a incidência entre os indivíduos asiáticos é muitíssimo menor (3 a 4 por 100.000) do que entre caucasianos (50 a 60 por 100.000) e negros. Porém, acredita-se que fatores de risco ambientais também estejam associados à doença, o que é justificado pela maior incidência de casos entre os asiáticos que migraram para países ocidentais do que entre os indivíduos que permaneceram em seus países de origem. Um dos fatores ambientais propostos é a ingestão de uma dieta rica em gorduras, o que influenciaria os níveis de hormônios como a testosterona que, por sua vez, afetaria o crescimento prostático (COTRAN *et al.*, 1996).

2.1.2 A Próstata e os Hormônios Androgênicos

A próstata (FIGURA 1) é um órgão glandular constituído por dois compartimentos: o ácino, unidade funcional da glândula, e o estroma, constituído por fibroblastos e células musculares lisas, separados por uma membrana basal. O ácino consiste em um compartimento epitelial que inclui células basoepiteliais e células neuroendócrinas, sendo as primeiras responsáveis pela produção do PSA (antígeno prostático específico) e da fosfatase-ácida prostática específica. Tanto o ácino como o estroma expressam receptores androgênicos e dependem dos andrógenos para crescer. O andrógeno circulante mais importante é a testosterona, a qual é convertida para sua forma ativa, diidrotestosterona pela enzima 5 α -redutase (FIGURA 2).

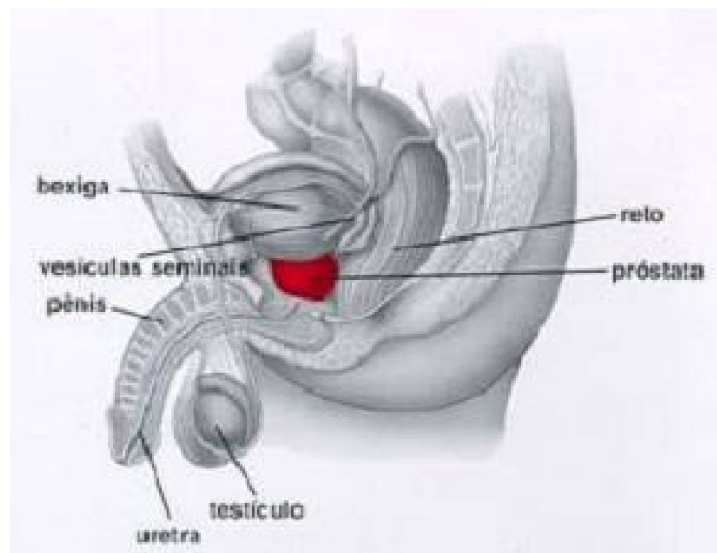


FIGURA 1 - APARELHO GÊNITO-URINÁRIO MASCULINO

FONTE: NETO, 2007.

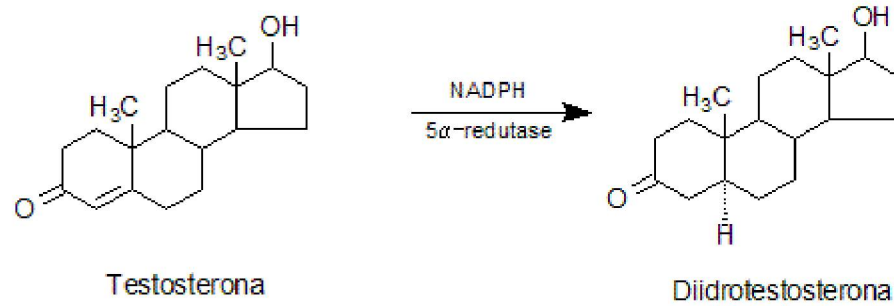


FIGURA 2 - ESTRUTURA DA TESTOSTERONA E DIIDROTESTOSTERONA

FONTE: GORMLEY, 1995.

Duas isozimas da 5 α -redutase foram caracterizadas, clonadas e localizadas em tecidos humanos. A 5 α -redutase do tipo I é expressa em vários tecidos, incluindo a pele e o fígado, e é particularmente importante em vias metabólicas de catabolismo dos androgênios e outros esteróides. A isozima do tipo II é encontrada predominantemente no fígado e em tecidos genitais, incluindo a próstata, e também está presente em algumas regiões da pele, estando envolvida em rotas de síntese de androgênios (ANDRIOLE *et al.*, 2004).

Tanto a testosterona quanto a diidrotestosterona agem ligando-se ao receptor androgênico. A ligação às seqüências de DNA nuclear, leva a produção de PSA e proteínas regulatórias que modulam o crescimento e o funcionamento das células. Apesar da diidrotestosterona e a testosterona ligarem-se ao receptor e ativarem a síntese de proteínas da mesma maneira, a diidrotestosterona dissocia-se do receptor androgênico mais lentamente (SCHER, 2001).

A testosterona começa a ser secretada no organismo masculino na oitava semana de gestação, estimulando a diferenciação da genitália interna, incluindo o epidídimo, as vias deferentes e a vesícula seminal. Ela é convertida a diidrotestosterona na genitália externa primordial para estimular a diferenciação do pênis, bolsa escrotal e da próstata (ANDRIOLE *et al.*, 2004).

Durante a puberdade, o aumento da produção testicular de testosterona leva ao desenvolvimento dos túbulos seminíferos, próstata, vesícula seminal, além do crescimento e diferenciação do epidídimo. Assim dá-se a espermatogênese e a produção e transporte de líquido seminal. O aumento dos níveis sistêmicos de testosterona leva ao desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários, aumento

da massa e da força muscular, aumento do crescimento dos ossos longos e da densidade mineral dos ossos (TABELA 1).

Na idade adulta, os níveis séricos de testosterona permanecem relativamente estáveis e sua função é manter as características sexuais e regular a espermatogênese (GORMLEY, 1995).

TABELA 1 – AÇÕES DA TESTOSTERONA E DA DIIDROTESTOSTERONA NO ORGANISMO MASCULINO DURANTE A PUBERDADE E PÓS-PUBERAIS (GORMLEY, 1995)

Testosterona	Aumento do pênis e da bolsa escrotal
	Espermatogênese
	Espessamento das cordas vocais
	Aumento da massa muscular
	Libido e performance sexual
Diidrotestosterona	Aumento dos pêlos no corpo e na barba
	Acne
	Calvície
	Aumento da próstata

A relação entre os hormônios androgênicos e as doenças da próstata foi relatada pela primeira vez em 1895, quando White notou uma diminuição no tamanho da próstata em 87% dos homens castrados. Mais tarde, em 1944, Moore relatou que a ausência de função testicular em homens com menos de quarenta anos prevenia o desenvolvimento da hiperplasia benigna da próstata e do carcinoma prostático (KENNY *et al.*, 1997).

2.1.3 O Diagnóstico das Doenças da Próstata

Mais de 75% dos pacientes portadores de câncer de próstata recebem diagnóstico quando começam a apresentar comprometimento urinário, com sintomas muito semelhantes aos manifestados nas alterações benignas, como a dificuldade para iniciar e interromper o jato, disúria, policiúria e hematúria. Nestes casos, a doença já se encontra nos estágios ditos C ou D, sendo que, no primeiro caso, o tumor está localizado e, no segundo caso, há o surgimento de metástases, que

afetam principalmente os ossos (vértebras da coluna lombar, fêmur proximal, pelve, coluna torácica e as costelas) e os gânglios linfáticos pélvicos. A distinção entre uma alteração benigna e o câncer só pode ser realizada por meio de exames histológicos. Nos casos em que o tumor se estende além dos limites da glândula, sintomas como hematoespermia ou disfunção erétil podem ocorrer. Pacientes com metástases ósseas podem não apresentar sintomas urinários, porém apresentam dor nas costas e em outras partes do corpo, enquanto outros permanecem totalmente assintomáticos apesar do câncer estar em estágio avançado.

Os métodos de diagnóstico tradicionais para as doenças da próstata incluem questionários, toque prostático, determinação dos níveis e velocidade de PSA e ultra-sonografia uretral (CATALONA *et al.*, 1994; SCHER, 2001).

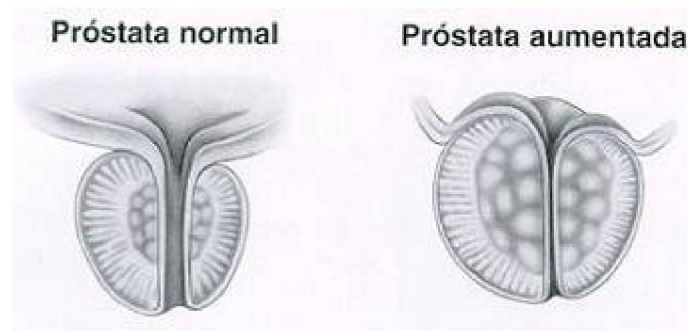


FIGURA 3 - ASPECTO DA PRÓSTATA NORMAL E DA PRÓSTATA AFETADA PELA HIPERPLASIA BENIGNA

FONTE: NETO, 2007

Anamnese do paciente

Além da hiperplasia benigna da próstata e do carcinoma prostático, outras doenças, como a prostatite, o cálculo prostático e a disfunção do músculo detrusor da bexiga urinária, podem levar ao surgimento de sintomas do trato urinário inferior (LOGAN e BELGERI, 2005). Para determinar as causas e quantificar estes sintomas, é aplicado o questionário Escore Internacional de Sintomas Prostáticos (IPSS - International Prostate Symptom Score), composto por sete perguntas relacionando os sintomas à sua frequência. Quanto maior a frequência, mais pontos são somados, permitindo que os sintomas sejam classificados como suaves (0 a 7

pontos), moderados (8 a 19 pontos) ou severos (20 a 35 pontos) (BARRY e ROHERBORN, 1997).

Em conjunto com o questionário, outras condições devem ser avaliadas no momento do diagnóstico, como o uso de medicamentos diuréticos e bloqueadores dos canais de cálcio que podem causar, respectivamente, noctúria e diminuição na contratilidade da bexiga urinária. A existência de doenças como o diabetes, hipercalcemia e insuficiência cardíaca congestiva, que aumentam a frequência urinária também devem ser consideradas (BARRY e ROHERBORN, 1997)

Toque Prostático

O toque prostático considera o tamanho e a consistência, a presença de lesões, ou a evidência de extensão além dos limites da glândula. A superfície posterior dos lobos laterais, onde o carcinoma começa com maior frequência, é facilmente palpável num exame de toque, porém, tanto o carcinoma prostático, quanto o cálculo prostático e a hiperplasia benigna caracterizam-se por uma área dura, nodular e irregular. Entre 20 a 25% dos pacientes que apresentam alterações no exame de toque retal têm a biópsia positiva para carcinoma prostático.

PSA

O PSA, antígeno prostático específico, é uma protease produzida por células epiteliais normais ou neoplásicas. Os valores normais estão entre 0 e 4 ng.mL⁻¹. Cerca de 30% dos homens têm valores entre 4 a 10 ng.mL⁻¹ e 50% daqueles com PSA acima de 10 ng.mL⁻¹ terão câncer. Por outro lado, 20% dos pacientes tiveram câncer diagnosticado enquanto apresentavam valores normais de PSA.

O parâmetro velocidade do PSA é derivado de cálculos da faixa de mudança no PSA antes que o diagnóstico de câncer seja estabelecido. Aumentos maiores que 0,75 ng.mL⁻¹ ao ano são indicativos de casos de câncer, ainda que o valor de PSA esteja dentro dos níveis normais. Medidas dos níveis de PSA livre (menores em quadros de carcinoma prostático) e PSA combinado são utilizados como parâmetro

para selecionar os pacientes que deverão ser submetidos à biópsia apesar de apresentarem níveis normais de PSA.

Ultra-sonografia Transretal

Útil no cálculo do PSAD, ou seja, o quociente entre o valor de PSA sérico (ng.mL^{-1}) e o volume prostático (cm^3) (CATALONA *et al.*, 1994), a ultra-sonografia transretal permite estimar o tamanho da glândula, porém o exame nem sempre diferencia o carcinoma da hiperplasia benigna. O papel principal da ultra-sonografia é dar suporte para uma amostragem correta quando da realização da biópsia.

2.1.4 Doenças da Próstata - A Escolha do Tratamento

A escolha do melhor tratamento a ser seguido está intimamente relacionada com a gravidade da doença.

Num primeiro grupo, temos pacientes que apresentam desordens benignas, ou aqueles que apresentam histórico familiar de doenças da próstata, altos níveis de PSA ou sintomas urinários. Num segundo grupo, estariam os pacientes que apresentam um tumor maligno restrito à glândula. O terceiro grupo, incluiria pacientes com níveis crescentes de PSA, mesmo depois de uma cirurgia ou radioterapia para tratar uma lesão localizada, mas que não têm alterações clínicas detectáveis. Por fim, no quarto grupo, estariam os indivíduos com metástases detectadas, para os quais a prostatectomia pode ou não ser indicada (SCHER, 2001).

De acordo com Scher (2001), os procedimentos cirúrgicos empregados incluem a ressecção transuretral da próstata, a incisão transuretral, e ainda, a remoção da glândula por via retropúbica, suprapúbica ou perineal. Nos casos de câncer que exigem prostatectomia radical, remove-se toda a glândula e mais uma margem de segurança, preservando o esfíncter externo para manter a continência urinária e os nervos, evitando a disfunção erétil. A radioterapia também pode ser empregada nos casos de câncer, podendo ser aplicada externamente, implantando fontes radioativas dentro da glândula ou por meio de uma combinação de ambos os

processos. Nos casos de hiperplasia benigna, as células hiperplásicas podem ser destruídas por meio de microondas ou ablação.

O tratamento farmacológico das doenças da próstata é eficiente apenas em quadros não severos, entretanto pode ser aplicado para retardar a progressão do tumor ou melhorar a sobrevida do paciente.

2.1.4.1 Farmacoterapia nas Doenças da Próstata

Orquiectomia farmacológica

As células epiteliais neoplásicas possuem receptores androgênicos, e dependem destes hormônios para sobreviver. Para o tratamento dos casos em estágio avançado, que envolvem o aparecimento de metástases, é fundamental privar as células neoplásicas de testosterona. Isso pode ser conseguido pela remoção dos testículos (orquiectomia) ou mediante a administração de estrogênios ou de *agonistas sintéticos do hormônio liberador do hormônio luteinizante* (LHRH). O principal efeito dos estrógenos é a supressão do hormônio luteinizante (LH) hipofisário que, por sua vez, reduz o débito testicular de testosterona, de forma semelhante ao papel desempenhado pelos agonistas sintéticos do LHRH. Em longo prazo, a administração destes agonistas suprime a liberação de LH e atinge os efeitos de uma orquiectomia farmacológica. Efeitos semelhantes são obtidos com os análogos do hormônio liberador de gonadotrofina como o *acetato de leuprolida* e o *acetato de goserelina*. A elevação inicial dos níveis de testosterona pode resultar em uma piora dos sintomas. Assim, estes fármacos estão contra-indicados para paciente com sintomas de obstrução, dor causada pelo câncer ou comprometimento da medula espinhal (SCHER, 2001).

O *diestilbestrol* é uma alternativa terapêutica de baixo custo que produz o efeito de orquiectomia farmacológica em uma ou duas semanas de uso. No entanto, apresenta uma toxicidade cardiovascular significativa, podendo causar edema, colapso cardíaco congestivo, infarto do miocárdio, acidentes vasculares cerebrais, flebite e embolia pulmonar (SCHER, 2001).

Progestágenos, tais como o *acetato de medroxiprogesterona* e o *acetato de megestrol* são menos eficazes na produção da orquiectomia farmacológica e, por isso, não são considerados fármacos de primeira escolha (SCHER, 2001).

Uso de anti-androgênicos não-esteroidais

Os antiandrogênicos não-esteroidais - *flutamida*, *a bicalutamida* e *a nilutamida* - bloqueiam a ligação dos androgênios ao seu receptor sendo úteis para evitar o agravamento dos sintomas quando do tratamento com inibidores do hormônio liberador de gonadotrofina; quando se deseja preservar a potência sexual; e ainda, como parte de um tratamento combinado para inibir simultaneamente os andrógenos testiculares e adrenais. Os efeitos adversos deste grupo de fármacos incluem ginecomastia, cansaço, elevação dos níveis séricos de transaminases e diarreia. A nilutamida, em particular, causa ainda dificuldade de adaptação visual ao escuro, intolerância ao álcool e, raramente, pneumonites (SCHER, 2001).

Bloqueadores α_1 -adrenérgicos

Bloqueadores α_1 -adrenérgicos - *terazosina*, *alfuzosina*, *doxazosina* e *tamsulosina* – não influenciam a progressão tanto da hiperplasia benigna da próstata quanto do carcinoma prostático, mas aliviam os sintomas do trato urinário inferior, relaxando a musculatura lisa da bexiga e aumentando o fluxo urinário. A hipotensão ortostática é o principal efeito adverso deste grupo de fármacos (SWEETMAN, 2003). Nos casos de hiperplasia benigna, os bloqueadores α_1 adrenérgicos podem ser administrados de forma isolada ou combinados com azasteróides (BARRY e ROHERBORN, 1997).

Azastereróides

Os azasteróides são compostos que inibem competitivamente a 5α -redutase, descritos pela primeira vez no início da década de 1980 pela empresa americana Merck® (KENNY *et al.*, 1997). Reduzem o tamanho da próstata em cerca de 50%

após 6 a 9 meses de tratamento, por aumentarem a taxa de apoptose de células prostáticas, além de reduzir a sobre-expressão do gene *bcl-2*, que previne a apoptose (LOGAN e BELGERI, 2005). Com isso, o fluxo urinário aumenta e há uma melhora significativa dos sintomas do trato urinário inferior (NOVARA *et al.*, 2006). A administração de azasteróides também reduz os níveis de PSA em até 50% após seis meses de tratamento, podendo mascarar o diagnóstico de câncer prostático (LOGAN e BELGERI, 2005).

A dutasterida é um azasteróide capaz de inibir tanto a 5α -redutase do tipo I quanto do tipo II, usado na dose de 0,5 mg ao dia. Seu principal efeito adverso é a ginecomastia (LOGAN e BELGERI, 2005).

A *finasterida* (FIGURA 4) é o principal azasteróide utilizado atualmente na terapêutica da hiperplasia benigna da próstata e na prevenção do câncer de próstata. Ela age inibindo especificamente a 5α -redutase do tipo II.

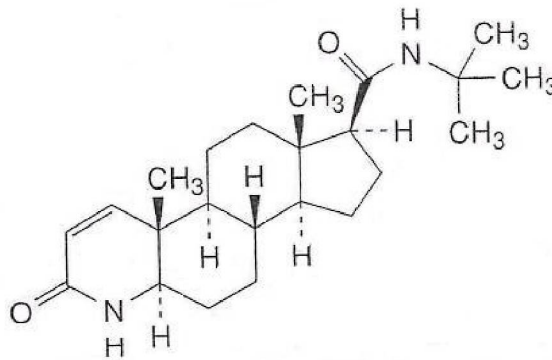


FIGURA 4 - ESTRUTURA DO FÁRMACO FINASTERIDA

FONTE: GORMLEY, 1995.

2.1.4.2 Finasterida

2.1.4.2.1 Aspectos Físico-químicos

A Finasterida, N-(2-metil-2-propil)-3-oxo-4-aza- 5α -androst-1-eno-17B carboxamida, cuja fórmula empírica é $C_{23}H_{36}N_2O_2$, apresenta peso molecular de 372,55 Da. É muito solúvel em solventes orgânicos polares, como etanol, metanol, clorofórmio e DMSO (BUDAVARI, 1996) e praticamente insolúvel em água – sua

solubilidade em água à temperatura ambiente é da ordem de 0,043 mg/mL (LOFTSSON e HREINSDÓTTIR, 2006).

2.1.4.2.2 Aspectos Farmacológicos

Mecanismo de ação

A finasterida não é capaz de se ligar diretamente ao receptor androgênico, não apresentando, desta forma, ação antiandrogênica, estrogênica ou progestágena (GORMLEY, 1995).

O sítio ativo do fármaco para a inibição da 5α -redutase é a função lactama do anel A do esqueleto esteróide (GORMLEY, 1995). Os orbitais π das duplas ligações tanto da testosterona quanto da finasterida, dividem uma orientação axial 1,3 na conformação em cadeira do anel esteróide A, que os faz semelhantes em termos tridimensionais. Apesar da grande afinidade pela enzima, a ligação entre esta e o fármaco não se dá de forma covalente. O mecanismo proposto por Bull e colaboradores (1996) para a inibição da 5α -redutase está demonstrado na FIGURA 5. As duas reações seguem de maneira semelhante na formação de um enol intermediário, mas divergem no passo final, quando a finasterida aborta o processo por translocar o carbânion enolato para uma posição na qual ele fica indisponível para a transferência do próton que completa a redução. Presume-se que esta etapa seja responsável por definir se haverá ou não a formação da diidrotestosterona. A presença do heteroátomo nesta posição parece ser essencial para impedir a transferência do próton, porque seria capaz de “prende-lo” por meio de uma ponte de hidrogênio. Uma parte muito importante da reação catalítica é a estabilização do enolato intermediário, que parece ser idêntica para a testosterona e o fármaco (BULL *et al.*, 1996).

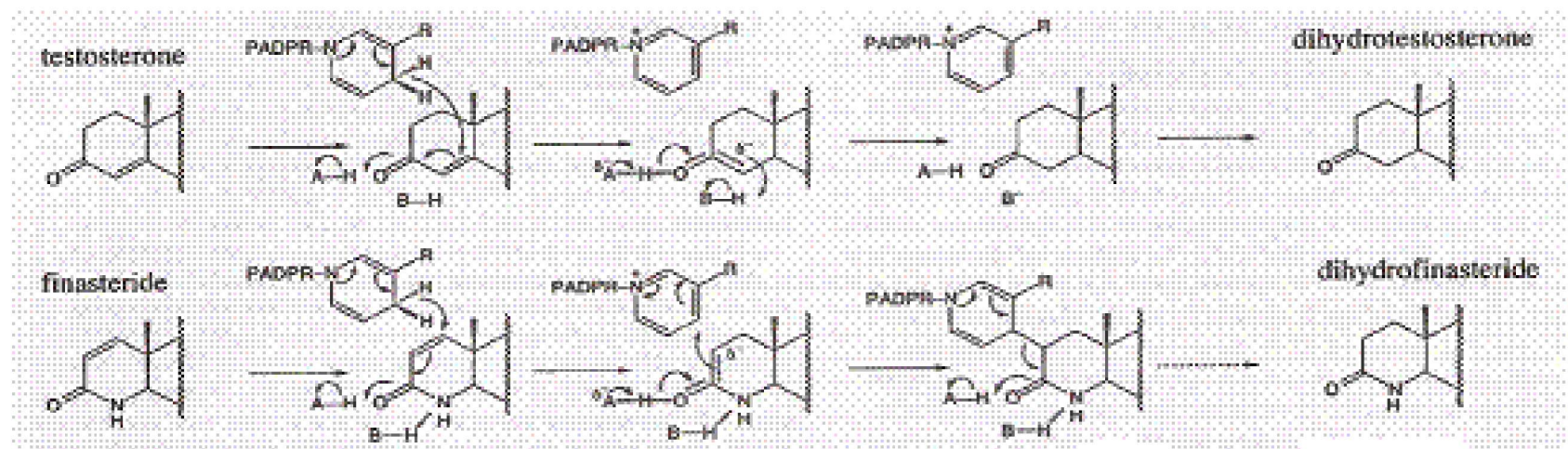


FIGURA 5 - MECANISMO DE AÇÃO DA FINASTERIDA PROPOSTO POR BULL E COLABORADORES (1996)

Farmacocinética

Com relação à farmacocinética, a finasterida é bem absorvida por via oral e as concentrações plasmáticas máximas de 38 ng/mL são alcançadas em cerca de duas horas. A administração concomitante com as refeições não prejudica a absorção e a biodisponibilidade (GORMLEY, 1995). O fármaco apresenta uma meia-vida de aproximadamente 6 horas em pacientes com menos de 60 anos, alcançando oito horas em pacientes com mais de 70 anos. A biodisponibilidade média é de 63 a 80% e a taxa de ligação às proteínas plasmáticas é de cerca de 90% (SWEETMAN, 2003).

Após metabolização hepática, que produz derivados oxidados inativos, a excreção se dá através da bile (60 a 80%) e, de forma menos expressiva, através da urina (GORMLEY, 1995).

O fármaco diminui os níveis plasmáticos de diidrotestosterona em 60 a 70% e as concentrações prostáticas em cerca de 85%, após duas ou três doses diárias de 5 mg. No entanto, as taxas de diidrotestosterona nunca chegam a zero devido à produção residual pela isozima do tipo I, que não é inibida pela finasterida (GORMLEY, 1995; ANDRIOLE *et al.*, 2004).

Uma dose diária de 5 mg diminui em 24% o tamanho da próstata, aumenta as taxas de fluxo urinário, reduzindo a incidência de retenção urinária aguda e diminuindo as taxas de intervenção cirúrgica (SCHER, 2001). A resposta ao tratamento em geral é lenta e este deve estender-se por pelo menos seis meses.

A eficácia e a segurança do uso da finasterida na hiperplasia benigna da próstata foram comprovadas por meio de vários estudos clínicos (GORMLEY, 1995). A eficácia do tratamento de casos de carcinoma prostático com finasterida é menor em relação aos resultados alcançados na hiperplasia benigna, porém estudos estão em andamento com o objetivo de avaliar sua utilização como forma de prevenção da doença (SWEETMAN, 2003).

Os efeitos adversos mais frequentes da finasterida são a diminuição da libido, impotência, transtornos de ejaculação e redução do volume de sêmen. Ginecomastia e mastalgia, além de reações de hipersensibilidade, como inchaço do rosto e dos

lábios, prurido, urticária, exantemas e dor testicular também são citados (SWEETMAN, 2003).

Teoricamente, a inibição da 5α -redutase poderia interferir com a espermatogênese, que é androgênio-dependente. Porém, estudos recentes não constataram nenhuma alteração na espermatogênese durante o uso da finasterida (OVERSTREET *et al.*, 1999).

Além do emprego nas doenças da próstata a finasterida também é empregada no tratamento da calvície masculina (em doses diárias de 1 mg) e hirsutismo. Entretanto, a administração para mulheres em idade reprodutiva deve ser criteriosa, dado o risco de feminilização de fetos do sexo masculino (GORMLEY, 1995).

2.2 ABSORÇÃO E BIODISPONIBILIDADE DE FÁRMACOS

Na década de 1930, quando surgiram os primeiros trabalhos relacionados à absorção de fármacos a partir de formas farmacêuticas, os estudos eram baseados em dados de excreção urinária. Somente a partir da década de 1950 surgiram os primeiros estudos com determinação sangüínea do fármaco. Na década de 1970, o termo biodisponibilidade passou a ser utilizado, e a preocupação em relação à influência de fatores fisiológicos e patológicos sobre a biodisponibilidade aumentou significativamente.

Gleiter e colaboradores (1998) ressaltam a diferença entre os termos “absorção” e biodisponibilidade. Segundo Löbenberg e Amidon (2000), a disponibilidade sistêmica (biodisponibilidade) representa a quantidade do fármaco que chegou até a circulação sistêmica, enquanto que a absorção representa apenas a etapa de permeação do fármaco na mucosa do trato gastrointestinal, quando este ainda não está disponível na circulação sistêmica. A biodisponibilidade não é uma propriedade somente do fármaco, como também da formulação que o contém.

O processo de absorção de fármacos através do trato gastrointestinal é muito complexo, podendo ser afetado por inúmeros fatores (YU *et al.*, 1996; CONSIGLIERI, STORPIRTIS e FERRAZ, 2000). Dentre os fatores que podem potencialmente influenciar na extensão e velocidade de absorção do fármaco

destacam-se três: fatores físico-químicos do fármaco, incluindo pKa, solubilidade, lipofilicidade, tamanho de partícula entre outros; fatores fisiológicos como pH gastrintestinal, esvaziamento gástrico e mecanismos de absorção e, por fim, fatores relacionados à forma farmacêutica. Além desses fatores, devem ser consideradas as variações das características individuais como idade, sexo, peso corporal e fatores fisiopatológicos associados (STORPIRTIS *et al.*, 1999).

A dissolução do fármaco é fundamental para absorção e conseqüente resposta terapêutica da maioria dos fármacos de administração oral, apresentados na forma farmacêutica sólida (AMIDON *et al.*, 1995). Baseando-se nesta afirmação, conclui-se que a solubilidade pode ser considerada o principal fator relacionado às características físico-químicas do fármaco que influencia na biodisponibilidade de medicamentos.

A solubilidade pode ser afetada por vários fatores como a constante de dissociação e lipossolubilidade do fármaco, o tamanho da partícula, a forma cristalina e a apresentação molecular na forma de sais ou ésteres.

No processo de absorção de um fármaco fatores como pH e coeficiente de partição estão inter-relacionados. A velocidade de absorção gastrintestinal de um fármaco está diretamente relacionada com a concentração das suas formas não ionizadas no local de absorção, o que é uma função do pKa do composto e do pH do meio. A solubilidade de um fármaco em lipídeos é determinada pela presença de grupos polares na estrutura da molécula bem como dos grupos ionizáveis que são afetados pelo pH local. Assim, a relação hidrofília e lipofília de toda molécula, traduzida como coeficiente de partilha (Log P), determina se uma molécula se difunde facilmente ao sofrer difusão passiva através da membrana gastrintestinal (DRESSMAN *et al.*, 1998; LACHMAN, LIEBERMAN e KANIG, 2001).

A área superficial das partículas do fármaco é outro parâmetro que influencia a sua dissolução e, conseqüentemente, sua absorção, particularmente para fármacos com solubilidade aquosa reduzida. Partículas pequenas com uma grande área de superfície dissolvem-se mais rapidamente do que partículas maiores, embora ambas tenham a mesma solubilidade intrínseca (LACHMAN, LIEBERMAN e KANIG, 2001).

Os fármacos no estado sólido podem apresentar-se sob a forma amorfa, mais solúvel, ou cristalina. Os polimorfos são formas cristalinas que diferem no empacotamento e orientação das moléculas sob condições de cristalização diferentes. O polimorfismo é responsável por diferenças nas propriedades físico-químicas do fármaco, como solubilidade, densidade, ponto de fusão, entre outras. Assim, diferenças de velocidade de dissolução e na absorção podem ser observadas entre polimorfos de um determinado composto.

O polimorfismo é um problema particular dos esteróides. Aproximadamente 67% dos esteróides exibem polimorfismo (MESLEY e JOHNSON, 1965). Segundo Borka (1991) se uma substância ocorre em duas formas cristalinas, uma é sempre mais estável a uma dada temperatura e a outra é a forma metaestável.

Quando da existência de polimorfos, a forma mais estável geralmente apresenta menor solubilidade, e conseqüentemente, a forma que apresenta maior solubilidade é a menos estável (CARSTENSEN, 2001). As formas que apresentam maior ponto de fusão são usualmente denominadas Forma I, e as formas instáveis são Formas II, III, etc., seguindo essa ordem à medida que o ponto de fusão diminui (BORKA, 1991).

Wenslow e colaboradores (2000) identificaram dois polimorfos para a finasterida usando espectroscopia IV, RMN-C¹³, difração de raios-X (XRD) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). A Forma I apresenta padrão de difração compatível com sistema cristalino ortorrômbico, com espaço entre os grupos P₂₁2₁2₁ e parâmetros cristalográficos a(Å) = 6,437, b(Å) = 12,712 e c(Å) = 25,929 com Z = 4. Já a Forma II apresenta padrão de difração compatível com sistema cristalino monoclinico, com espaço entre os grupos P2₁ e parâmetros cristalográficos a(Å) = 16,387, b(Å) = 7,958 e c(Å) = 18,115 com Z = 4. A finasterida Forma I pode ser cristalizada por secagem com acetato de etila ou acetato de isopropila, sendo que sob aquecimento pode converter-se na Forma II. A temperatura de transição da fase sólida é dependente da taxa de aquecimento, diminuindo de aproximadamente 230 para 200 °C quando a taxa de aquecimento varia de 10 para 0,1 °C/min. A temperatura de fusão (257 °C) varia somente dois graus da Forma I para Forma II. A baixa solubilidade da Forma I em baixas temperaturas é consistente com a observação que as duas formas são polimorfos enantiotrópicos (reversíveis).

Um terceiro polimorfo denominado Forma III já foi descrito e patenteado, porém sua estrutura cristalina ainda não foi publicada (OTHMAN *et al.*, 2007).

Outro aspecto importante em relação à forma cristalina é que esta pode apresentar diferentes estados de solvatação. Durante o processo de cristalização, o solvente pode ser incorporado na estrutura do cristal: a água pode adsorver-se junto à superfície do cristal ou pode ocupar uma posição dentro da molécula. A formação de solvatos (ou hidratos) na estrutura cristalina usualmente modifica as propriedades farmacêuticas como solubilidade, dissolução, biodisponibilidade, estabilidade química, fluxo do pó e compactação (BYRN *et al.*, 1995). Portanto, informações sobre a estrutura do cristal são cruciais para entender o comportamento da dissolução, bem como a atividade terapêutica do fármaco e formas farmacêuticas. De acordo com Othman e colaboradores (2007) dois solvatos da finasterida foram descritos e suas estruturas cristalinas fazem parte do Cambridge Crystal Structure Database (CSD). O solvato de ácido acético tem formato monoclinico, com uma razão molar de 1:1 entre a finasterida e o solvente. Já o solvato de acetato de etila é ortorrômbico e tem uma razão molar fármaco/solvente de 2:1, além de conter água em uma razão 1:2 em relação à finasterida. Por essa razão, é conhecido como bis(finasterida) monosolvato monohidratado ou finasterida hemisolvato hemihidrato (OTHMAN *et al.*, 2007). O trabalho descreve ainda um solvato de dioxano cuja estrutura cristalina não foi publicada até o momento.

Outros polimorfos e solvatos da finasterida foram descritos em literatura, mas ainda não há evidências suficientes para assegurar que sejam polimorfos e solvatos verdadeiros. Este é o caso das formas H1 e H2, obtidas por cristalização em metanol, etanol ou isopropanol e dioxano, respectivamente. As Formas IV e V seriam obtidas, por sua vez, pelo uso de uma mistura de acetato de etila/tetrahidrofurano/água ou ácido acético diluído, respectivamente (OTHMAN *et al.*, 2007).

A formação de sais constitui uma modificação química que aumenta, normalmente, a solubilidade da molécula em água e, portanto, a dissolução do fármaco. O aumento da solubilidade pode também ser influenciado pela seleção do sal a ser utilizado. Em geral, sais preparados a partir de bases ou ácidos fortes são muito solúveis, mas também muito higroscópicos, levando a instabilidade do fármaco

(WELLS, 1988). Hirsch e colaboradores (1978) estudando a estabilidade dos diferentes sais do fenoprofeno concluíram que fenoprofeno cálcico e fenoprofeno sódico, em forma farmacêuticas apresentam igual biodisponibilidade, entretanto o fenoprofeno cálcico é mais instável do ponto de vista farmacêutico.

A forma farmacêutica, bem como os excipientes empregados para sua composição e os métodos de preparo, possuem importância fundamental na velocidade de liberação e, conseqüentemente, na absorção dos fármacos. Geralmente, a velocidade de liberação do fármaco das formas farmacêuticas administradas por via oral diminui na seguinte ordem: soluções, suspensões, pós, cápsulas, comprimidos e comprimidos revestidos e/ou drágeas (YU, CRISON e AMIDON, 1995), havendo assim, maior influência dos parâmetros físico-químicos para as formas farmacêuticas sólidas (FERRAZ, 1997).

Amidon e colaboradores (1995) propuseram um sistema de classificação biofarmacêutica que assume que a solubilidade e a permeabilidade são os parâmetros principais que controlam a absorção dos fármacos. Baseado nestes critérios, os fármacos são divididos em quatro grupos: Classe I: fármacos de alta solubilidade e alta permeabilidade; Classe II: fármacos de baixa solubilidade e alta permeabilidade; Classe III: fármacos de alta solubilidade e baixa permeabilidade; e Classe IV: fármacos de baixa solubilidade e baixa permeabilidade (AMIDON *et al.*, 1995). Segundo Loftsson e Hreinsdóttir (2006) a baixa solubilidade e boa permeabilidade da finasterida ($\text{Log } P = 3,2$) permitem classificá-la entre os fármacos de Classe II no Sistema de Classificação Biofarmacêutica.

2.2.1 Biodisponibilidade de Fármacos Pouco Solúveis

Fármacos pouco solúveis apresentam problemas de biodisponibilidade e têm demonstrado serem imprevisíveis e mais lentamente absorvidos se comparados com fármacos de maior solubilidade em água (VEIGA *et al.*, 1995).

A solubilidade aquosa é fator determinante para que novas substâncias químicas tenham sucesso como novos fármacos. Contudo, as novas tecnologias, tal como química combinatória e modelagem molecular, são baseadas no princípio da

química medicinal, segundo o qual o método mais adequado para aumentar a potência medicamentosa *in vitro* é a adição de grupo(s) lipofílico(s) à determinada posição da estrutura molecular. Tal fato tem causado um aumento expressivo no número de moléculas de caráter lipofílico, pouco solúveis. Várias técnicas têm sido empregadas para compensar a insolubilidade e, conseqüentemente, a baixa eficiência de dissolução, incluindo o emprego de sólidos amorfos nas formulações, uso de nanopartículas, microemulsões, dispersões sólidas, formação de sais e formação de complexos hidrossolúveis (LOFTSSON, HREINSDÓTTIR e MÁSSON, 2005).

As ciclodextrinas têm apresentado um papel importante no desenvolvimento de fármacos pouco solúveis por aumentar a solubilidade aparente e/ou dissolução, devido à sua propriedade de formar de complexos de inclusão ou dispersão sólida, atuando como carreadores hidrofílicos de fármacos com características inadequadas para complexação, ou ainda, como promotores da dissolução de comprimidos contendo doses elevadas de fármacos, nos quais o emprego de complexos fármaco/CD é difícil, como por exemplo, nos comprimidos de paracetamol.

Algumas das aplicações das ciclodextrinas como agentes solubilizantes de fármacos são mostradas na TABELA 2.

2.3 AS CICLODEXTRINAS

Ciclodextrinas naturais (CDs) são oligossacarídeos cíclicos contendo seis, sete ou oito unidades de α -D-glucopiranosose, formando um anel cuja superfície externa é hidrofílica e o interior constitui uma cavidade central hidrofóbica, a qual pode acomodar uma variedade de fármacos e outras substâncias lipofílicas (VEIGA *et al.*, 1995).

Uma característica importante das ciclodextrinas é a formação de complexos de inclusão tanto no estado líquido quanto no estado sólido, nos quais cada molécula-hóspede é rodeada pelo ambiente hidrofóbico da cavidade, o qual é formado por um esqueleto carbônico e oxigênios na forma de éteres. Isso pode levar à alteração de propriedades físico-químicas da molécula-hóspede, incluindo sua solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade (LOFTSSON e BREWSTER, 1996).

Estes complexos têm mostrado aumentar a estabilidade (ANDERSEN e BUNDGAARD, 1984; LOFTSSON *et al.*, 1989) solubilidade, velocidade de dissolução (PITHA *et al.*, 1986; BLANCO *et al.*, 1991; LOFTSSON, 2002) e biodisponibilidade (CHOW e KARARA, 1986; VILA-JATO, BLANCO e TORRES, 1988), além de reduzir efeitos colaterais associados com alguns fármacos (OTERO-ESPINAR *et al.*, 1991; LIN *et al.*, 1994). Podem ser usadas também na conversão de fármacos líquidos em pós microcristalinos, para evitar interações fármaco-fármaco e fármaco-excipientes e para reduzir ou eliminar sabores e odores desagradáveis das formulações (LOFTSSON e BREWSTER, 1996).

TABELA 2 – EMPREGO DAS CDS NA SOLUBILIZAÇÃO DE FÁRMACOS

CD	Fármacos
β -CD	Nimesulida, sulfometiazol, lorazepam, cetoprofeno, griseofulvina, praziquantel, clortalidona, etodolac, piroxicam, itraconazol, ibuprofeno
α -CD	Praziquantel
γ -CD	Praziquantel, omeprazol, digoxina
HP β CD	Albendazol, DY-9760e, ETH-615, levomopamil HCL, sulfometiazol, cetoprofeno, griseofulvina, itraconazol, carbamazepina, zolpidem, fenitoína, rutina
DM β CD	Naproxeno, camptotesina
SBE β CD	DY-9760e, danazol, fluasterona, espironolctona
RM β CD	ETH-615, tacrolimus
AC β CD	naproxeno

FONTE: CHALLA *et al.*, 2005.

Uma das principais utilidades potenciais das ciclodextrinas é solubilização de fármacos. A vantagem do uso de ciclodextrinas frente ao uso de solventes orgânicos está ligada não só ao aspecto toxicológico, como também ao seu desempenho no organismo. Dada a sua capacidade em formar complexos de inclusão, as ciclodextrinas normalmente solubilizam fármacos como uma função linear de sua concentração. Na presença dos líquidos orgânicos, a concentração do fármaco cairá drasticamente e não haverá precipitação. Solventes orgânicos, por outro lado,

solubilizam fármacos como uma função logarítmica de sua concentração. Quando esta solução é introduzida em um meio aquoso, o poder solubilizante do solvente orgânico cai rapidamente, pois ele também é diluído, e pode ocorrer uma precipitação. Dependendo de onde esta precipitação ocorre, pode haver um deslocamento do equilíbrio químico necessário para a absorção pelo trato gastrointestinal (BREWSTER e LOFTSSON, 2007).

As ciclodextrinas (FIGURA 6) foram isoladas pela primeira vez em 1891 como produtos de degradação do amido e foram caracterizadas como oligossacarídeos cíclicos (UEKAMA e HIRAYAMA, 1996). De acordo com o número de unidades de α -D-glucopiranosose, as ciclodextrinas são classificadas em α (seis unidades); β (sete unidades) e γ - ciclodextrina (oito unidades). Devido a fatores estéricos, não existem ciclodextrinas com menos de seis unidades α -D-glucopiranosose. Por outro lado, são conhecidas ciclodextrinas com nove (δ -), dez (ϵ -), onze (ζ -), doze (η -) e treze (θ -) unidades, porém só a δ -ciclodextrina foi bem caracterizada (LOFTSSON e BREWSTER, 1996). Os monômeros são ligados entre si por ligações α -1,4, sem livre rotação, formando moléculas tronco-cônicas com uma cavidade central hidrofóbica e uma superfície externa hidrofílica. Os grupos hidroxila primários estão localizados no lado estreito do *torus* e os secundários, no lado mais largo. Devido à diferença do diâmetro interno das cavidades das moléculas, cada ciclodextrina apresenta um grau diferente de encapsulação molecular com moléculas hóspedes diferentes (LOFTSSON e BREWSTER, 1996).

A solubilidade em água das ciclodextrinas naturais é muito menor que a dos glicídios lineares de peso molecular semelhante. Isso dificulta seu uso amplo como carreadores para fármacos, especialmente no caso da β -ciclodextrina, na qual são formadas pontes de hidrogênio entre os grupos hidroxila secundários, diminuindo a formação de pontes de hidrogênio destes com as moléculas de água que rodeiam a ciclodextrina, o que aumenta a entalpia da solubilização (LOFTSSON e BREWSTER, 1996). A adição a soluções aquosas de fármacos e a suspensões, leva à precipitação dos complexos destas ciclodextrinas.

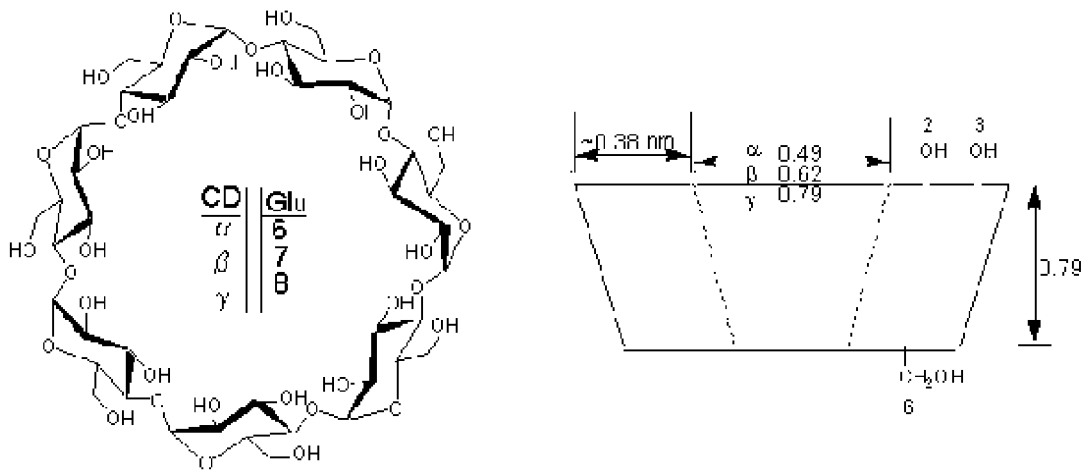


FIGURA 6 - ESTRUTURA DA CICLODEXTRINA E VISTA LATERAL DO ASPECTO TRONCO-CÔNICO DA MOLÉCULA

FONTE: JINDRICH, 2007.

Para a obtenção de propriedades carreadoras e solubilidade em água melhores que as obtidas com as ciclodextrinas naturais, os grupos hidroxila servem como pontos de partida para modificações estruturais, como a adição de grupos metila, alquila e acila (TABELA 3) (LOFTSSON e BREWSTER, 1996). A melhor solubilidade é obtida quando dois terços dos grupos hidroxila são substituídos, mas começa a cair quando a substituição é quase completa (UEKAMA e HIRAYAMA, 1996).

Os derivados metilados, hidroxialquilados e *branched* são altamente solúveis em água, sugerindo seu uso como solubilizantes para fármacos fracamente hidrossolúveis. Tanto o número médio de grupos alquila ou hidroxialquila que tenham reagido com cada unidade de α -D-glucopiranosose, quanto a localização destes grupos na molécula de ciclodextrina irão afetar as propriedades físico-químicas do derivado, incluindo a sua capacidade de formar complexos (LOFTSSON e BREWSTER, 1996).

Outros derivados foram desenvolvidos especialmente para apresentar solubilidade pH dependente, como é o caso da O-carboximetil-O-etil- β -ciclodextrina. Esta molécula apresenta um pK_a estimado de 3,7 e limitada solubilidade em pH estomacal. Já no intestino delgado, onde o pH é maior, a solubilidade da

ciclodextrina aumenta, melhorando a dissolução e liberação do fármaco nela complexado, sendo útil na formulação de formas sólidas de liberação modificada (STELLA e RAJEWSKI, 1997).

As ligações glucosídicas das ciclodextrinas são fracamente estáveis em soluções alcalinas e são hidroliticamente clivadas por ácidos fortes, dando oligossacarídeos lineares. A taxa de abertura do anel aumenta com o aumento do tamanho da cavidade e é acelerada quando o anel está retorcido. A taxa de abertura do anel da β -ciclodextrina diminui com a adição de moléculas-hóspede, especialmente aquelas que têm um formato ajustado à cavidade. Esta redução é atribuída à inibição do acesso do íon oxônio às ligações glucosídicas. As ligações glucosídicas das ciclodextrinas são quebradas por algumas amilases, porém a reação se dá de maneira muito mais lenta do que a que ocorre com os açúcares lineares. Geralmente, a introdução de substituintes nos grupos hidroxila diminui a hidrólise enzimática por diminuir a afinidade da ciclodextrina pelas enzimas. α e β -ciclodextrinas são resistentes ao metabolismo no organismo, enquanto que a γ -ciclodextrina, que tem uma grande cavidade, é hidrolisada até mesmo pela α -amilase salivar (IRIE e UEKAMA, 1997).

2.3.1 Toxicidade das ciclodextrinas

A alegada alta toxicidade oral da β CD relatada em 1957 tem sido contestada ao longo dos anos através de estudos detalhados de metabolismo e toxicidade em ratos e cães (SZEJTLI, 1984; IRIE e UEKAMA, 1997), originando uma posição mais receptiva por parte das autoridades oficiais com relação a este tipo de compostos.

A toxicidade das substâncias está diretamente ligada com sua capacidade de ser absorvida pelo organismo, de interagir com os sistemas enzimáticos, provocando alterações metabólicas ou, ainda, com a capacidade de se depositarem em certos órgãos e tecidos.

A estrutura química das ciclodextrinas, que contém um grande número de aceptores e doadores de hidrogênios, assim como seu alto peso molecular e seu coeficiente de partição em octanol/água muito baixo, são características que explicam porque elas são tão pouco absorvidas no trato gastrointestinal, contribuindo, assim, para sua baixa toxicidade (LOFTSSON e DUCHÊNE, 2007).

TABELA 3 – SOLUBILIDADE E PESO MOLECULAR DE ALGUMAS CICLODEXTRINAS NATURAIS E MODIFICADAS

Ciclodextrina	Substituição ^a	Peso molecular (Da)	Solubilidade em água (mg.mL ⁻¹) ^b
α -CD	-	972	145
β -CD	-	1135	18,5
HP β CD	0,65	1400	> 600
RM β CD	1,8	1312	> 500
SBE β CD	0,9	2163	> 500
γ CD	-	1297	232
HP γ CD	0,6	1576	> 500

FONTE: Loftsson e Duchêne, 2007.

^a Substituição: número médio de substituintes por unidade de glucopirranose.

^b Solubilidade em água pura a cerca de 25 °C.

Estudos revelaram que as α e β -ciclodextrinas naturais apresentam certo grau de nefrotoxicidade, efeito este vinculado à sua cristalização ou à formação de complexos com o colesterol nos tecidos renais. A utilização de derivados hidroxipropilados contorna este problema, já que as moléculas apresentam uma solubilidade bem mais elevada em água (IRIE e UEKAMA, 1997).

A atividade hemolítica das ciclodextrinas naturais está relacionada à solubilização de componentes das membranas celulares e segue a seguinte ordem: β -CD > α -CD > γ -CD. Quando a cavidade é modificada por derivatização química, seus efeitos sobre as membranas celulares são bastante diferentes daqueles obtidos com as moléculas originais (IRIE e UEKAMA, 1997).

A β -CD está hoje autorizada como ingrediente alimentar em vários países, tais como Suécia, Alemanha, Bélgica, Espanha, França, Holanda, Hungria, Estados Unidos da América e Japão. A monografia da β -CD está incluída na Farmacopéia Americana, Farmacopéia Européia e Farmacopéia Japonesa, entre outras, assim como no “Handbook of Pharmaceutical Excipients” (LOFTSSON e DUCHÊNE, 2007). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), na Resolução RDC 2 de 15 de janeiro de 2007 aprova o uso de ciclodextrinas como aditivos para aromatizantes (BRASIL, 2007).

2.3.2 Ciclodextrinas hidroxialquiladas

Um grupo de derivados das CDs muito utilizado hoje na complexação de fármacos é o das CDs hidroxialquiladas. Como exemplos deste tipo de derivados, existem a 2-hidroxiethyl- β -CD (2-HE β CD), a 2-hidroxi-propil- β -CD (2-HP β CD), a 3-hidroxi-propil- β -CD (3-HP β CD) e a 2,3-dihidroxi-propil- β -CD (2,3-DHP β CD) (FIGURA 7) (DUCHÊNE e WOUESSIDJEWE, 1990).

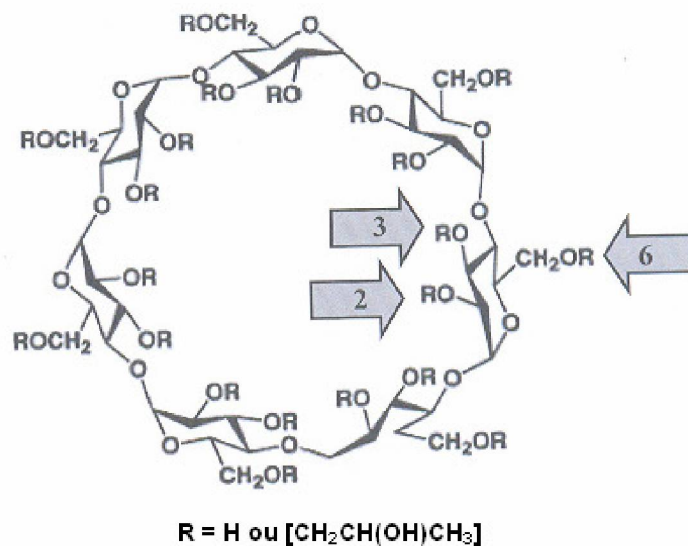


FIGURA 7 - ESTRUTURA DO DERIVADO HPCD. EM DESTAQUE, AS POSIÇÕES DOS GRUPOS SUBSTITUÍNTES

FONTE: DUCHÊNE e WOUESSIDJEWE, 1990

As ciclodextrinas hidroxialquiladas são largamente aplicadas na indústria alimentícia, farmacêutica e de produtos para agricultura. São preparadas por meio da reação de β -ciclodextrina com óxido de propileno em soluções alcalinas. Altas concentrações de álcalis favorecem a alquilação em O-6, enquanto que concentrações baixas, favorecem-na em O-2, gerando produtos sempre alquilados randomicamente. Por esta razão, as HP β CD são misturas amorfas de componentes quimicamente relacionados com diferentes graus de substituição. Esta característica heterogênea previne a cristalização e, com isso, permite que o derivado hidroxialquilado seja bastante solúvel em água e etanol (YUAN, JIN e LI, 2008).

O grau e o padrão de substituição podem afetar a formação e a estabilidade dos complexos de inclusão com estas ciclodextrinas. Segundo Yuan, Jin e Li (2008), HP β CDs com grau de substituição inferior a 8 teriam propriedades de solubilização ótimas para moléculas-hóspede lipossolúveis e estas preparações poderiam ser transformadas em pós não-higroscópicos.

Em razão da sua polaridade, a HP β CD não é capaz de atravessar membranas lipídicas, mas pode extrair delas moléculas de colesterol. Este efeito é observado somente por via injetável e pode causar irritação dos tecidos. Por via oral, estudos metabólicos e farmacocinéticos realizados em diferentes modelos animais demonstraram que apenas 1 a 3% da HP β CD administrada pode ser absorvida de forma intacta, sendo o material não absorvido excretado nas fezes (RAMA *et al.*, 2005).

Quando se administra por via oral um complexo de inclusão de um fármaco com uma ciclodextrina hidroxialquilada, de acordo com os estudos realizados previamente, espera-se que o complexo não sofra qualquer tipo de alteração ao chegar no estômago. No intestino delgado, os complexos serão continuamente formados e dissociados e haverá competição entre o fármaco e os sais biliares pela complexação com a ciclodextrina. Conseqüentemente, a presença de complexos hidrossolúveis no epitélio intestinal hidratado favorecerá a disponibilidade e absorção do fármaco (LOFTSSON e DUCHÊNE, 2007). No intestino grosso, as bactérias da flora microbiana realizarão, em pequena extensão, a hidrólise enzimática da HP β CD, sendo que a maior parte da ciclodextrina será eliminada nas fezes na forma intacta (RAMA *et al.*, 2005).

A HP β CD foi a primeira ciclodextrina modificada aprovada pelo FDA (YUAN, JIN e LI, 2008) e já possui monografia na Farmacopéia Européia (BREWSTER e LOFTSSON, 2007).

2.3.3 Fatores que interferem na complexação

Vários são os fatores que condicionam a complexação com ciclodextrinas, destacando-se a composição química, tamanho e geometria da molécula-hóspede,

sua solubilidade em água, estado de ionização, peso molecular e ponto de fusão, além das condições do meio, como temperatura, pH e solventes utilizados. De forma geral, a complexação ocorre de forma mais favorável quando a molécula-hóspede possui uma massa molecular entre 100 e 400 Da, solubilidade em água inferior a 10 mg/mL e ponto de fusão inferior a 250 °C. Moléculas maiores também podem ser complexadas, desde que apresentem cadeias laterais apropriadas para a inclusão parcial, que também levará a modificações na solubilidade e estabilidade da molécula original (RAMA *et al.*, 2005).

Segundo Challa e colaboradores (2005), além dos aspectos relativos à natureza da molécula hóspede, outros fatores podem influenciar a formação dos complexos de inclusão: (1) O tipo de CD pode influenciar a formação bem como o desempenho do complexo fármaco:CD; (2) Mudanças na temperatura podem afetar a complexação fármaco:CD. Em muitos casos, o aumento da temperatura reduz a magnitude da constante de estabilidade do complexo (K_c) sendo este efeito atribuído para a possível redução das forças de interação fármaco:CD, como forças de van der Waals e forças hidrofóbicas. Contudo, mudanças na temperatura podem ter efeito negligenciável quando a interação fármaco:CD é predominantemente resultante da liberação de moléculas de água de hidratação ao redor da carga das moléculas hóspede e hospedeiro no complexo de inclusão; (3) O método de preparação, coevaporação, malaxagem, dispersão sólida, co-precipitação, *spray drying*, ou liofilização podem afetar a complexação fármaco:CD. A efetividade do método depende da natureza do fármaco e da CD.

As propriedades físico-químicas das CDs, incluindo a habilidade de complexação, podem ser influenciadas pelo tipo, número e posição dos substituintes sobre a molécula de CD. Quando produzidas sob diferentes condições, as propriedades físico-químicas da HP β CD com o mesmo grau de substituição podem não ser idênticas em virtude das diferenças na posição de ocupação dos grupos hidroxilas. A pureza da CD também pode ter efeito significativo na qualidade do complexo (BLANCHARD e PRONIUK, 1999).

A complexação com ciclodextrinas é caracterizada pela ausência de formação e quebra de ligações covalentes. A força motriz do processo é a entalpia gerada pela saída de moléculas de água presentes na cavidade da ciclodextrina, que

estavam impossibilitadas de fazer ligações de hidrogênio com o meio externo. A energia do sistema diminui quando a molécula-hóspede menos polar entra na cavidade da ciclodextrina, expulsando as moléculas de água que ali estavam. Outras forças também contribuem para a manutenção do complexo, como a liberação da tensão do anel (especialmente para as α -ciclodextrinas), interações do tipo van der Waals, ligações de hidrogênio e alterações da tensão superficial do solvente utilizado como meio para a complexação (LOFTSSON e BREWSTER, 1996).

O fato de não haver formação de ligações covalentes entre a molécula-hóspede e a ciclodextrina faz com os complexos se dissociem facilmente em condições fisiológicas (RAMA *et al.*, 2005). Em solução aquosa, os complexos coexistem em equilíbrio com a molécula-hóspede livre, constituindo um processo dinâmico em que a molécula-hóspede se associa e se dissocia constantemente da ciclodextrina. Vários equilíbrios químicos podem ser encontrados no sistema simultaneamente (DUCHENE, WOUESSIDJEWÉ e POELMAN, 1997):

Molécula-hóspede não-dissolvida \leftrightarrow molécula-hóspede dissolvida

Molécula-hóspede dissolvida + ciclodextrina dissolvida \leftrightarrow complexo dissolvido

Complexo dissolvido \leftrightarrow complexo não-dissolvido

A extensão da complexação em meio aquoso é caracterizada pela constante de complexação K , que representa a estabilidade do complexo formado. Considerando que uma molécula de ciclodextrina seja capaz de complexar uma molécula-hóspede, $K_{1:1}$ pode ser definido como (STELLA e RAJEWSKI, 1997):

$$K_{1:1} = \frac{[\text{molécula - hóspede}]_{\text{complexada}}}{[\text{molécula - hóspede}]_{\text{livre}} [\text{ciclodextrina}]_{\text{livre}}}$$

Valores baixos de K indicam que o complexo tenderá a existir mais na forma dissociada, enquanto que valores altos indicam que a forma complexada será predominante em relação à forma dissociada (DUCHENE, WOUESSIDJEWÉ e POELMAN, 1997).

Vários métodos podem ser empregados para a determinação dos valores de K, detectando modificações de características físico-químicas e químicas da molécula-hóspede, entre os quais merecem destaque a variação da solubilidade em água, reatividade química, absorvidade molar, métodos pHmétricos e estudos de solubilidade de fase (LOFTSSON e BREWSTER, 1996).

O fato de os complexos normalmente constituírem uma mistura de complexos de inclusão e não-inclusão em soluções aquosas saturadas explica porque o valor da constante de equilíbrio algumas vezes é dependente da concentração e porque seu valor numérico varia dependendo do método empregado para sua determinação (LOFTSSON e DUCHÊNE, 2007). Vale ressaltar que a determinação do valor de K não indica se um fármaco formou ou não um complexo de inclusão com uma ciclodextrina, apenas indica como a ciclodextrina influenciou a mudança em alguma propriedade do fármaco, entre elas a solubilidade (LOFTSSON, MÁSSON e BREWSTER, 2004).

Embora seja a mais comum, além da forma clássica de complexação em que a molécula-hóspede se situa dentro da cavidade hidrofóbica da ciclodextrina, podem ocorrer outras formas de associação entre as ciclodextrinas e outras moléculas, de forma análoga ao que ocorre com oligossacarídeos e polissacarídeos não-cíclicos (BREWSTER e LOFTSSON, 2007). Os grupos hidroxila presentes na superfície externa do anel podem formar pontes de hidrogênio com outras moléculas. Tanto as ciclodextrinas sozinhas quanto os complexos podem formar agregados que, por sua vez, também são capazes de melhorar a solubilidade em água de moléculas hidrofóbicas por um mecanismo semelhante à formação de micelas (LOFTSSON, HREINSDÓTTIR e MÁSSON, 2007).

2.3.4 Caracterização dos Complexos de Inclusão

Uma das principais características das CDs é o fato de formarem complexos de inclusão quer em solução, quer no estado sólido, nos quais cada molécula hóspede se encontra envolvida pelo ambiente hidrofóbico da cavidade da CD. Desta forma, faz-se necessário lançar mão de diferentes técnicas para avaliar cada caso

específico, levando em conta a natureza do complexo e as características químicas da molécula-hóspede.

Várias técnicas podem ser empregadas para avaliar a formação de complexos entre fármacos e ciclodextrinas. Entre elas, podemos citar a microscopia eletrônica de varredura (RIBEIRO *et al.*, 2003); os métodos termoanalíticos, como a calorimetria exploratória diferencial, e a difração em raios-X. Métodos espectroscópicos, como a espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (RAO *et al.*, 2006) e espectroscopia Raman (VEIGA *et al.*, 1995; PEREIRA *et al.*, 2007), permitem verificar quais grupamentos químicos da molécula hóspede interagem com a CD. A ressonância magnética nuclear é de especial valia, pois a combinação desta técnica com o uso de softwares como o HyperChem 6 ou o GROMACS, permite realizar a modelagem molecular do complexo (OMARI *et al.*, 2006; BÉNI *et al.*, 2007; DRAGAN *et al.*, 2007; FIGUEIRAS *et al.*, 2007).

2.3.4.1 Detecção da Formação de Complexos em Solução

Método de Solubilidade de Fases

Entre as propriedades das moléculas hóspedes que se pretendem alterar por complexação com CDs, a solubilidade é sem dúvida aquela que mais interesse apresenta em termos de aplicações farmacêuticas. Por conseguinte, o método de solubilidade de fases, descrito por Higuchi e Connors (1965), é habitualmente utilizado como primeira verificação da formação de complexos de inclusão em solução.

Este método fundamenta-se na monitorização das alterações de solubilidade das moléculas hóspedes induzidas pela adição de quantidades crescentes de agentes solubilizantes/complexantes, como as CDs, e, algumas vezes, de co-complexantes. A capacidade de solubilização das CDs é então quantitativamente avaliada por meio de diagramas de solubilidade de fases, cuja forma é dependente do modelo de equilíbrio que se estabelece durante a formação dos complexos de inclusão, estando classificada basicamente em dois tipos, A e B, que, por sua vez, apresentam diferentes subtipos.

Os diagramas do tipo A correspondem à formação de complexos solúveis, e, portanto, demonstram um aumento da solubilidade da molécula hóspede em função do aumento da concentração de CD. Dependendo da natureza dos complexos formados, os diagramas poderão ser lineares, A_L , ou apresentarem uma curvatura positiva, A_P , ou negativa, A_N . Os diagramas lineares A_L resultam da formação de complexos de primeira ordem em relação à CD e podem ser de ordem 1 em relação à molécula hóspede, enquanto que diagramas do tipo A_P sugerem a formação de um complexo de ordem 2 ou superior. Os diagramas do tipo A_N podem resultar da auto-agregação dos complexos em solução.

Os diagramas do tipo B, por sua vez, correspondem à formação de complexos insolúveis ou de solubilidade limitada. As isotermas do tipo B_S correspondem à sistemas em que a medida que a concentração de CD aumenta, um complexo solúvel é formado, fazendo com que haja um aumento da solubilidade da molécula hóspede. Porém, em um determinado ponto, a solubilidade máxima do fármaco é atingida e um acréscimo de CD forma complexos insolúveis que precipitam. Por fim, os diagramas do tipo B_I têm a mesma origem que os B_S , porém, os complexos formados desde o início do ensaio são tão insolúveis que em nenhum momento a solubilidade do fármaco aumenta em relação ao valor inicial (BREWSTER e LOFTSSON, 2007).

Espectroscopia de Ultravioleta/Visível

Os métodos espectroscópicos são também muito usados na detecção da formação dos complexos de inclusão em solução. Muitas moléculas hóspedes apresentam alterações nos seus espectros de absorção de ultravioleta/visível após a sua complexação, ocorrendo normalmente um desvio batocrômico e/ou um alargamento das bandas. Estas alterações se devem à perturbação dos níveis de energia dos elétrons da molécula hóspede, resultante quer de uma interação direta com a CD, quer da expulsão das moléculas de água de solvatação ou ainda da combinação destes dois efeitos (CLARKE, COATES e LINCOLN, 1988).

Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) é uma das técnicas mais usadas na investigação da estabilidade, estequiometria e geometria dos complexos de inclusão. As técnicas de RMN-¹H proporcionam um importante conhecimento acerca da estrutura e interações estabelecidas pelas CDs e seus complexos de inclusão (IKEDA *et al.*, 2004; TRAPANI *et al.*, 2007).

2.3.4.2 Detecção da Formação de Complexos no Estado Sólido

A formação dos complexos em solução não garante necessariamente a sua obtenção e isolamento no estado sólido, uma vez que estes são o resultado de um conjunto de equilíbrios químicos. O produto sólido resultante pode ser apenas uma dispersão fina do fármaco no seio da CD ou ainda uma mistura constituída pelo complexo de inclusão, fármaco não complexado e CD sob a forma hidratada. Assim, a caracterização físico-química dos produtos resultantes no estado sólido, torna-se indispensável.

São muitas as metodologias que podem ser utilizadas para a investigação dos complexos de inclusão no estado sólido, apresentando todas elas características próprias que permitem não só detectar a formação do complexo de inclusão, como também conhecer a sua estrutura química e interações que se estabelecem entre os diferentes componentes que o constituem.

2.3.4.2.1 Microscopia eletrônica de varredura (SEM)

A microscopia eletrônica de varredura está baseada no princípio de que as amostras a serem analisadas podem ser consideradas como uma coleção de fontes pontuais de radiação, sendo que cada uma delas transmite informações sobre sua composição e estrutura. Nos microscópios eletrônicos de varredura, os elementos individuais da amostra são irradiados pelo feixe de elétrons sucessivamente e a radiação correspondente emitida é usada para construir uma imagem do objeto inteiro. Assim, qualquer forma de radiação emitida pelo objeto pode ser utilizada na

formação da imagem, porém o mais comum é utilizar os elétrons secundários excitados pelos elétrons do feixe que percorreu a amostra (GOODHEW, HUMPHREYS e BEANLAND, 2001).

A microscopia eletrônica de varredura usa como radiação um feixe de elétrons de 2 a 3 nm. Neste tipo de microscópio, a fonte é programada para formar uma espécie de sonda muito fina que é movida de forma regular sobre a amostra, seguindo um sistema de coordenadas x-y, graças a um aparato de deflexão magnética. As radiações que deixam cada ponto da superfície da amostra são coletadas seqüencialmente por um transdutor. O sinal é transmitido então para um amplificador, gerando diferentes níveis de intensidade. Ao ser transferida para a tela de uma televisão ou computador, a imagem formada aparenta ser tridimensional, pois os sinais oriundos da amostra foram refletidos de uma superfície opaca. Da mesma forma que a reflexão da luz em uma superfície irregular, a imagem obtida na SEM é formada em contraste topográfico, isto é, a intensidade dos pontos obtidos varia de acordo com a topografia da superfície da amostra (GOODHEW, HUMPHREYS e BEANLAND, 2001).

A fim de tornar a amostra eletricamente condutiva e assim permitir a emissão dos elétrons secundários, esta deve ser submetida a um processo de metalização antes de ser levada ao microscópio. Este pré-tratamento consiste em aplicar, sob vácuo, uma camada muito fina e descontínua de metais pesados (usualmente platina ou tungstênio) sobre a amostra já fixada em um suporte adequado. Os átomos de metal acumulados na superfície da amostra irão produzir um alto nível de contraste topográfico, formando uma imagem mais nítida (SLAYTER e SLAYTER, 1994).

A SEM contribui para detectar a formação de complexos fármaco/ciclodextrina no estado sólido à medida que permite a visualização e diferenciação das partículas de ciclodextrina dos cristais de fármaco (PRALHAD e RAJENDRAKUMA, 2004). Em geral, as partículas de ciclodextrina são globulares, medindo de 1 a 180 μm , enquanto que os fármacos apresentam-se na forma de cristais menores, com formato irregular, mas com uma distribuição de tamanho de partícula mais homogênea (RIBEIRO *et al.*, 2003). Nas misturas físicas é possível distinguir as partículas de fármaco das partículas de ciclodextrina. Porém, quando um complexo é

formado, o estado cristalino resultante é diferente do obtido pela simples mistura da molécula hóspede com a CD (MOYANO *et al.*, 1995). Apesar dos estudos de SEM serem inadequados para confirmar a formação de complexos de inclusão, as alterações drásticas na forma das partículas, bem como no seu aspecto e tamanho apontam para a existência de novas fases sólidas. Um exemplo da utilização da SEM como auxiliar na caracterização de complexos de inclusão é o trabalho de Ribeiro e colaboradores (2003) que avaliaram a complexação de vinpocetina com sulfobutiléter- β -CD.

2.3.4.2.2 Difração de raios X

A cristalografia em raios X utiliza a natureza de partícula e onda dos raios X para obter informações a respeito da estrutura cristalina dos materiais. Suas principais aplicações incluem (a) a identificação de materiais de fase única, como minerais, compostos químicos ou cerâmicas; (b) identificação de fases múltiplas em misturas microcristalinas, como rochas; (c) determinação da estrutura cristalina de materiais conhecidos; (d) identificação e análise estrutural de minerais do solo e (e) identificação de materiais amorfos em misturas parcialmente cristalinas (CONNOLLY, 2007).

A FIGURA 8 traz uma representação esquemática de um difratômetro de raios X. A técnica consiste em fazer incidir os raios X, na forma de um feixe praticamente paralelo, sobre a amostra em um ângulo θ . Ao encontrar os átomos da amostra, os raios X são desviados (difratados), formando um ângulo entre amostra e detector denominado 2θ . Esta radiação passa por filtros, a fim de retirar outras formas de radiação interferentes, e atinge um detector (CONNOLLY, 2007).

A interação dos raios X com a amostra cria feixes de radiação secundária difratada relacionada com os espaços interplanares na estrutura cristalina de acordo com uma relação matemática denominada Lei de Bragg:

$$n\lambda = 2d \sin \theta$$

onde n é um integrador; λ é o comprimento de onda dos raios X; d é o espaço interplanar que gera a difração e θ é o ângulo de difração. Conforme colocado anteriormente, o ângulo de difração (denominado 2θ por convenção) é relacionado ao espaço interplanar d por meio da lei de Bragg. Por outro lado, a intensidade máxima de difração está relacionada com a força desta difração na amostra. Os ângulos e intensidades de difração são gravados eletronicamente por um detector e, por meio de um software plota-se os valores de 2θ *versus* a intensidade da difração, sendo obtido um gráfico que representa o padrão de difração daquela amostra.

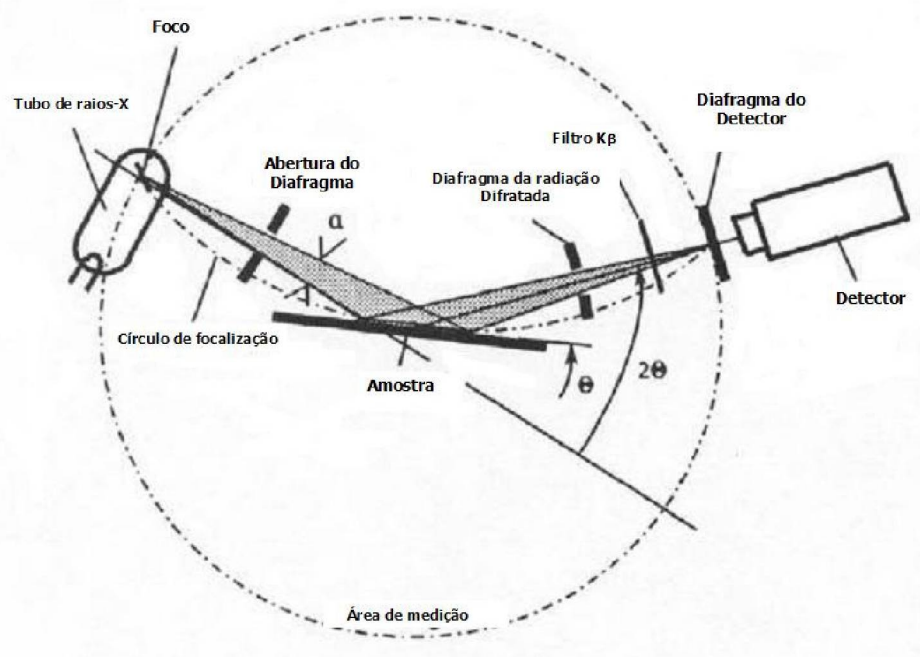


FIGURA 8 - ESQUEMA DE FUNCIONAMENTO DE UM DIFRATÔMETRO DE RAIOS-X
 FONTE: CONNOLLY, 2007 (adaptado).

Na área farmacêutica, a difração em raios X tem especial utilidade na identificação de polimorfismo em fármacos. Na detecção da complexação de fármacos com ciclodextrinas é também uma técnica bastante simples e útil, baseando-se no princípio de que o fenômeno está freqüentemente associado ao aumento do grau de amorfização das substâncias envolvidas na formação do complexo em estado sólido. Se houver uma distinção clara entre o padrão de difração do complexo em relação à sobreposição dos padrões de difração do fármaco puro e da ciclodextrina, evidencia-se a formação de um complexo de

inclusão real (RIBEIRO *et al.*, 2003). Grande parte dos artigos científicos que tratam da complexação de fármacos com ciclodextrinas traz a difração em raios X como um dos métodos para avaliação da formação do complexo. Como exemplos, podemos citar os trabalhos de Aigner e colaboradores (2002), envolvendo a formação de complexos binários e ternários de tenoxicam com γ -CD; Liu e colaboradores (2006), que estudaram a complexação da baicaleína com a HP β CD; e de Zingone e Rubessa (2004), que realizaram um estudo de pré-formulação do complexo de inclusão warfarina/ β -CD.

2.3.4.2.3 Métodos termoanalíticos

As técnicas termoanalíticas são aplicáveis em todos os campos da análise farmacêutica qualitativa e quantitativa e desempenham um papel muito importante no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas, sendo aplicadas no estudo de reações e cinética de decomposição de fármacos, determinação de pureza, caracterização de sólidos farmacêuticos, caracterização de excipiente, estudos de compatibilidades fármaco-fármaco, fármaco-excipiente, excipiente-excipiente e estudo de estabilidade das formulações.

Entre os vários métodos de análise térmica disponíveis, a calorimetria exploratória diferencial ou DSC (Differential Scanning Calorimetry) é a mais comumente utilizada.

A DSC tem sido amplamente utilizada na detecção da formação de complexos entre fármacos e ciclodextrinas. Babu e Pandit (1995) estudaram a formação de complexos de inclusão ciclodextrina-glibenclamida usando DSC; a velocidade de dissolução da substância pura e do complexo de inclusão formado foi comparada. Rao e colaboradores (2006) caracterizaram os complexos da rifampicina com β -CD e HE β CD por meio de DSC e verificaram, também, que a concentração inibitória mínima do fármaco *in vitro* foi reduzida graças à complexação. As interações entre o sildenafil e vários tipos de CDs foram avaliadas por Omari e colaboradores (2006), sendo a β -CD a escolhida para a formação dos complexos de inclusão, avaliados por meio de DSC, difração em raios X e ressonância magnética

nuclear de próton. Complexos binários e ternários de naproxeno com HP β CD foram avaliados por meio de DSC por Mura, Faucci e Bettinetti (2001).

A finalidade da utilização desta metodologia consiste na comparação dos perfis térmicos resultantes das misturas físicas de fármaco e CD com os perfis resultantes dos respectivos complexos, para que seja evidenciada ou não a ocorrência de inclusão do fármaco na cavidade da CD. Na ausência de qualquer tipo de interação entre o fármaco e a CD, as curvas DSC resultantes deverão corresponder ao somatório das curvas DSC dos componentes individuais. Na eventualidade da ocorrência de inclusão do fármaco no interior da CD, o seu ponto de fusão, ebulição ou sublimação sofrem deslocamento para temperaturas diferentes ou desaparecem do intervalo de temperaturas anterior à decomposição da respectiva CD (CABRAL-MARQUES, 1990).

2.3.5 Estratégias para aumentar a eficiência de complexação das ciclodextrinas

Os avanços no campo farmacêutico resultantes da utilização de CDs para formulação de fármacos insolúveis nem sempre são suficientes, sendo necessário o contínuo esforço em tentar melhorar as formulações fármaco-CD. Nos casos em que é utilizada a β -CD, o aumento de solubilidade atingido pelos fármacos é modesto, comparativamente à utilização dos seus derivados de preço mais elevado, nem sempre permitindo que seja atingido um valor de solubilidade suficiente ou que seja formulado um comprimido de tamanho adequado à fácil deglutição (BADWAN, 1997).

Além da limitada solubilidade da β -CD, a eficiência de complexação das CDs em geral é normalmente baixa e, por conseguinte, são necessárias elevadas quantidades de CDs para se atingir o desejado efeito complexante, solubilizante e estabilizante sobre os fármacos (LOFTSSON, 1998). Diversas estratégias têm sido utilizadas com o fim de diminuir a quantidade destes agentes nas formulações, por razões relacionadas com a otimização da biodisponibilidade dos fármacos ou por razões de ordem tecnológicas, toxicológicas e econômicas.

Apesar de suas propriedades favorecerem a estabilidade e solubilidade de fármacos, um excesso de ciclodextrinas em uma formulação farmacêutica pode

trazer alguns problemas. Para fármacos de alta dosagem, a complexação pode representar um ganho de peso muito grande traduzido em formas sólidas maiores, de difícil manipulação e deglutição. Pode haver, também, queda na eficácia do sistema conservante (LOFTSSON e BREWSTER, 1996), problemas toxicológicos, queda na biodisponibilidade de fármacos da classe I e classe III, e na isotonicidade do meio (LOFTSSON e DUCHÊNE, 2007). Por estas razões, deve-se considerar a menor quantidade possível de ciclodextrina para obtenção dos complexos. Assim, torna-se extremamente importante desenvolver estratégias que aumentem a eficiência de complexação das CDs.

Vários métodos foram descritos por diferentes autores para melhorar a eficiência das complexações e assim reduzir a quantidade de ciclodextrina nos complexos. Todos os métodos levam em consideração o fato de que o complexo é constituído, na verdade, por um equilíbrio químico entre o fármaco na sua forma livre e complexado. Melhorando a solubilidade intrínseca do fármaco em questão, o equilíbrio químico é deslocado no sentido da formação do complexo e não da sua dissociação. Visando atingir este objetivo, pode-se trabalhar com fármacos na sua forma ionizada, formação de sais, complexação com metais e adição de co-solventes orgânicos.

Formação de Complexos Multicomponentes com Polímeros

A eficiência de complexação das CDs pode ser aumentada por adição ao meio complexante de uma reduzida quantidade de polímero hidrossolúvel, resultando na formação de um complexo multicomponente fármaco-CD-polímero, também designado por co-complexo (fármaco-CD)-polímero. Este complexo, em geral, apresenta um notável aumento de solubilidade comparativamente ao correspondente complexo binário (LOFTSSON *et al.*, 1994).

Além da sua conhecida interação com os fármacos, os polímeros hidrossolúveis têm também a capacidade de interagir com a superfície externa hidrofílica das CDs (HLÁDON e CWITERNIA, 1994) e com os complexos binários fármaco-CD (VALERO, 2003). Loftsson (1995) propõe a utilização de três categorias

diferentes de polímeros, para a obtenção de sistemas ternários de complexação, a citar:

1. Polímeros semi-sintéticos derivados da celulose: metilcelulose (MC), hidroxietilcelulose (HEC), hidroxipropilcelulose (HPC), hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), hidroetilmetilcelulose (HEMC) e carboximetilcelulose sódica (Na-CMC).
2. Polissacarídeos naturais ou polipeptídeos: inulina, pectina, alginato de sódio, ágar, caseína, carragenina, quitosana, escleroglucano e mucina.
3. Polímeros sintéticos do tipo polivinilo ou co-polímeros de ácido acrílico e outros polímeros (polímeros neutros ou com carga iônica): polivinilpirrolidona (PVP), álcool polivinílico (PVA) e brometo de hexadimetrina (HDMB).

Os polímeros interagem com as CDs e com os complexos fármaco-CD, quer por estabelecimento de interações com a superfície externa da molécula de CD, quer por formação de complexos de inclusão. As interações estabelecidas são do tipo Van der Waals e ligações de hidrogênio (LOFTSSON, 1998).

Vários autores demonstraram a possibilidade dos polímeros formarem complexos com diversos fármacos aumentando a sua solubilidade (ACARTURK, KISLAL e CELEBI, 1992; BETTINETTI e MURA, 1994; LOFTSSON, FRIKDRIKSDOTTIR e GUMUNDSOTTIR, 1996). Tanto as CDs quanto os polímeros formam complexos solúveis com diferentes fármacos podendo ser utilizados como agentes solubilizantes. Contudo, quando o polímero e a CD são misturados em solução, o aumento de solubilidade atingido é superior ao somatório dos efeitos de cada um dos componentes individuais, demonstrando um efeito sinérgico indicativo da formação de um novo tipo de complexo entre o fármaco, CD e polímero. Nesta situação, a CD pode ser considerada como agente complexante e o polímero como agente co-complexante (LOFTSSON, 1998).

Os polímeros aumentam o efeito solubilizante, estabilizante e complexante das CDs na preparação de complexos fármaco-CD. O valor da constante de estabilidade dos complexos aumenta, bem como a incorporação de fármaco nos complexos fármaco-CD em estado sólido. Este fato permite diminuir a quantidade de CDs presente nas formulações. Paralelamente, as formas farmacêuticas sólidas que contêm os supracitados complexos ternários caracterizam-se por uma dissolução mais rápida e eficiente (RAJEWSKI e STELLA, 1996; SAVOLAINEN *et al.*, 1998).

Complexos quaternários também já foram descritos, envolvendo o fármaco, a CD, um polímero e um quarto componente como ácido tartárico ou íons magnésio. Porém a formação de complexos nestas condições depende grandemente do tipo de polímero, do fármaco e da CD empregados (BREWSTER e LOFTSSON, 2007).

Mecanismo envolvido na formação de complexos multicomponentes

O mecanismo pelo qual a eficiência de complexação das CDs é aumentada na presença dos polímeros hidrossolúveis não está totalmente esclarecido. Contudo, existe um mecanismo proposto com base na analogia dos aumentos de solubilidade conferidos pelos polímeros nas soluções aquosas de tensoativos. Segundo este pressuposto, o mecanismo de complexação associado à formação dos complexos multicomponentes com polímeros deverá ser semelhante à formação dos complexos tensoativos-polímero (LOFTSSON, 1995).

Em solução aquosa, os polímeros diminuem a mobilidade das CDs e aumentam a solubilidade dos complexos formados. Contudo, tal como para os complexos tensoativo-polímero, a estrutura química dos complexos resultantes permanece desconhecida. Sabe-se que, em solução aquosa, os polímeros hidrossolúveis alteram a hidratação das moléculas de CD, bem como sua estrutura tridimensional, atuando como co-complexante (LOFTSSON e FRIKDRIKSDOTTIR, 1998).

Em conclusão, os polímeros hidrossolúveis interagem com as moléculas de CDs ou com os complexos fármaco-CD, formando complexos multicomponentes fármaco-CD-polímero ou co-complexos, isto é, um complexo formado entre vários complexos binários fármaco-CD com uma cadeia linear de polímero [(fármaco-CD)_n-polímero]. Estes agregados apresentam valores de K superiores aos apresentados pelos respectivos complexos fármaco-CD o que está na origem da maior solubilidade dos complexos multicomponentes (CAPPELLO *et al.*, 2001) (FIGURA 9). Exemplos de complexos de fármacos com ciclodextrinas em que este ganho foi observado são o naproxeno/HPβCD (MURA, FAUCCI e BETTINETTI, 2001); vinpocetina/SBEβCD (RIBEIRO *et al.*, 2003); glimepirida/HPβCD e SBEβCD

(AMMAR *et al.*, 2006) e nitroimidazóis, como metronidazol, tinidazol, ornidazol e secnidazol/HP β CD; β -CD ou M β CD (CHADHA *et al.*, 2007).

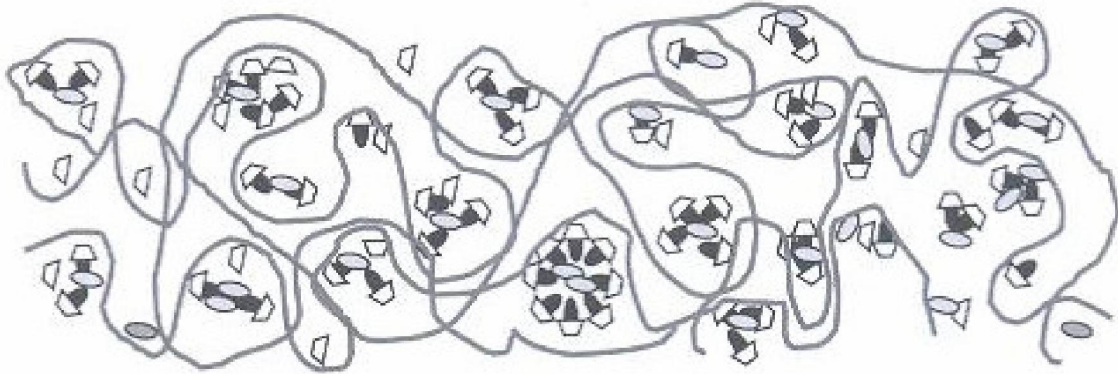


FIGURA 9 - REPRESENTAÇÃO DOS COMPLEXOS FÁRMACO-CD-POLÍMERO EM SOLUÇÃO
FONTE: CAPELLO, 2001.

Savolainen e colaboradores (1998) verificaram um aumento sinérgico da solubilidade da glibenclamida na presença da β -CD, HP β CD ou SBE β CD e da HPMC. A adição de pequenas quantidades do polímero (0,05% HPMC) ao meio de complexação reduziu em 40 a 80% ou teor de CD nas formulações, sem qualquer prejuízo na biodisponibilidade do fármaco.

2.3.6 Aplicação Farmacêutica das Ciclodextrinas

A capacidade das CDs formarem complexos de inclusão, tanto em solução, como no estado sólido, origina modificações nas propriedades físicas e químicas da molécula incluída, que têm, conseqüentemente, implicações ao nível das propriedades biológicas da molécula hóspede (fármaco) e são particularmente úteis no campo farmacêutico. De fato, mais de 30% das patentes relacionadas com CDs publicadas no *Chemical Abstracts* destinam-se a aplicações farmacêuticas (ZHANG e REES, 1999). Não obstante este tão importante campo de aplicação, as CDs são também utilizadas em química analítica, indústria dos cosméticos e pesticidas e nas indústrias alimentar e química (SZEJTLI, 1988).

O custo das ciclodextrinas representou uma barreira ao seu uso industrial em larga escala. Em 1970, o preço de um quilo de β -ciclodextrina custava em torno de U\$ 2000,00. Hoje, no entanto, a produção mundial está próxima de 10000 toneladas ao ano e o custo caiu para U\$ 5,00 por quilo (LOFTSSON e DUCHÊNE, 2007), o que deve representar um estímulo ao crescimento do mercado de especialidades farmacêuticas contendo fármacos complexados.

No domínio farmacêutico, a primeira aplicação comercial ocorreu no Japão, em 1976, com a introdução do complexo de PGE_2 - β -CD (Prostarmon[®], da empresa Ono) na forma de comprimidos sublinguais. Apenas 12 anos mais tarde a italiana Chiesi Farmaceutici lançou o medicamento Cicladol[®] (piroxicam/ β -ciclodextrina) (LOFTSSON e DUCHÊNE, 2007). Atualmente, cerca de 30 a 40 fármacos são comercializados na forma de complexos de ciclodextrina no mundo todo (TABELA 4) (LOFTSSON e DUCHÊNE, 2007). Os comprimidos são as formas farmacêuticas mais comuns, mas os fármacos complexados também estão presentes em cápsulas, soluções para injeção endovenosa, pomadas, supositórios, colírios e aerossóis de aplicação nasal (LOFTSSON e DUCHÊNE, 2007).

Além das aplicações convencionais das CDs como excipientes farmacêuticos, existem indícios de que estas moléculas possam atuar como agentes terapêuticos, devido à capacidade de complexarem *in vivo* moléculas hóspede exógenas ou endógenas, como o colesterol e o ácido araquidônico, possibilitando a sua utilização no tratamento de determinadas doenças como aterosclerose, processos inflamatórios ou infecções virais (ZHANG e REES, 1999).

TABELA 4 – EXEMPLOS DE MEDICAMENTOS CONTENDO CICLODEXTRINAS COMERCIALIZADOS NO MUNDO

Fármaco/CD	Nome comercial	Forma Farmacêutica	País
α-ciclodextrina			
Aloprostadiil (PGE ₁)	Prostavastatina, Rigidur	Solução E.V.	Japão, Europa, EUA
OP-1206	Opalmon	Comprimido	Japão
Cefotiam hexetil HCl	Pansporin T	Comprimido	Japão
β-ciclodextrina			
Benexato HCl	Ulgut, Lonmiel	Cápsula	Japão
Cefalosporina (ME1207)	Meiact	Comprimido	Japão
Clordiazepóxido	Transillum	Comprimido	Argentina
Dexametasona	Glymesason	Pomada	Japão
Difenidramina HCl, Clorteofilina	Stada-Travel	Comprimido mastigável	Europa
Iodo	Mena-Gargle	Solução	Japão
Nicotina	Nicorette, Nicogum	Comprimido sublingual, goma de mascar	Europa
Nimesulida	Nimedex	Comprimido	Europa
Nitroglicerina	Nitropen	Comprimido sublingual	Japão
Omeprazol	Omebeta	Comprimido	Europa
PGE ₂	Prostarmon E	Comprimido sublingual	Japão
Piroxicam	Brexin, Flogene, Cicladon	Comprimido, supositório, líquido	Europa, Brasil
Ácido tiaprofênico	Surgamyl	Comprimido	Europa
2-hidroxiopropil-β-ciclodextrina			
Cisaprida	Propulsid	Supositório	Europa
Itraconazol	Sporanox	Soluções oral e E.V.	Europa, EUA
Mitomomicina	Mitozytrex	Infusão E.V.	Europa, EUA
β-ciclodextrina metilada			
Cloranfenicol	Clorocil	Colírio	Europa
17β-estradiol	Aerodiol	Spray nasal	Europa
Sulfobutiléter-β-ciclodextrina			
Voriconazol	Vfend	Solução E.V.	Europa, EUA
Mesilato de ziprasidona	Geodon, Zeldox	Solução I.M.	Europa, EUA
2-hidroxiopropil-γ-ciclodextrina			
Diclofenaco sódico	Voltaren	Colírio	Europa
Tc-99 Teobromina	Cardiotec	Solução E.V.	EUA

E.V. = endovenosa

I.M. = intramuscular

FONTE: Loftsson e Duchêne, 2007.

3 – OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem como objetivo estudar as interações de finasterida com hidroxipropil- β -ciclodextrina na ausência e presença de polímeros naturais e sintéticos, visando melhorar a solubilidade e velocidade de dissolução do fármaco.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

A fim de atingir o objetivo geral, foram propostos os seguintes objetivos específicos:

- Desenvolver sistemas binários de finasterida com hidroxipropil- β -ciclodextrina
- Desenvolver sistemas ternários de finasterida, hidroxipropil- β -ciclodextrina e PVP K-30 ou quitosana
- Caracterizar os sistemas binários e ternários obtidos, utilizando Ensaio de solubilidade, Calorimetria Exploratória Diferencial, Difração em Raios-X e Microscopia Eletrônica de Varredura
- Comparar o desempenho dos métodos de obtenção coevaporação e liofilização
- Verificar o efeito da formação dos sistemas binários e ternários sobre a velocidade de dissolução do fármaco

4 – MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

4.1.1 Amostragem e Substância Química de Referência

Finasterida – substância química de referência – foi obtida do Laboratório Natural Pharma Ltda, lote nº 20051104, teor de pureza 99,15%.

4.1.2 Reagentes e Solventes

Amostras de Hidroxipropil- β -ciclodextrina - Glycosan[®] HP β CD foram gentilmente cedidas pela Chemyunion – Indústrias Químicas Ltda. O peso molecular médio é de 1400 Da e o grau de substituição de 0,58 a 0,73.

O solvente utilizado (acetonitrila) e o ácido ortofosfórico foram de grau CLAE (Merck); etanol foi de grau farmacêutico (Dipalcool[®] Distribuidora de Álcool Ltda). Os reagentes PVP K-30 (Bast[®] The Chemical Company Ltda.), Quitosana (Galena[®] Quimica e Farmacêutica Ltda) e Celulose microcristalina (Blanver Farmoquímica Ltda.) foram de pureza não inferior a 95%. A água usada foi purificada pelo sistema Milli-Q.

4.1.3 Instrumentação

Os complexos binários e ternários de finasterida foram obtidos empregando balança eletrônica analítica AL500 Marte[®], agitador magnético TE-085 Tecnal[®], estufa de secagem e esterilização mod. TE 394/1 Tecnal[®] e liofilizador Edwards[®].

A caracterização da formação dos complexos foi realizada empregando Microscópio Eletrônico de Varredura JEOL[®] mod. JSM 6360 LV, sistema de Calorimetria Exploratória Diferencial TA Instruments DSC 2910, e sistema de Difractometria de Raios-X Shimadzu modelo XD-6000.

Os ensaios de solubilidade foram realizados usando câmara incubadora com agitação orbital Marconi[®] MA-420, e para os ensaios de dissolução empregou-se aparelho dissolutor Erweka DT800.

A quantificação dos fármacos foi realizada por meio de cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Agilent[®] HP série 1100 (Hewlett-Packard, Waldbronn, Germany) equipado com *degasser* (G1322A), bomba quaternária (G1311A), amostrador automático (G1329Aa), termostato de coluna (G1316a) e detector UV-Vis com DAD (model G1315B). O equipamento foi controlado pelo *software* Chemstation (Rev. A. 06.0x).

Os ensaios foram realizados em coluna cromatográfica de fase reversa octadecilsilano C 18 (150 x 4,6 mm; 5 μ m), tamanho de poro de 100 Å, área de superfície 400 m²/g, 17,5% carbono, empregando *End capping* e sílica ultrapura.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Desenvolvimento de Metodologia Analítica

A quantificação do fármaco no ensaio de solubilidade seguiu a monografia constante na Farmacopéia Americana (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2007).

A fase móvel foi constituída pela mistura de ácido orto-fosfórico (2,5 mM) e acetonitrila na razão de (1:1 v/v). O fluxo da fase móvel foi ajustado para 1,5 mL.min⁻¹ e volume de injeção de 20 μ L. O equipamento foi operado na temperatura de 45 °C. Filtrou-se a solução em membrana filtrante de acetato de celulose regenerada com 47 mm de diâmetro e poro de 0,22 μ m. A detecção UV foi realizada em 240 nm e análise da pureza do pico foi realizada na faixa de 200 a 400 nm. A compatibilidade entre a coluna cromatográfica e a fase móvel indicada pela Farmacopéia Americana (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2007) foi previamente avaliada.

Solução-estoque de finasterida foi obtida dissolvendo 10 mg de finasterida (padrão secundário de referência) em solução de acetonitrila e água (7:3 v/v) e o volume perfeito para 100 mL, para uma concentração final de 100 μ g. mL⁻¹.

A quantidade de fármaco nas amostras foi calculada segundo a fórmula:

$$Q = 100 \times C \left(\frac{r_u}{r_s} \right)$$

onde, Q = quantidade de finasterida por amostra; C = concentração de finasterida na solução padrão; r_u = área do pico obtido para a solução amostra; r_s = área do pico para a solução padrão

Segundo recomendação da Farmacopéia Americana (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2007), os resultados deverão obedecer a fator de retenção $k' > 2$, número de pratos teóricos N igual a 1000 e desvio padrão relativo igual a 2,0%.

4.2.2 Preparo dos Sistemas Binários e Ternários

Dois diferentes métodos foram empregados para preparo dos sistemas binários e ternários: coevaporação e liofilização.

Sistemas Binários e Ternários obtidos por Coevaporação

Quantidades equimolares de finasterida e HP β CD foram pesadas e dispersas em etanol grau farmacêutico e água purificada, respectivamente. As dispersões obtidas foram misturadas e homogeneizadas em agitador magnético TE-085 Tecnal[®], por 8 horas e evaporadas em estufa de ar circulante Tecnal[®] TE 394/1 a 40°C por 56 horas. Para sistemas ternários, quantidades equimolares de finasterida e HP β CD foram dispersos em água purificada e adicionados de 0,1% (p/v) de PVP K-30 ou 0,3% (p/v) de quitosana. A dispersão resultante foi submetida à mesma metodologia empregada para obtenção dos sistemas binários.

Sistemas Binários e Ternários obtidos por Liofilização

Quantidades equimolares de finasterida e HP β CD foram pesadas e dispersas em etanol grau farmacêutico e água purificada, respectivamente. As dispersões obtidas foram misturadas e homogeneizadas em agitador magnético TE-085

Tecnal[®], por 8 horas e liofilizadas em liofilizador Edwards[®]. Para sistemas ternários, quantidades equimolares de finasterida e HP β CD foram dispersos em água purificada e adicionados de 0,1% (p/v) de PVP K-30 ou 0,3% (p/v) de quitosana. A dispersão resultante foi submetida à mesma metodologia empregada para obtenção dos sistemas binários.

4.2.3 Ensaio de solubilidade

O ensaio de solubilidade foi realizado de acordo com o descrito por Higuchi e Connors (1965): um excesso de finasterida (10 mg) foi adicionado a soluções aquosas contendo concentrações crescentes de PVP K-30 (0 a 0,5%), quitosana (0 a 0,5%) ou hidroxipropil- β -ciclodextrina (0 a 5 mmol/L), em presença ou ausência de uma quantidade fixa de um dos polímeros (0,1% de PVP K-30 ou 0,3% de quitosana). As suspensões obtidas foram mantidas sob agitação em câmara incubadora com agitação orbital Marconi[®] MA-420 por 72 horas, filtradas em cartuchos de tamanho de poro de 0,45 μ m e quantificadas em cromatógrafo líquido de alta eficiência Agilent[®] HP série 1100, conforme metodologia descrita em 4.2.1 (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2007).

4.2.4 Caracterização dos Sistemas Binários e Ternários

A caracterização da formação dos complexos de inclusão finasterida com HP- β -ciclodextrina foi realizada por meio de calorimetria exploratória diferencial (DSC), difração de raios-X (DRX) e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Curvas DSC foram obtidas por meio de célula TA Instruments DSC 2910, sob as seguintes condições experimentais: atmosfera dinâmica de nitrogênio (100 mL.min⁻¹); razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ em cápsula de alumínio selada; massa de amostra de ~ 3,0 mg; e rampa de aquecimento de 40 – 400 °C. A célula

de DSC foi previamente calibrada após a utilização de uma amostra de índio metálico com pureza de 99,99% a partir da $T_{\text{fusão}}$ (156,4 °C) e $\Delta H_{\text{fusão}}$ (28,5 J.g⁻¹) deste material.

Difração em Raios X

Os difratogramas de raios-X foram obtidos em um difratômetro Shimadzu modelo XD-6000, operando a 40 KV e 40 mA, com velocidade de varredura de 2 graus.min⁻¹ (em 2 theta), usando silício (Si) policristalino como padrão.

Microscopia eletrônica de varredura

A morfologia do fármaco, HPβCD, misturas físicas (1:1) e sistemas binários e ternários, foi analisada usando microscópio eletrônico de varredura JEOL mod. JSM-6360 LV. As amostras foram fixadas em um suporte metálico com auxílio de uma fita dupla-face de cobre e submetidas à metalização sob vácuo, a fim de torná-las eletricamente condutivas. A visualização foi realizada em aumentos de 300 a 1200 vezes, com uma voltagem de excitação de 10 a 15 kV.

Ensaio de dissolução

Para a realização do ensaio de dissolução, foram preparadas pastilhas contendo celulose microcristalina (Microcel MC102, Blanver[®]) adicionada de finasterida ou dos sistemas binários e ternários. Após homogeneização, os pós foram submetidos à compressão em prensa Shimadzu, sendo aplicada uma força de 400 kg durante 15 segundos.

O perfil de dissolução das pastilhas foi traçado a partir da quantificação dos fármacos nas cubas de dissolução, em intervalos de tempo pré-estabelecidos. Os valores obtidos foram corrigidos (ARONSON, 1993), considerando-se as alíquotas retiradas, e expressos na forma de gráficos da porcentagem de fármaco dissolvido *versus* tempo.

O ensaio de dissolução foi realizado de acordo com a monografia da Farmacopéia Americana (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2007), sendo realizado à temperatura de $37 \pm 5^\circ\text{C}$, 900 mL de água purificada como meio de dissolução, aparato 2 (pá) e velocidade de agitação de 50 rpm. A água empregada como meio de dissolução foi previamente desgaseificada por meio de ultrassom durante 15 minutos.

Alíquotas de 2 mL foram retiradas do meio de dissolução, primeiramente a cada 15 minutos e depois a cada 30 minutos tanto para os sistemas binários e ternários como para o fármaco puro, fazendo-se em seguida, a reposição deste à mesma temperatura. As alíquotas coletadas foram filtradas em cartuchos de 0,45 μm , transferidas para *vials* e quantificadas por CLAE em cromatógrafo Agilent® HP série 1100 (Hewlett-Packard, Waldbronn, Germany), coluna Zorbax XDB C-18 (75 x 4,6 mm; 5 μm), mantida a 45°C . A fase móvel utilizada foi acetonitrila e água (58:42 v/v), com fluxo de 1,2 mL/min e pressão de 99 bar.

5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 METODOLOGIA ANALÍTICA PARA QUANTIFICAÇÃO DA FINASTERIDA

5.1.1 Quantificação da finasterida no ensaio de solubilidade

A quantificação da finasterida nas amostras do ensaio de solubilidade foi realizada por CLAE, de acordo com a metodologia descrita no item 4.2.1. A FIGURA 10 mostra o cromatograma obtido para os sistemas empregando finasterida e HP β CD e a FIGURA 11, apresenta a curva analítica para a finasterida no intervalo de 1 a 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de fármaco. Os limites de quantificação e de detecção obtidos foram 23,0665 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 7,6811 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente.

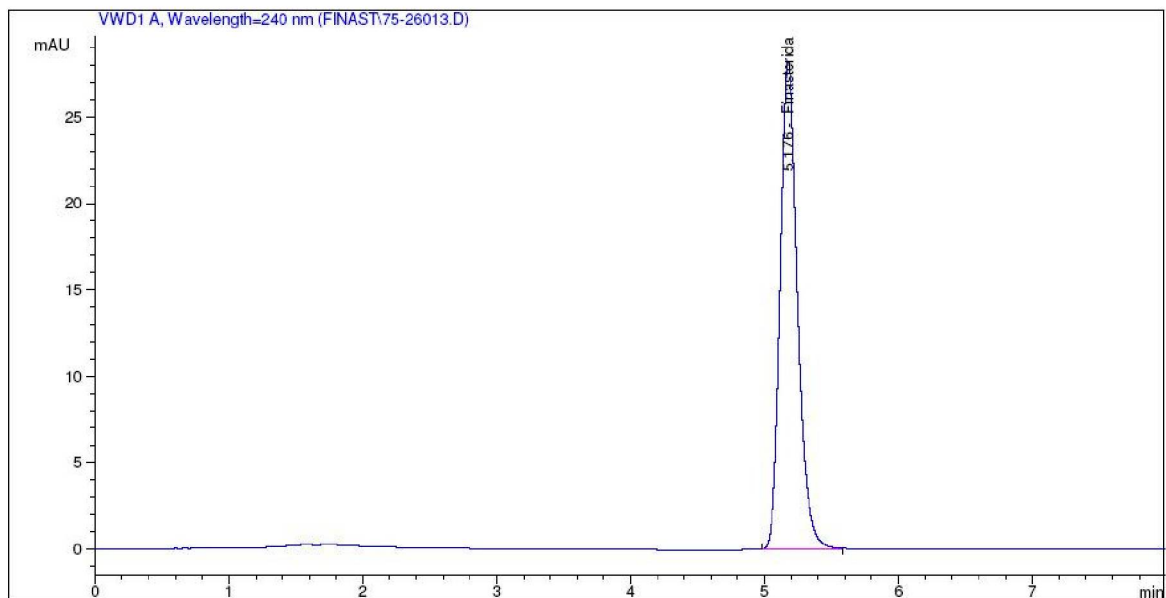


FIGURA 10 – CROMATOGRAMA OBTIDO PARA A FINASTERIDA EM PRESENÇA DE HP β CD

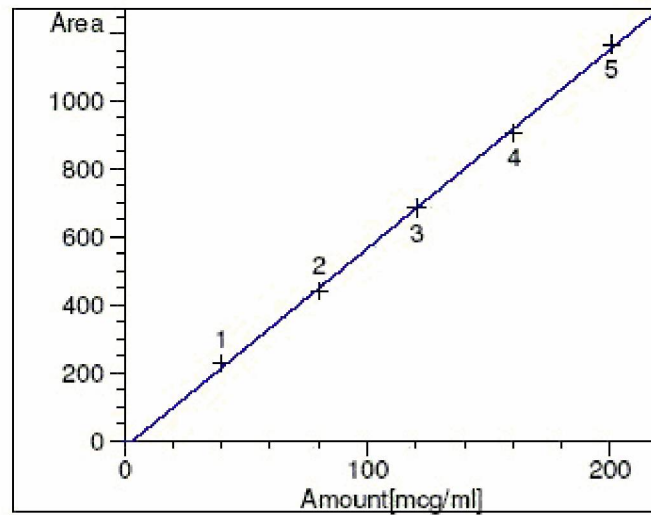


FIGURA 11 – CURVA ANALITICA EMPREGADA PARA QUANTIFICAÇÃO DA FINASTERIDA NOS ENSAIOS DE SOLUBILIDADE

5.1.2 Quantificação da finasterida no ensaio de dissolução

A quantificação do fármaco foi realizada por CLAE, de acordo com a metodologia descrita no item 4.2.4. A FIGURA 12 mostra o cromatograma obtido para as pastilhas contendo finasterida e HP β CD e a FIGURA 13, a curva analítica utilizada para quantificação do fármaco. Os limites de quantificação e detecção obtidos foram de 1,3896 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de 0,4627 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectivamente.

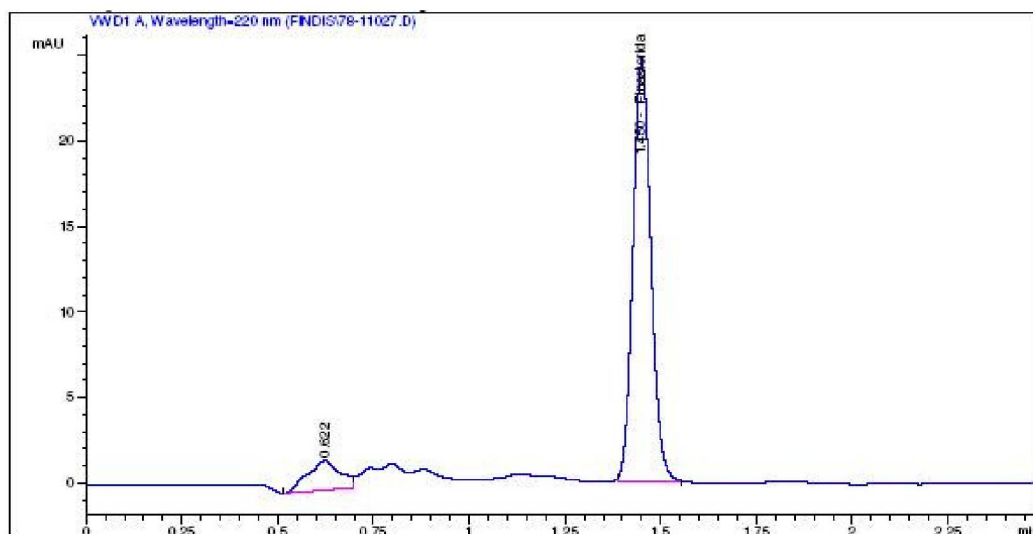


FIGURA 12 – CROMATOGRAMA OBTIDO PARA FINASTERIDA NOS ENSAIOS DE DISSOLUÇÃO

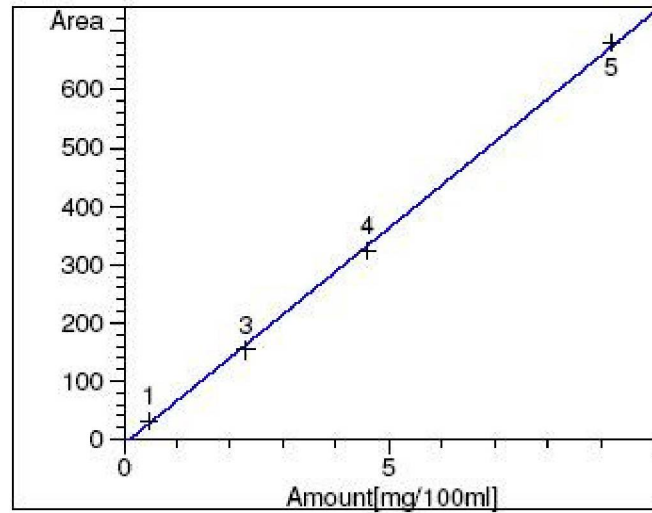


FIGURA 13 – CURVA ANALITICA EMPREGADA PARA QUANTIFICAÇÃO DA FINASTERIDA NOS ENSAIOS DE DISSOLUÇÃO

5.2 ENSAIO DE SOLUBILIDADE

O ensaio de solubilidade foi empregado para evidenciar o efeito da adição de ciclodextrina, e/ou polímeros sobre a solubilidade intrínseca do fármaco finasterida.

A FIGURA 14 mostra o diagrama de solubilidade de fases para finasterida pela adição de concentrações crescentes de HP β CD.

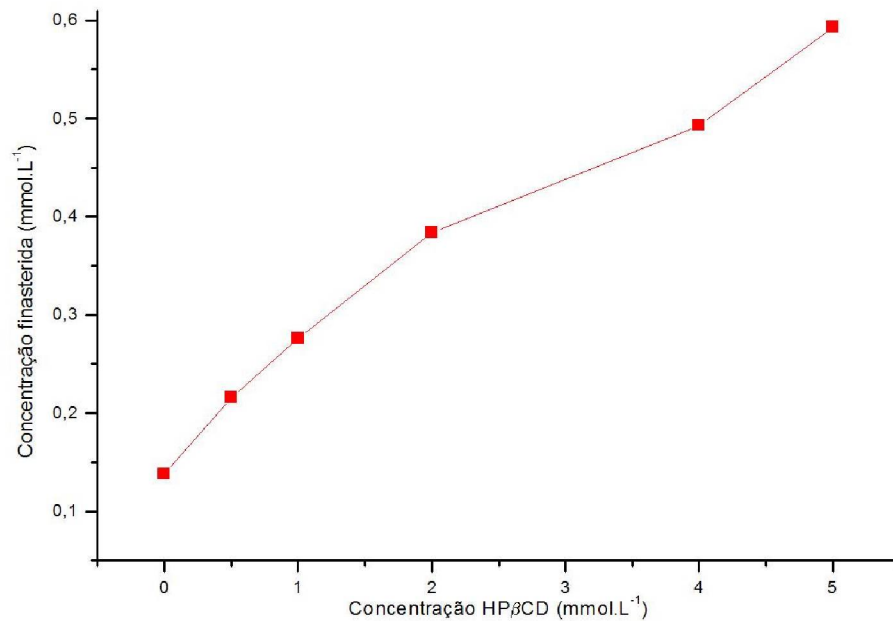


FIGURA 14 - DIAGRAMA DE SOLUBILIDADE DE FASE PARA A FINASTERIDA A 25 °C EM PRESENÇA DE HP β CD

A curva obtida apresentou um aumento linear da solubilidade da finasterida em função do aumento da concentração da CD e, portanto, exibe diagrama de solubilidade de fases do tipo A_L para o sistema binário resultante (finasterida:HP β CD), sugerindo a formação de complexos solúveis.

A adição de polímeros hidrossolúveis a uma solução aquosa de CD e fármaco muitas vezes associada ao aumento da constante de estabilidade do complexo (K_c) e à melhoria da eficiência de complexação, que resulta na diminuição da quantidade de CD necessária para a incorporação de uma determinada quantidade de fármaco (LOFTSSON, MÁSSON e SIGURJÓNSDÓTTIR, 1999).

Vários autores demonstraram a possibilidade dos polímeros formarem complexos com diversos fármacos, aumentando a sua solubilidade (BETTINETTI e MURA, 1994; LOFTSSON, FRIKDRIKSDOTTIR e GUMUNSDOTTIR, 1996), entretanto, a quantidade de polímero adicionada deverá ser tal que o efeito solubilizante, estabilizante e complexante seja maximizado mas insuficiente para causar um aumento significativo da viscosidade.

A FIGURA 15 mostra o efeito da adição dos polímeros quitosana e/ou PVP K-30 sobre a solubilidade da finasterida. Aumento de 7,97% e 0,73% foi observado para as concentrações de 0,10% de PVP K-30 e 0,30% de quitosana, respectivamente, mostrando um ganho pouco significativo na solubilidade do fármaco quando da adição desses polímeros.

Tanto as CDs, como os polímeros hidrossolúveis, formam complexos solúveis com diferentes fármacos podendo ser utilizados como agentes solubilizantes. Quando o polímero e a CD são misturados em solução, é esperado que o aumento da solubilidade atingido seja superior ao somatório dos efeitos de cada um dos componentes individuais, havendo um efeito sinérgico indicativo da formação de um novo tipo de complexo entre o fármaco, onde a CD é o agente complexante e o polímero, o agente co-complexante.

Baseando-se nestes estudos o estudo de solubilidade de fases foi realizado empregando concentrações fixas de 0,10% de PVP K-30 e 0,30% de quitosana (FIGURA 16).

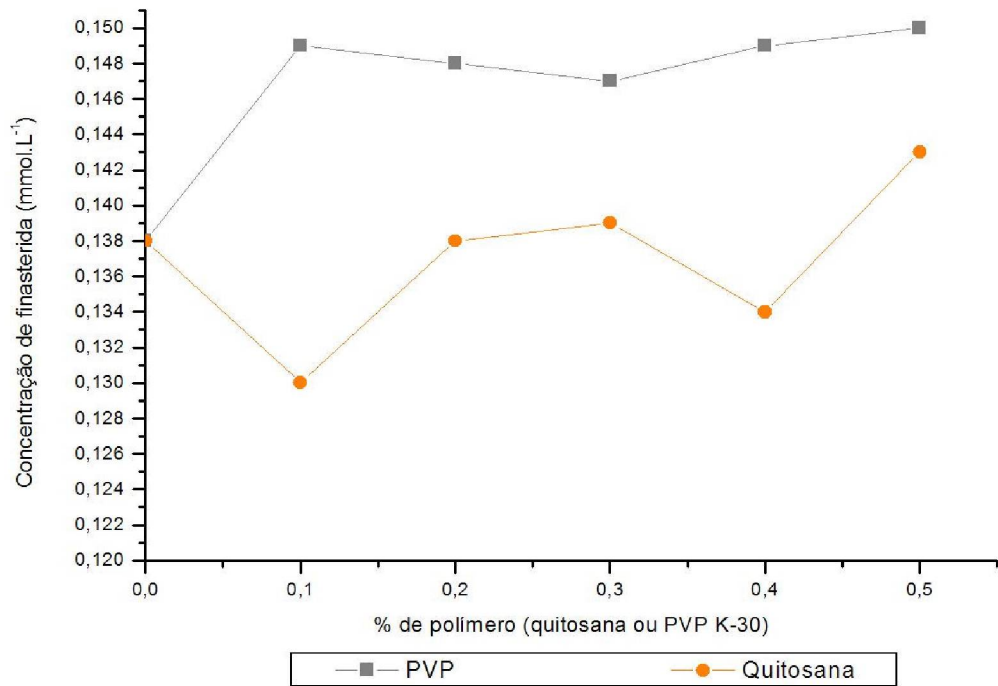


FIGURA 15 - EFEITO DA ADIÇÃO DE DIFERENTES QUANTIDADES DOS POLÍMEROS QUITOSANA E PVP K-30 SOBRE A SOLUBILIDADE DA FINASTERIDA

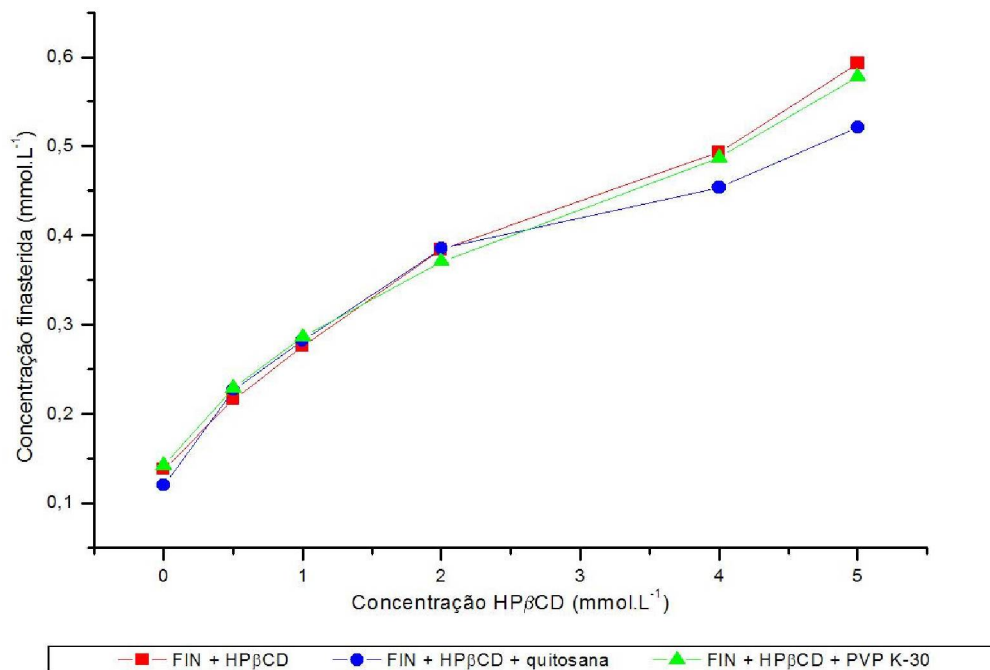


FIGURA 16 - DIAGRAMAS DE SOLUBILIDADE DE FASES DA FINASTERIDA EM SOLUÇÃO AQUOSA DE HPβCD NA PRESENÇA OU AUSÊNCIA DE POLÍMEROS QUITOSANA E PVP K-30 A 25 °C

As curvas de solubilidade obtidas apresentaram aumento linear da solubilidade da finasterida em função do aumento da concentração da CD, exibindo diagramas de solubilidade de fases do tipo A_L e demonstrando a formação de complexos solúveis. Na razão molar 1:1 fármaco/CD, o ganho de solubilidade foi de 56,6% para o sistema binário e de 66,6% e 64,9% para os sistemas ternários contendo PVP K-30 e quitosana, respectivamente.

Tendo por base a informação resultante dos diagramas de solubilidade de fases, a estequiometria, o valor da constante de estabilidade (K_c) dos complexos formados e a eficiência de complexação (CE) podem ser facilmente determinados a partir do segmento ascendente linear dos diagramas.

A FIGURA 17 mostra a regressão linear do segmento ascendente dos diagramas de fases obtidos para os sistemas binário e ternários.

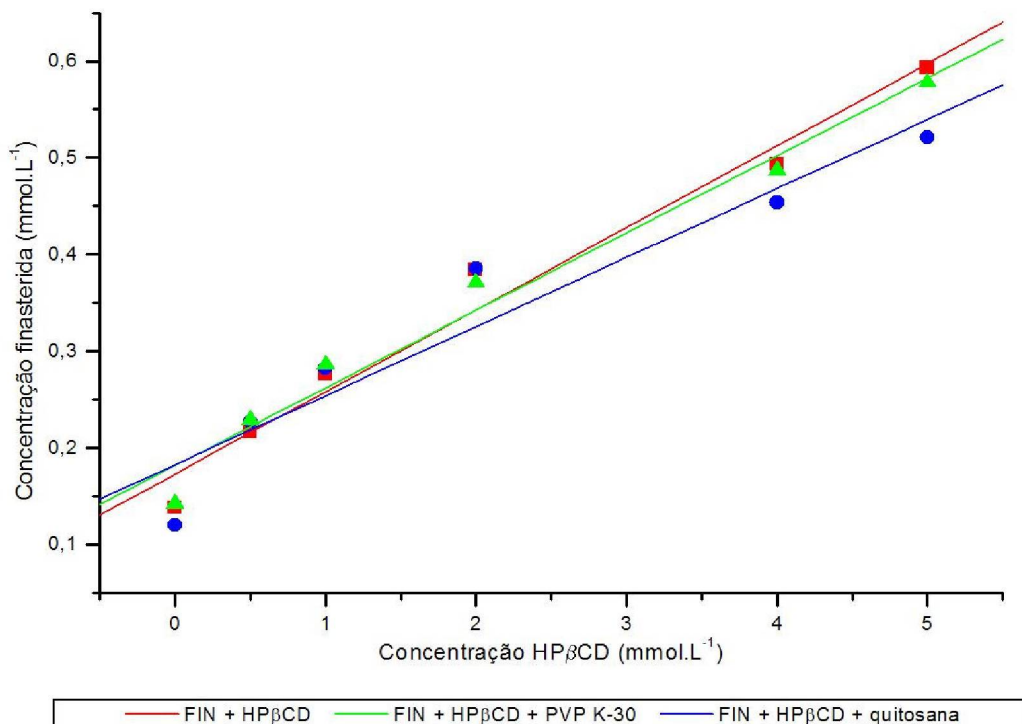


FIGURA 17 - REGRESSÃO LINEAR DOS DIAGRAMAS DE SOLUBILIDADE DE FASES DA FINASTERIDA EM SOLUÇÃO AQUOSA DE HPβCD NA PRESENÇA OU AUSÊNCIA DE POLÍMEROS QUITOSANA (0,3%) E PVP K-30 (0,1%) A 25 °C

A TABELA 5 apresenta os valores de coeficiente de correlação de Pearson (r), solubilidade intrínseca (S_0) e intercepto dos diagramas de solubilidade de fase (S_{int}) para os sistemas binário e ternários contendo finasterida.

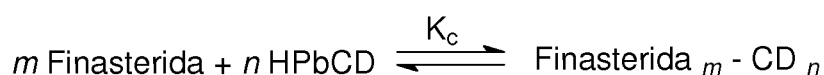
TABELA 5 – VALORES DE SOLUBILIDADE INTRÍNSECA (S_0), INTERCEPTO DOS DIAGRAMAS DE SOLUBILIDADE DE FASE (S_{int}) E COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE PEARSON (r)

Sistema	S_0 (mmol.L ⁻¹)	S_{int} (mmol.L ⁻¹)	r
FIN : HPβCD	0,138	0,173	0,988
FIN : HPβCD : Quitosana	0,120	0,183	0,959
FIN : HPβCD : PVP K-30	0,142	0,182	0,988

Os diagramas lineares (A_L) resultam da formação de complexos de primeira ordem relativamente à CD e de ordem 1 ou maior que em relação à molécula hóspede. Se a declividade destes diagramas for superior a 1, significa que ocorreu a formação de complexos de ordem superior relativamente à molécula hóspede. No caso do coeficiente angular ser inferior a 1, apesar de não se excluir a possível presença de complexos de ordem superior, é geralmente assumida uma estequiometria 1:1 (BREWSTER e LOFTSSON, 2007).

Os valores de coeficiente angular obtidos a partir da regressão linear dos diagramas de solubilidade de fases para os sistemas binário e ternários estudados foram inferiores a 1, assumindo estequiometria 1:1.

Assumindo a formação de um complexo de estequiometria 1:1, ou seja, de primeira ordem relativamente a CD ($n = 1$) e de ordem 1 relativamente à finasterida ($m = 1$), ter-se-á a situação representada pelo equilíbrio químico:



sendo o valor de K_c determinado a partir da equação de Higuchi e Connors (1965):

$$K_{1:1} = \frac{\text{coeficiente angular}}{S_0(1 - \text{coeficiente angular})}$$

onde S_0 é a solubilidade intrínseca da molécula hóspede.

Para o cálculo, utilizou-se o valor de S_0 obtido nos ensaios de solubilidade e não o valor do intercepto obtido a partir da equação de regressão linear. De acordo com Loftsson, Hreinsdóttir e Másson (2007), teoricamente, o valor da solubilidade intrínseca encontrado no ensaio deveria ser igual ao valor do intercepto definido pela equação da reta. De fato, a diferença encontrada entre os valores de S_{int} e S_0 neste ensaio de solubilidade foi da ordem de $0,000045 \text{ mol.L}^{-1}$. A fim de não agregar possíveis erros advindos da construção da reta e da determinação de sua equação, optou-se por usar o valor de S_0 obtido experimentalmente.

A TABELA 6 apresenta os valores de constante de estabilidade ($K_{1:1}$), eficiência de complexação (CE), razão molar de complexação (F:CD) e ganho de massa, calculadas a partir dos diagramas de solubilidade de fase para os sistemas binário e ternários contendo Finasterida.

TABELA 6 – CONSTANTES DE COMPLEXAÇÃO ($K_{1:1}$), EFICIÊNCIA DE COMPLEXAÇÃO (CE), RAZÃO MOLAR DE COMPLEXAÇÃO (F:CD) E GANHO DE MASSA CALCULADAS A PARTIR DOS DIAGRAMAS DE SOLUBILIDADE DE FASE PARA OS SISTEMAS BINÁRIO DE FINASTERIDA E HP β CD E TERNÁRIOS CONTENDO FINASTERIDA, HP β CD E PVP K-30 OU QUITOSANA

Sistema	$K_{1:1}$ (mol.L^{-1})	CE	Razão molar (F:CD)	Ganho de massa (mg)
FIN : HP β CD	672,980	0,093	1:12	226
FIN : HP β CD : Quitosana	640,563	0,077	1:14	263
FIN : HP β CD : PVP K-30	615,872	0,087	1:13	244

$K_{1:1}$ = constante de complexação

CE = eficiência de complexação (LOFTSSON, HREINSDÓTTIR e MÁSSON, 2007)

Razão molar = razão finasterida:HP β CD calculada segundo Loftsson, Hreinsdóttir e Másson, 2007.

Ganho de massa = mg de complexo equivalente a 5 mg de fármaco puro

Segundo Pitha e colaboradores (1983) apenas os complexos com constantes de estabilidade (K_c) compreendidas entre 200 e 5000 M^{-1} parecem ter aplicações práticas, dado que os complexos lábeis levam à liberação prematura do fármaco e os complexos muito estáveis originam liberação retardada ou incompleta do fármaco no organismo.

No entanto, vários trabalhos contrariam de algum modo esses dados. Segundo Rama e colaboradores (2005), para aplicações farmacêuticas é desejável usar complexos de inclusão cuja constante de estabilidade (K_c) seja entre 100 e 1000 M^{-1} . Constantes de estabilidade menores que 100 M^{-1} demonstram complexos instáveis; e constantes maiores que 1000 M^{-1} dificultam a absorção do fármaco. Os autores estudaram a complexação de sais biliares, desoxicolato de sódio, colato de sódio, glicocolato de sódio e taurocolato de sódio, com β -CDs. Os valores de K_c obtidos em pH 7,2 foram 2670 M^{-1} , 1100 M^{-1} , 410 M^{-1} e 406 M^{-1} , respectivamente, entretanto os menores valores de K_c não tiveram influência sobre a saída do fármaco da cavidade da CD.

Os valores de $K_{1:1}$ encontrados para os sistemas binário - FIN:HP β CD -, e sistemas ternários - FIN:HP β CD:Quitosana e FIN:HP β CD:PVP K-30 - foram 673, 641 e 616, respectivamente, indicando a formação de complexos de inclusão com estabilidade adequada e portanto, poderão constituir uma alternativa viável para melhora da solubilidade e biodisponibilidade da finasterida.

Considerando que o valor de $K_{1:1}$ para um mesmo fármaco e uma mesma ciclodextrina pode variar segundo o método de determinação, esta constante é apenas aparente e é necessário lançar mão de outros instrumentos para avaliar a eficiência da complexação. Loftsson, Hreinsdóttir e Másson (2007) propuseram outro método de cálculo da eficiência de complexação, a CE, que é calculada a partir do coeficiente angular do diagrama de solubilidade de fase e é independente dos valores de solubilidade intrínseca.

A partir do valor de CE é possível determinar a relação fármaco/ciclodextrina obtida na complexação e o acréscimo de massa na forma farmacêutica.

Os valores de CE encontrados foram bastante baixos e a razão molar indicou que, em média de cada 13 moléculas de ciclodextrina presente no meio, apenas uma encontra-se complexada com a finasterida. Apesar da baixa eficiência de complexação, a elevada potência do fármaco proporciona um ganho de massa adequado para o desenvolvimento de forma farmacêutica sólida oral (TABELA 6).

Loftsson, Hreinsdóttir e Másson (2007), estudaram a formação de complexos de inclusão entre a finasterida e várias ciclodextrinas, a citar: HP β CD, SBE β CD e RM β CD. Os valores de CE encontrados foram 0,625; 0,678 e 0,708,

respectivamente e a razão molar de complexação (F:CD) de 1:3. É importante ressaltar que, neste estudo, uma metodologia diferente foi empregada para obtenção dos diagramas de solubilidade de fase. Um excesso de fármaco foi adicionado a uma solução aquosa da ciclodextrina em análise. As suspensões contendo fármaco:CDs foram submetidas à autoclavação a 121 °C por 20 minutos e, após alcançarem a temperatura ambiente, o estudo de solubilidade de fases foi realizado à temperatura ambiente por três a sete dias.

A solubilidade intrínseca encontrada para a finasterida foi de 0,06 mg/mL, muito próxima dos valores encontrados no presente trabalho: 0,051 mg/mL para o sistema binário; 0,052 mg/mL para o sistema ternário com quitosana e 0,044 mg/mL para o sistema ternário com PVP K-30. Portanto, não seria este o fator responsável pela diferença entre os valores de CE encontrados. Como CE é igual a S_0 multiplicado por $K_{1:1}$, a constante de complexação encontrada para cada um dos ensaios é que deve variar significativamente. De fato, os valores de $K_{1:1}$ calculados por Loftsson e colaboradores (2005) foram de 7300 M⁻¹ para finasterida:RMβCD, 6800 M⁻¹ finasterida:RMβCD:HPMC, 6900 M⁻¹ finasterida:RMβCD:CMC e 7300 M⁻¹ finasterida:RMβCD:PVP K-30. Ribeiro e colaboradores (2003) relatam que o aquecimento em autoclave e o resfriamento a temperatura ambiente aumenta a interação entre fármaco/polímero/ciclodextrina, pois a presença do polímero alteraria a hidratação da ciclodextrina e sua estrutura tridimensional em solução aquosa.

O estudo realizado por Loftsson e colaboradores em 2005 também demonstra que a presença de polímeros interfere muito pouco no valor obtido para as constantes de complexação, sendo que HPMC e CMC reduziram levemente os valores de $K_{1:1}$. A partir disso e dos resultados obtidos no ensaio de solubilidade com HPβCD e PVP K-30, podemos inferir que polímeros hidrossolúveis não formam interações com a finasterida capazes de favorecer sua solubilidade e aumentar a estabilidade dos complexos formados. Da mesma forma a quitosana, que não é solúvel em água, mas também possui propriedades de formação de gel e alteração da viscosidade do meio.

5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS SISTEMAS BINÁRIOS E TERNÁRIOS

5.3.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas DSC do fármaco puro, quitosana, PVP K-30 e HP β CD, bem como das misturas físicas referentes aos sistemas binários e ternários analisados são apresentadas na FIGURA 18.

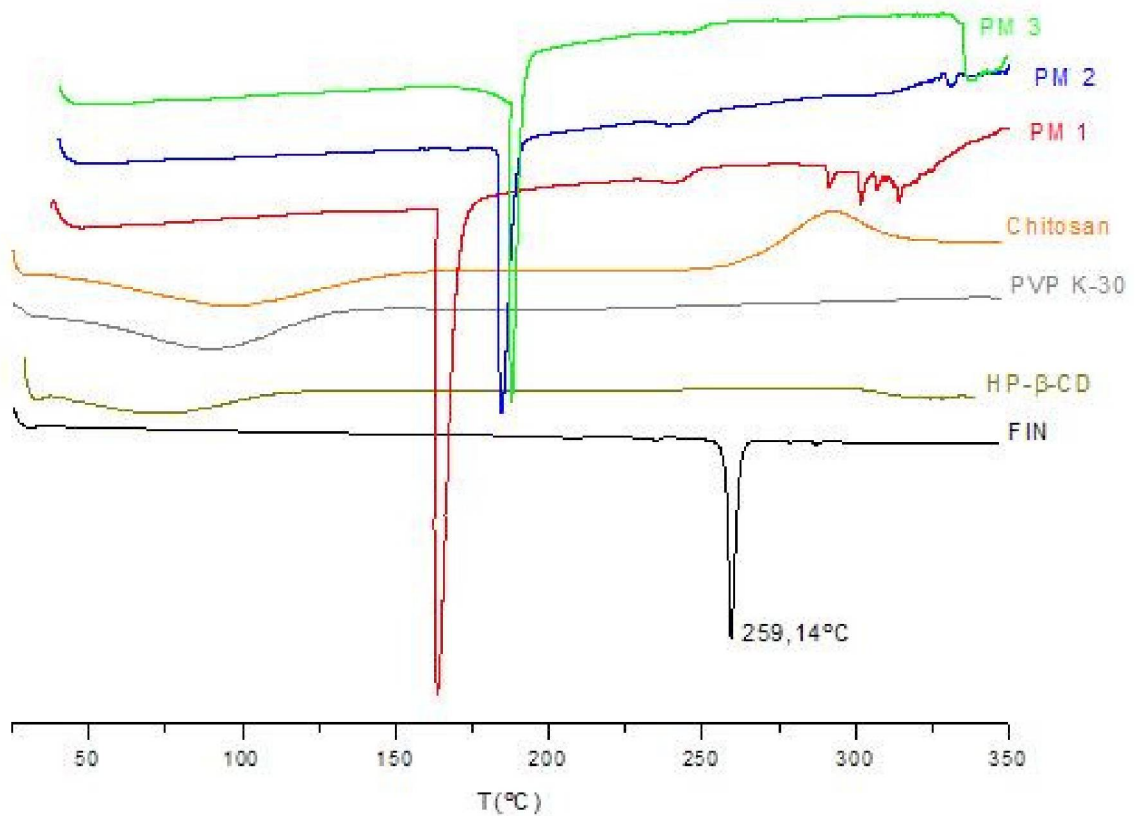


FIGURA 18 - CURVAS DSC DA FINASTERIDA (FIN), QUITOSANA (CHITOSAN), PVP K-30, HP β CD E DAS MISTURAS FÍSICAS FINASTERIDA/HP β CD (PM1); FINASTERIDA:HP β CD:QUITOSANA (PM2) E FINASTERIDA:HP β CD:PVP K-30 (PM3), OBTIDAS SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE NITROGÊNIO (100 mL.min⁻¹) E RAZÃO DE AQUECIMENTO DE 10°C min⁻¹

A curva DSC para finasterida mostrou um evento endotérmico em 259,14°C referente ao processo de fusão do fármaco. A presença de apenas um evento endotérmico seria um indicativo de que apenas a forma II da molécula está presente no sistema. De acordo com Wenslow e colaboradores (2000), a forma I da finasterida apresentaria um evento endotérmico também em cerca de 230 °C.

Na análise da curva DSC da HPβCD é possível observar um evento endotérmico entre 38 e 121 °C – referente à desidratação – sendo que, acima desta temperatura, o mesmo apresenta-se termicamente estável em toda a faixa de temperatura estudada. As curvas DSC da quitosana e PVP K-30 mostraram evento endotérmico entre 40 a 146 °C e 45 e 134 °C, respectivamente, referentes à desidratação do material. As curvas DSC das misturas-físicas MP1, MP2 e MP3 mostram deslocamento do evento endotérmico de fusão do fármaco para valores de 163,7 °C, 184,5 °C e 188,9 °C, respectivamente, sugerindo a formação de eutéticos.

As curvas DSC da finasterida (padrão secundário de referência), complexos binários finasterida:HPβCD obtidos por liofilização (BL) ou coevaporação (BC), complexos ternários finasterida:HPβCD:quitosana obtidos por liofilização (TL1) ou coevaporação (TC1) e complexos ternários finasterida:HPβCD:PVP K-30 obtidos por liofilização (TC2) ou coevaporação (TL2), estão representados na FIGURA 19.

As curvas DSC para o sistemas binários finasterida:HPβCD e sistemas ternários finasterida:HPβCD:PVP K-30 ou finasterida:HPβCD:quitosana obtidos por liofilização e coevaporação, mostraram comportamento térmico semelhante, com evento endotérmico entre 100 e 270°C - referente à desidratação; em todas as curvas observou-se desaparecimento do evento térmico referente à fusão do fármaco – finasterida. A formação de complexos de inclusão pode ser sugerida em todos os sistemas binários e ternários obtidos por coevaporação e liofilização, já que o evento térmico referente à fusão do fármaco foi suprimido.

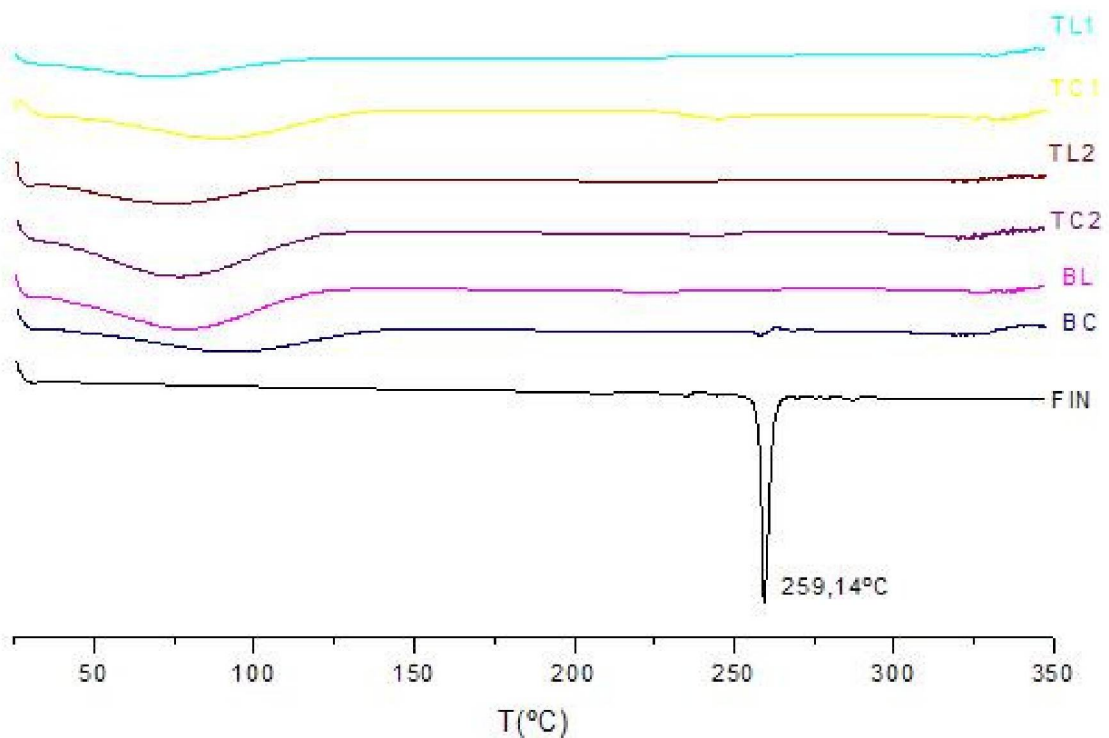


FIGURA 19 - CURVAS DSC DA FINASTERIDA (PADRÃO SECUNDÁRIO DE REFERÊNCIA), QUITOSANA, PVP K-30, HP β CD, COMPLEXOS BINÁRIOS FINASTERIDA:HP β CD OBTIDOS POR LIOFILIZAÇÃO (BL) OU COEVAPORAÇÃO (BC), COMPLEXOS TERNÁRIOS FINASTERIDA:HP β CD:PVP K-30 OBTIDOS POR LIOFILIZAÇÃO (TL2) OU COEVAPORAÇÃO (TC2), E COMPLEXOS TERNÁRIOS FINASTERIDA:HP β CD:QUITOSANA OBTIDOS POR LIOFILIZAÇÃO (TL1) OU COEVAPORAÇÃO (TC1), OBTIDAS SOB ATMOSFERA DINÂMICA DE NITROGÊNIO (100 mL.min⁻¹) E RAZÃO DE AQUECIMENTO DE 10°C min⁻¹

5.3.2 Difração de Raios X

Os difratogramas correspondentes à finasterida (padrão secundário de referência) e HP β CD estão representados na FIGURA 20. As FIGURAS 21, 22 e 23 mostram a comparação entre os difratogramas obtidos para o fármaco, misturas-físicas finasterida:HP β CD na presença e ausência dos polímeros - quitosana e PVP K-30 – e, para os sistemas binários e ternários obtidos por coevaporação e liofilização.

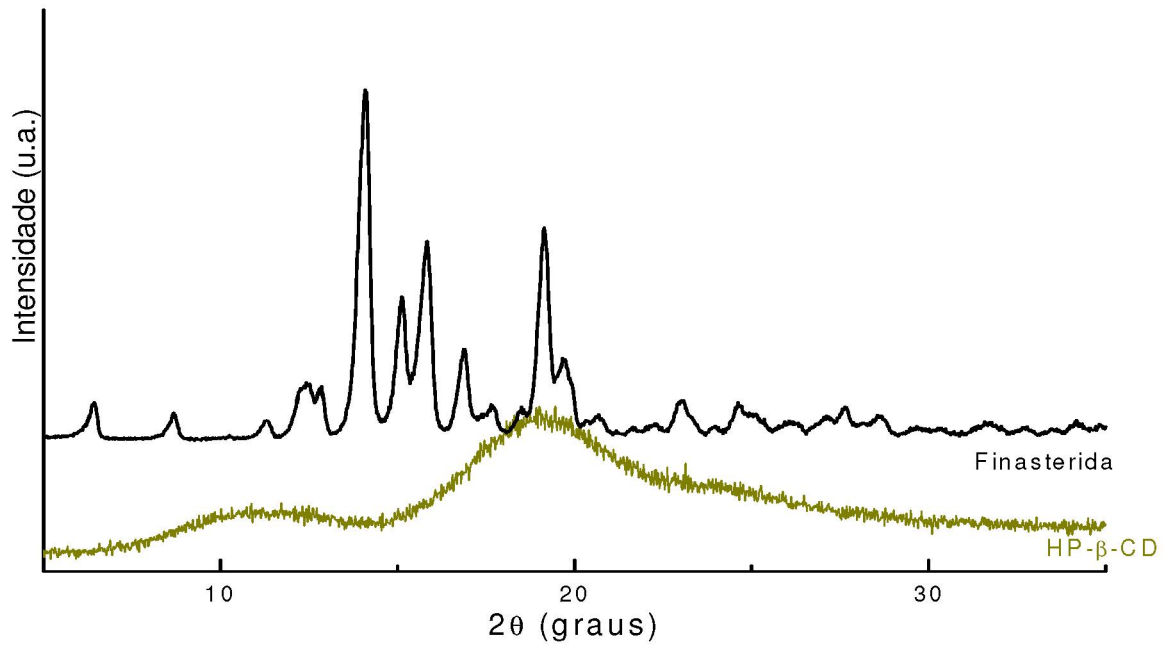


FIGURA 20 - DIFRATOGRAMAS OBTIDOS PARA A FINASTERIDA (PADRÃO SECUNDÁRIO DE REFERÊNCIA) E HP β CD, OPERANDO A 40 KV E 40 mA, COM VELOCIDADE DE VARREDURA DE 2 GRAUS/MINUTO (2 THETA)

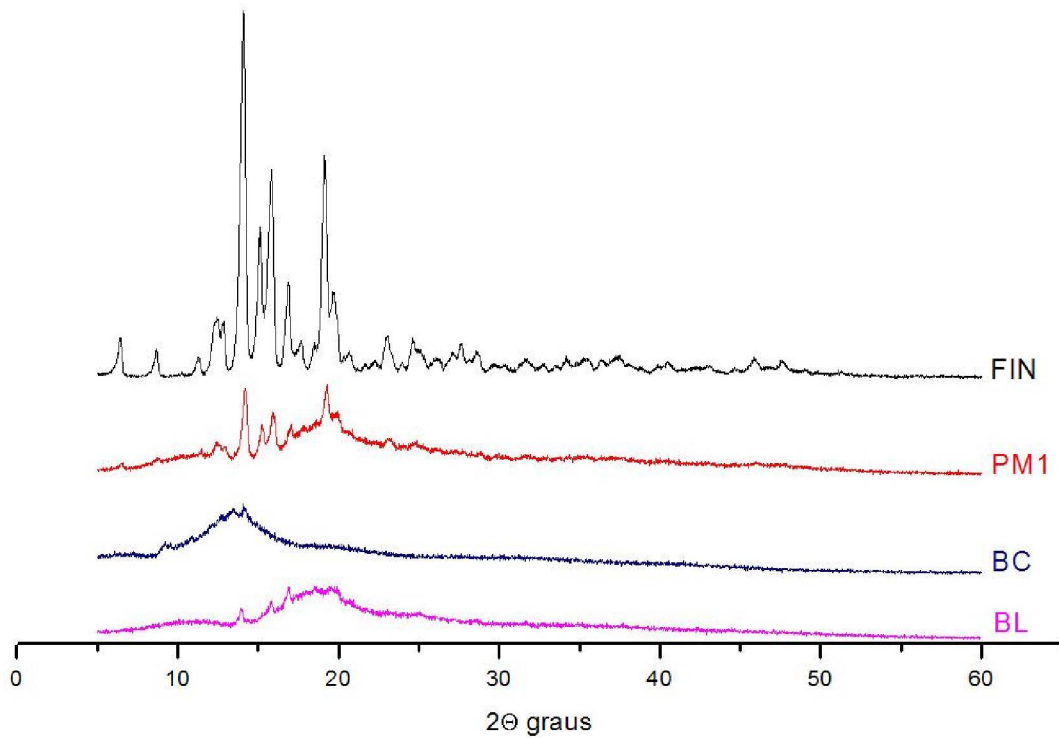


FIGURA 21 - DIFRATOGRAMAS OBTIDOS PARA A FINASTERIDA (FIN), MISTURA-FÍSICA FINASTERIDA: HP β CD 1:1 (PM1) E SISTEMAS BINÁRIOS FINASTERIDA:HP β CD OBTIDOS POR COEVAPORAÇÃO (BC) E LIOFILIZAÇÃO (BL), OPERANDO A 40 KV E 40 mA, COM VELOCIDADE DE VARREDURA DE 2 GRAUS/MINUTO (2 THETA)

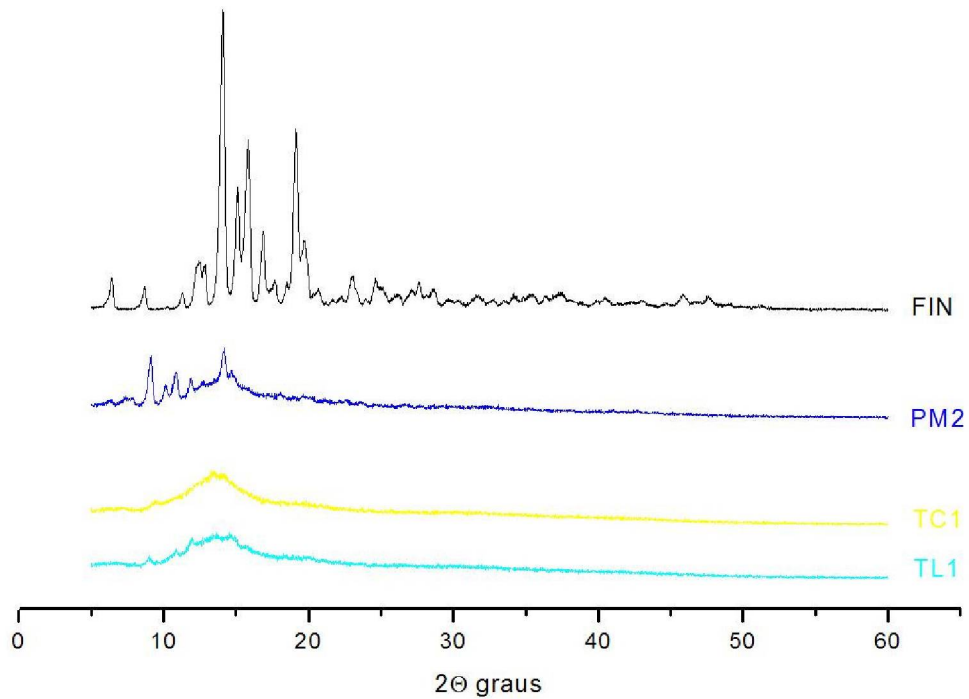


FIGURA 22 - DIFRATOGRAMAS OBTIDOS PARA A FINASTERIDA (FIN); MISTURA-FÍSICA FINASTERIDA:HP β CD:QUITOSANA (PM2) E SISTEMAS TERNÁRIOS OBTIDOS POR COEVAPORAÇÃO (TC1) E LIOFILIZAÇÃO (TL1), OPERANDO A 40 KV E 40 MA, COM VELOCIDADE DE VARREDURA DE 2 GRAUS/MINUTO (2 THETA)

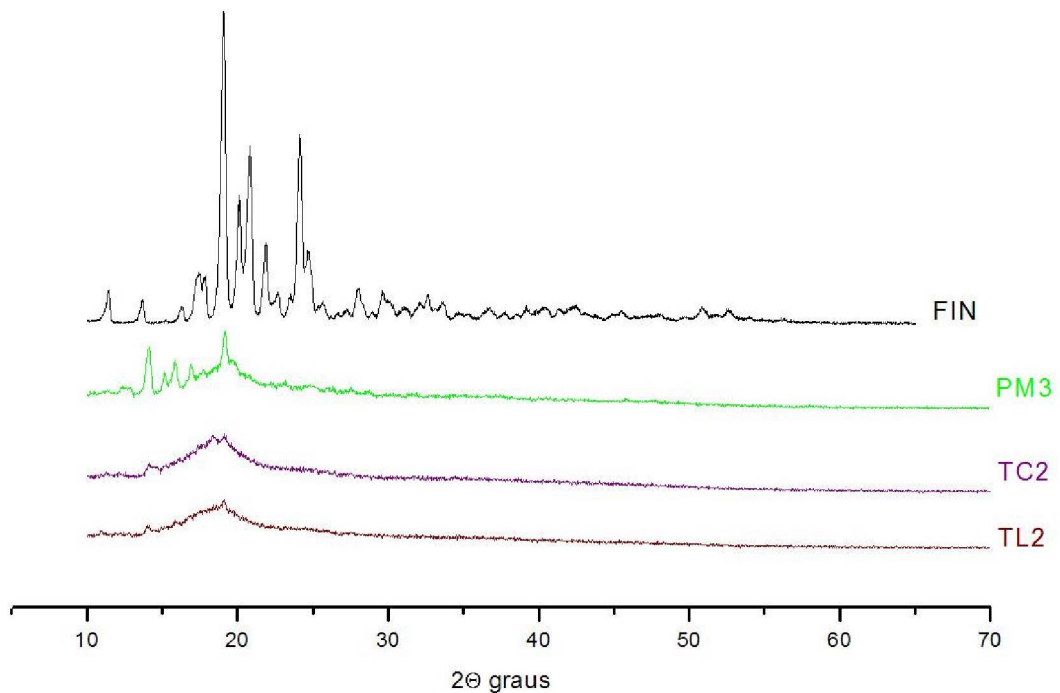


FIGURA 23 - DIFRATOGRAMAS OBTIDOS PARA A FINASTERIDA (FIN), MISTURA-FÍSICA FINASTERIDA:HP β CD:PVP K-30 (PM3) E SISTEMAS TERNÁRIOS OBTIDOS POR COEVAPORAÇÃO (TC2) E LIOFILIZAÇÃO (TL2), OPERANDO A 40 KV E 40 MA, COM VELOCIDADE DE VARREDURA DE 2 GRAUS/MINUTO (2 THETA)

Os picos agudos que aparecem no difratograma da finasterida demonstram caráter cristalino do fármaco, enquanto no difratograma da HP β CD observa-se comportamento típico de substância amorfa. Nos difratogramas correspondentes às misturas-físicas é possível visualizar ainda alguns picos, que demonstram a presença do fármaco cristalino não-complexado. Os difratogramas referentes aos sistemas binários e ternários, independente do método de obtenção empregado, mostraram amorfização dos sistemas, o que sugere a formação de complexos de inclusão.

5.2.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM)

Os resultados dos ensaios usando microscopia eletrônica de varredura para a finasterida (padrão secundário de referência), HP β CD, mistura-física finasterida:HP β CD 1:1 (p/p) e sistemas binários finasterida:HP β CD obtidos por coevaporação e liofilização estão representados na FIGURA 24.

A FIGURA 25 demonstra os resultados dos ensaios usando microscopia eletrônica de varredura para a mistura física finasterida:HP β CD:quitosana e os sistemas ternários finasterida:HP β CD:quitosana obtidos por coevaporação e liofilização, enquanto que a FIGURA 26 traz as fotomicrografias da mistura física finasterida:HP β CD:PVP K-30 e dos sistemas ternários finasterida: HP β CD: PVP K-30 obtidos por coevaporação e liofilização.

A análise das fotomicrografias obtidas mostra que o fármaco finasterida (FIGURA 24a) é composto por cristais em forma de prisma, de diferentes tamanhos. A HP β CD (FIGURA 24b), por outro lado, é composta por partículas esféricas, mais regulares. Na foto da mistura física dos dois componentes finasterida:HP β CD (FIGURA 24c), observa-se a presença dos dois tipos de partículas no sistema com morfologia semelhantes às substâncias isoladas. O mesmo pode ser visualizado nas fotos das misturas-físicas dos sistemas ternários finasterida:HP β CD:quitosana (FIGURA 25f) e finasterida:HP β CD:PVP K-30 (FIGURA 26i).

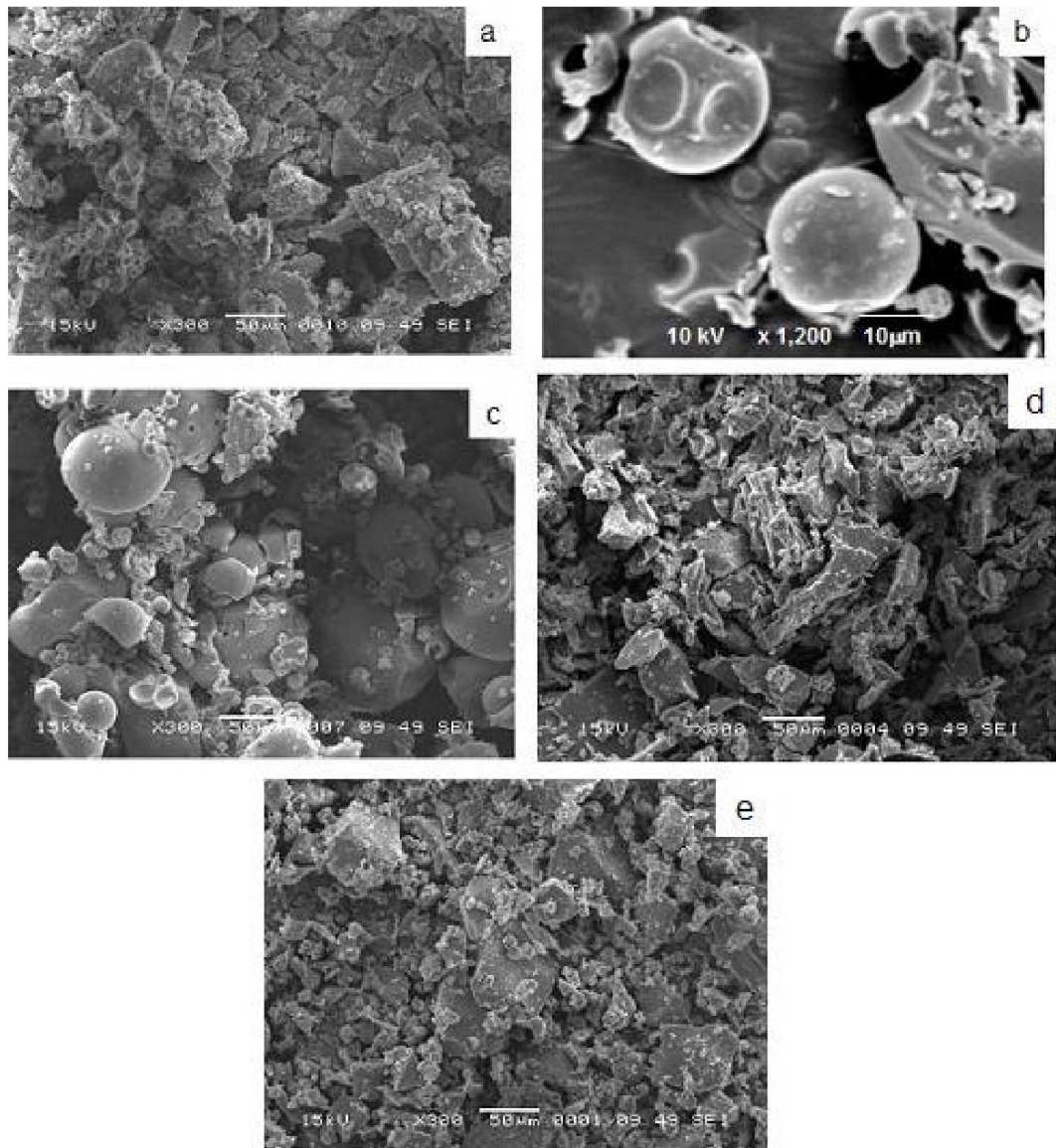


FIGURA 24 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DA FINASTERIDA (A), HP β CD (B), MISTURA FÍSICA FINASTERIDA: HP β CD (1:1) (C); SISTEMAS BINÁRIOS OBTIDO POR COEVAPORAÇÃO (D) E LIOFILIZAÇÃO (E), OBTIDOS EM MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA JEOL MOD. JSM-6360 LV

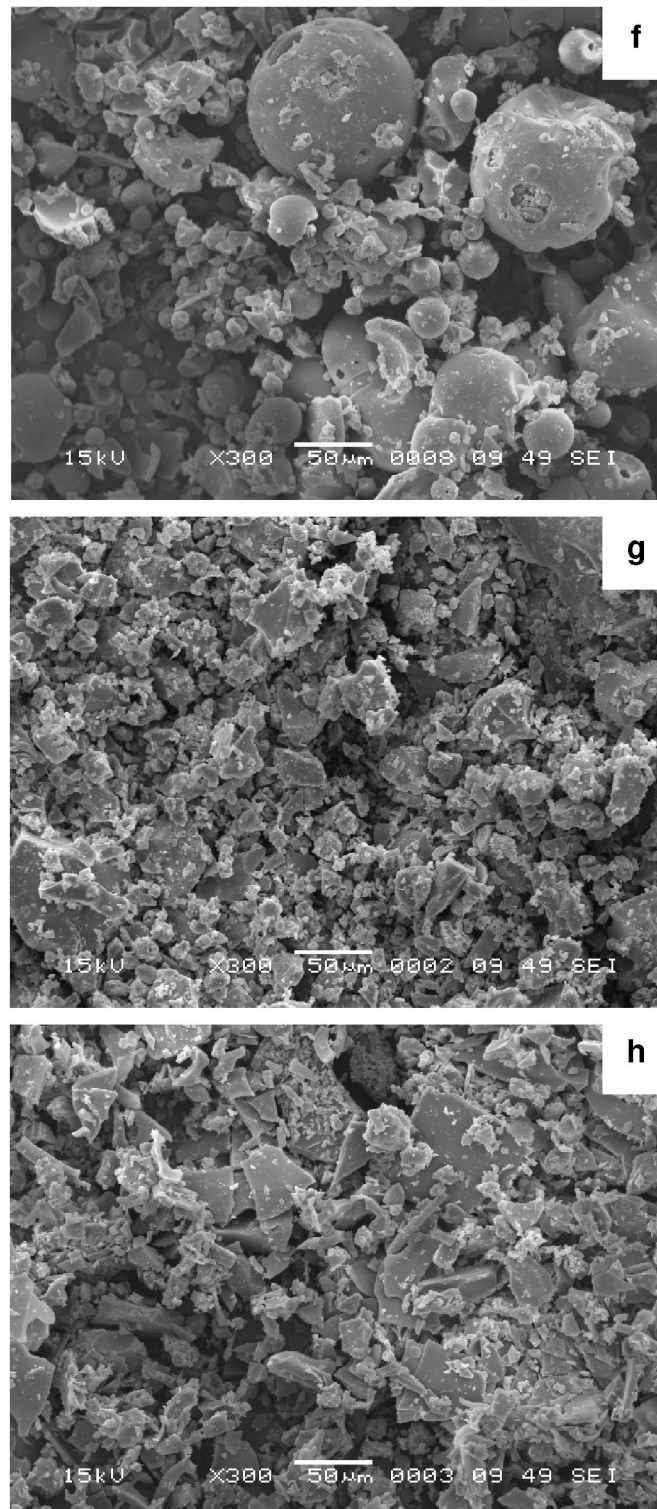


FIGURA 25 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DA MISTURA-FÍSICA FINASTERIDA:HPβCD:QUITOSANA (F) E SISTEMAS TERNÁRIOS FINASTERIDA:HPβCD:QUITOSANA OBTIDO POR COEVAPORAÇÃO (G) E LIOFILIZAÇÃO (H), OBTIDOS EM MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA JEOL MOD. JSM-6360 LV

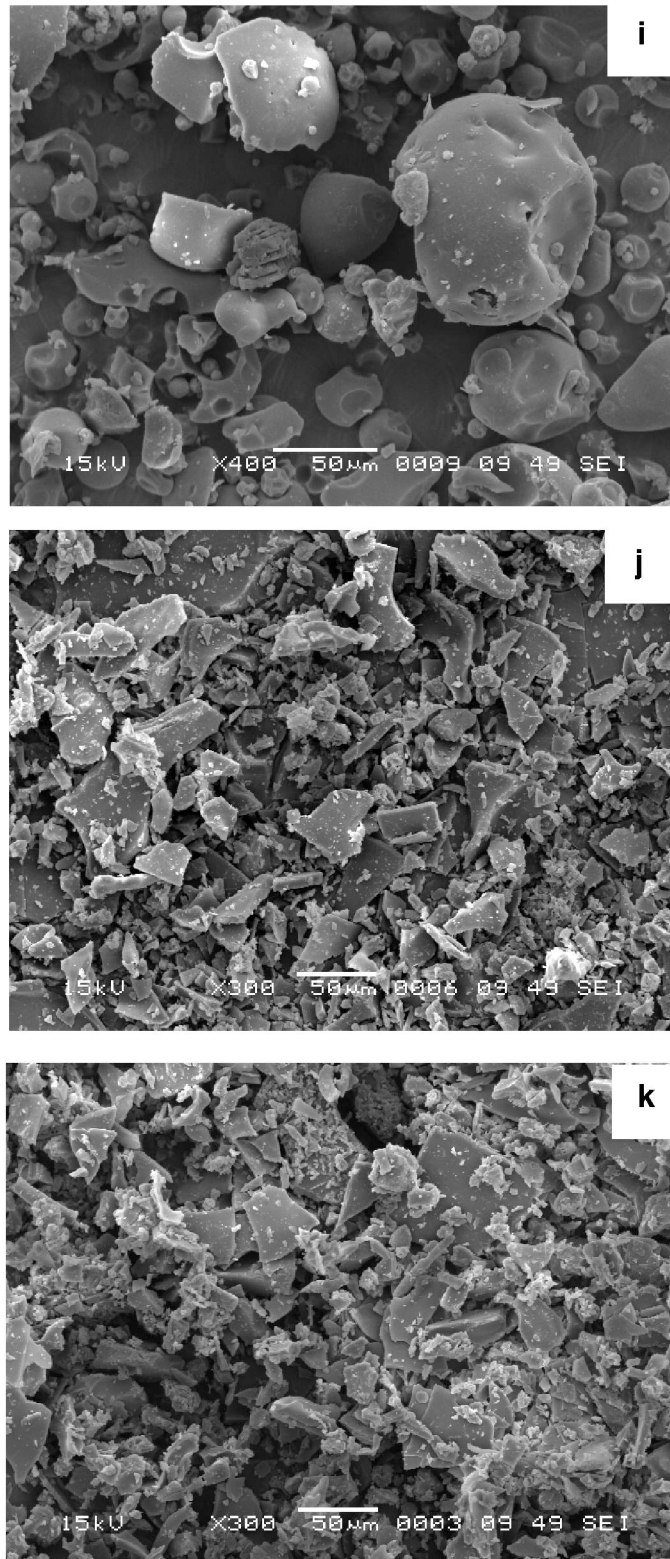


FIGURA 26 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DA MISTURA-FÍSICA FINASTERIDA: HPβCD:PVP K-30 (I) E SISTEMAS TERNÁRIOS FINASTERIDA:HPβCD: PVP K-30 OBTIDOS POR COEVAPORAÇÃO (J) E POR LIOFILIZAÇÃO (K), OBTIDOS EM MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA JEOL MOD. JSM-6360 LV

As fotomicrografias dos sistemas binários e ternários, no entanto, apresentam morfologia das partículas diferente das micrografias das substâncias isoladas para ambas as metodologias de preparo empregadas – coevaporação e liofilização. Os sistemas obtidos por coevaporação apresentam aspecto similar com partículas achatadas e de pequeno tamanho, enquanto nos sistemas obtidos por liofilização verifica-se a presença de partículas de aspecto lamelar.

Segundo (RIBEIRO *et al.*, 2003) nos estudos de microscopia eletrônica de varredura (SEM), a alteração das características morfológicas da substância pura sugere a formação de complexos de inclusão fármaco/ciclodextrina.

5.3.4 Ensaio de dissolução

A FIGURA 27 apresenta os perfis de dissolução das pastilhas de finasterida e dos complexos investigados. Os perfis de dissolução dos sistemas binários e ternários mostraram-se melhores que aquele encontrado para o fármaco puro, havendo um aumento médio de cerca de 20% na quantidade total de finasterida dissolvida.

Retenção do fármaco nas pastilhas foi observada durante os ensaios de dissolução. Tal fato pode ser atribuído à força de compressão aplicada para obtenção das pastilhas, o que dificultou a liberação do fármaco (FIGURA 28). A substituição das pastilhas por ensaios de dissolução intrínseca (VIEGAS *et al.*, 2001) ou o emprego do fármaco e complexos de inclusão sem tratamento prévio empregando aparato 1 (cesta) (MURA, FAUCCI e BETTINETTI, 2001), poderia gerar melhores resultados.

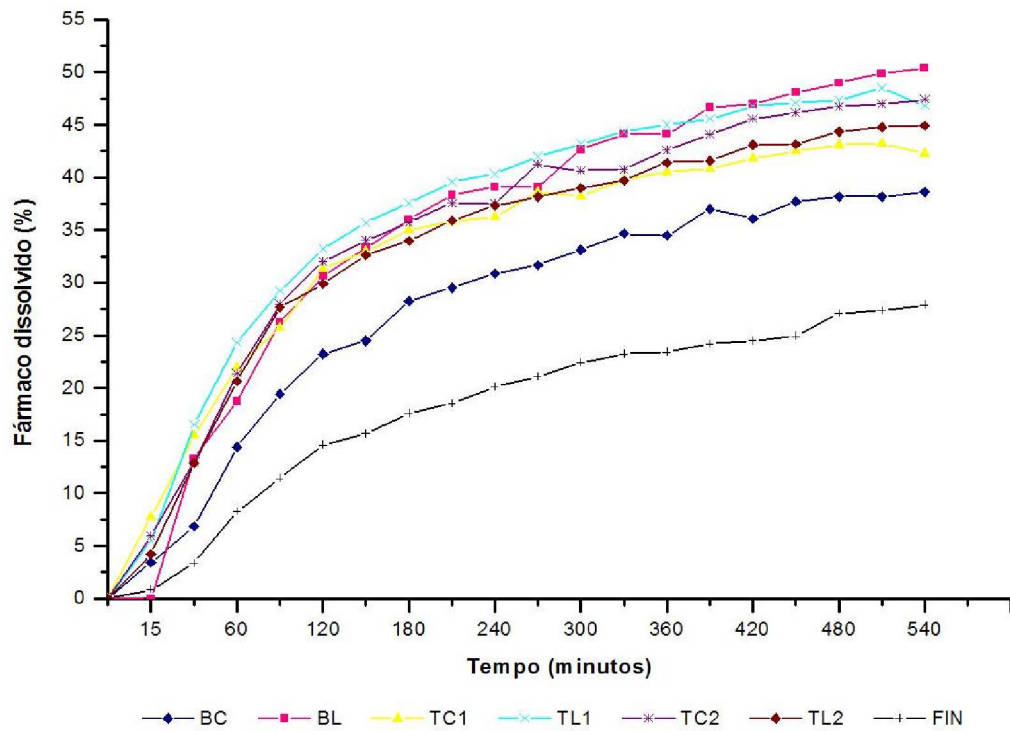


FIGURA 27 - PERFIL DE DISSOLUÇÃO DAS PASTILHAS CONTENDO O FÁRMACO FINASTERIDA (FIN) E OS COMPLEXOS BINÁRIOS COEVAPORADO (BC) E COLIOFILIZADO (BL); COMPLEXOS TERNÁRIOS COM QUITOSANA COEVAPORADO (TC1) E COLIOFILIZADO (TL1); E COMPLEXOS TERNÁRIOS COM PVP K-30 COEVAPORADO (TC2) E COLIOFILIZADO (TL2)

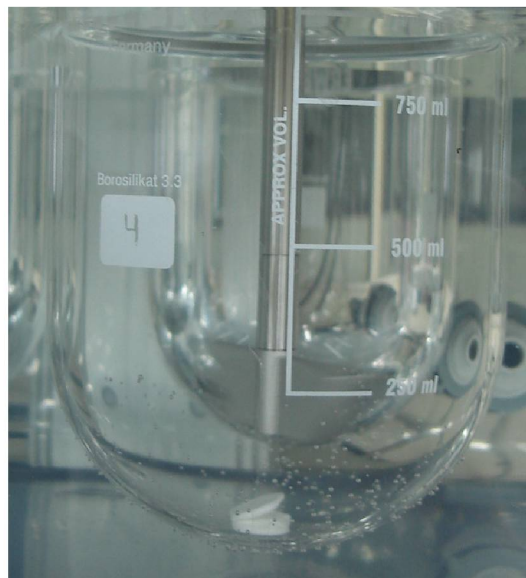


FIGURA 28 – FOTOGRAFIA MOSTRANDO O ASPECTO DE UMA PASTILHA DURANTE O ENSAIO DE DISSOLUÇÃO

6 – CONCLUSÃO

As curvas DSC, os difratogramas e os ensaios de microscopia eletrônica de varredura (SEM) indicam a formação de complexos de inclusão fármaco/CD para os sistemas binários de finasterida:HP β CD e ternários de finasterida:HP β CD:quitosana ou finasterida:HP β CD:PVP K-30, obtidos tanto por co-evaporação quanto por liofilização.

Os estudos de solubilidade e ensaios de dissolução demonstram que os complexos de inclusão finasterida:HP β CD na presença e ausência de polímeros conduzem a um aumento na solubilidade do fármaco, porém a adição de polímeros contribui de forma pouco significativa na solubilidade dos sistemas. A partir deste fato, pode-se concluir que os polímeros presentes nos sistemas multicomponentes não formam interações com a finasterida capazes de favorecer sua solubilidade e aumentar a estabilidade dos complexos formados.

O método de obtenção dos diagramas de solubilidade de fase tem influência significativa sobre os valores das constantes de estabilidade (K_c) e eficiência de complexação (CE).

Os complexos binários e ternários apresentaram maior velocidade de dissolução em relação ao fármaco puro, podendo contribuir para uma melhora na biodisponibilidade do fármaco. Este fato, aliado ao pequeno ganho de massa, torna viável o emprego industrial de complexos de inclusão contendo finasterida na obtenção de formas farmacêuticas sólidas orais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDOU, H. M. Dissolution, bioavailability and bioequivalence. Easton: Mack Printing. 1989. 554 p.
- ACARTURK, F., KISLAL, O. e CELEBI, N. The effect of some natural polymers on the solubility and dissolution characteristics of nifedipine. International Journal of Pharmaceutics, v.85, p.1-6. 1992.
- AIGNER, Z., KÉZSMÁRKI, Á., KATA, M., *et al.* Investigation of Tenoxicam and β -cyclodextrin binary and ternary complexes. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, v.42, p.227-233. 2002.
- AMIDON, G. L., LENNERNAS, H., SHAH, V. P., *et al.* A theoretical basis for a biopharmaceutical drug classification : the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. Pharmaceutical Research, v.12, n.1, p.413-420. 1995.
- AMMAR, H. O., SALAMA, H. A., GHORAB, M., *et al.* Implication of inclusion complexation of glimepiride in cyclodextrin-polymer systems on its dissolution, stability and therapeutic efficacy. International Journal of Pharmaceutics, v.320, p.1-5. 2006.
- ANDERSEN, F. A. e BUNDGAARD, H. Inclusion complexation of metronidazole with β -cyclodextrin and its depression of anhydrate-hydrate transition in aqueous suspensions. International Journal of Pharmaceutics, v.19, p.189-197. 1984.
- ANDRIOLE, G., BRUCHOVSKY, N., CHUNG, L. W. K., *et al.* Dihydrotestosterone and the prostate: the scientific rationale for 5 α -reductase inhibitors in the treatment of benign prostatic hyperplasia. The journal of urology, v.172, p.1399-1403. 2004.
- ARONSON, H. Correction factor for dissolution profile calculations. Journal of Pharmaceutical Sciences, v.82, n.11, p.1190. 1993.
- BABU, R. J. e PANDIT, J. K. Enhancement of dissolution rate and hypoglycemic activity of glibenclamide with β -cyclodextrin. S. T. P. Pharma Science, v.5, n.3, p.196-201. 1995.
- BADWAN, E. A. Method for solubilization drugs using cyclodextrins and carboxylic acids. United States Patent, v.5, n.646, p.131. 1997.
- BARRY, M. e ROHERBORN, C. Management of benign prostatic hyperplasia. Annu. Rev. Med., v.48, p.177-189. 1997.

- BÉNI, S., SZAKÁCS, Z., CSERNÁK, O., *et al.* Cyclodextrin/imatinib complexation: binding mode and charge dependent stabilities. European Journal of Pharmaceutical Sciences, v.30, p.167-174. 2007.
- BETTINETTI, G. P. e MURA, P. Dissolution properties of naproxen in combinations with polyvinylpyrrolidone. Drug Development and Industrial Pharmacy, v.20, p.1353-1366. 1994.
- BLANCHARD, J. e PRONIUK, S. Some important considerations in the use of cyclodextrins. Pharmaceutical Research, v.16, n.12, p.1796-1798. 1999.
- BLANCO, J., VILLA-JATO, J. L., OTERO, F., *et al.* Influence of method of preparation on inclusion complexes of naproxen with different cyclodextrins. Drug Development and Industrial Pharmacy, v.17, p.943-945. 1991.
- BORKA, L. Review on crystal polymorphism of substances in the European Pharmacopeia. Pharm. Acta Helv., v.66, n.1, p.16-22. 1991.
- BRASIL. Resolução RDC nº 2, de 15 de janeiro de 2007. Aprova o regulamento técnico sobre aditivos aromatizantes: **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 15 jan. 2007.
- BREWSTER, M. E. e LOFTSSON, T. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. Adv. Drug Delivery Rev., v.59, p.645-666. 2007.
- BRITTAIN, H. G. e FIESE, E. F. Effects of pharmaceutical processing of drug polymorphs and solvates. In: Polymorphism in pharmaceutical solids. New York: Marcel Dekker, 1999, p.331-361.
- BUDAVARI, S. The Merck Index. An Encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. New Jersey: Merck & Co. 1996. 1741 p.
- BULL, H. G., GARCIA-CALVO, M., ANDERSSON, S., *et al.* Mechanism-based inhibition of human steroid 5 alpha-reductase by finasteride: enzyme-catalyzed formation of NADP-dihydrofinasteride, a potent bisubstrate analog inhibitor. Journal of American Chemical Society, v.118, p.2359-2365. 1996.
- BYRN, S., PFEIFFER, R., GANEY, M., *et al.* Pharmaceutical solids: a strategic approach to regulatory considerations. Pharmaceutical Research, v.12, n.7, p.945-954. 1995.
- CABRAL-MARQUES, H. E. A. Studies of cyclodextrin inclusion complexes. 1. The salbutamol-cyclodextrin complex as studied by phase solubility and DSC. International Journal of Pharmaceutics, v.63, p.259-266. 1990.
- CAPPELLO, B., CARMIGNANI, C., IERVOLINO, M., *et al.* Solubilization of tropicamide by hydroxypropyl- β -cyclodextrin and water-soluble polymers: in vitro/in vivo studies. International Journal of Pharmaceutics, v.213, p.75-81. 2001.

CARSTENSEN, J. T. Polymorphism. In: Advanced Drug Delivery Reviews. New York: Marcel Dekker, 2001, p.117-131.

CATALONA, W. J., RICHIE, J. P., DEKERNION, J. B., *et al.* Comparison of prostate specific antigen concentration versus prostate specific antigen density in the early detection of prostate cancer: Receiver operating characteristic curves. The journal of urology, v.152, p.2031-2036. 1994.

CHADHA, R., JAIN, D. V. S., AGGARWAL, A., *et al.* Binding constants of inclusion complexes of nitroimidazoles with β -cyclodextrins in the absence and presence of PVP. Thermochimica Acta, v.459, p.111-115. 2007.

CHALLA, R., AHUJA, A., ALI, J., *et al.* Cyclodextrins in drug delivery: an updated review. AAPS PharmSciTech, v.6, n.2, p.E-329-E357. 2005.

CHOW, D. e KARARA, A. Characterization, dissolution and bioavailability in rats of ibuprofen- β -cyclodextrin complex system. International Journal of Pharmaceutics, v.28, p.95-101. 1986.

CLARKE, R. J., COATES, J. H. e LINCOLN, S. F. Inclusion complexes of the cyclomalto-oligosaccharides (cyclodextrins). Advances Carbohydrate Chemistry and Biochemistry, v.46, p.205-249. 1988.

CONNOLLY, J. R. Introduction to X-ray Powder Diffraction. Disponível em: acesso em: 17/01/08.

CONSIGLIERI, V. O., STORPIRTIS, S. e FERRAZ, H. G. Aspectos farmacotécnicos relacionados à biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v.21, n.1, p.23-41. 2000.

COTRAN, R. S., KUMAR, V., ROBBINS, S. L., *et al.* Patologia Estrutural e Funcional. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1996. 1277 p.

DRAGAN, F., BRATU, I., BORODI, G., *et al.* Spectroscopic investigation of β -cyclodextrin-metoprolol tartrate inclusion complexes. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, v.59, p.125-130. 2007.

DRESSMAN, J. B., AMIDON, G. L., REPPAS, C., *et al.* Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorpt: immediate release dosage forms. Pharmaceutical Research, v.15, n.1, p.11-22. 1998.

DUCHÊNE, D. e WOUESSIDJEWE, D. Pharmaceutical uses of cyclodextrins and derivatives. Drug Development and Industrial Pharmacy, v.16, p.2487-2499. 1990.

DUCHENE, D., WOUESSIDJEWE, D. e POELMAN, M. Les cyclodextrines dans les préparations pour usage dermique. In: Formes pharmaceutiques pour application locale. Paris: Tec & Doc, 1997, p.481-499.

FERRAZ, H. G. Avaliação biofarmacêutica in vitro e in vivo (bioequivalência) de comprimidos de ampicilina 500 mg comercializados no Brasil. (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997. 135 p.

FIGUEIRAS, A., SARRAGUÇA, J. M. G., CARVALHO, R. A., *et al.* Interaction of Omeprazole with a Methylated Derivative of β -Cyclodextrin: Phase Solubility, NMR Spectroscopy and Molecular Simulation. Pharmaceutical Research, v.24, n.2, feb-2007, p.377-389. 2007.

GLEITER, C. H., KOLTZ, U., KUHLMANN, J., *et al.* When are bioavailability studies required?: a German proposal. J. Clin. Pharm., v.38, n.10, p.904-911. 1998.

GONZÁLEZ, M., RETACO, P., PIZZORNO, M. T., *et al.* Effect manufacturing technology on the dissolution an ampicilin tablets. Bolletino Chimico Farmaceutico Milanese, v.134, n.8, p.448-453. 1995.

GOODHEW, P. J., HUMPHREYS, F. J. e BEANLAND, R. Electron microscopy and analysis. New York: Taylor & Francis. 2001. 251 p.

GORMLEY, G. Finasteride: a clinical review. Biomedicine & Pharmacotherapy, v.49, p.319-324. 1995.

GRANT, D. J. W. Theory and origin of polymorphism. In: Polymorphism in pharmaceutical solids. New York: Marcel Dekker, 1999, p.1-22.

HIGUCHI, T. e CONNORS, K. A. Advances in analytical chemistry instrumentation. New York: Wiley-Interscience, v.IV. 1965. 117 p.

HIRSCH, C. A., MESSENGER, R. J. e BRANNON, J. L. Fenopufen: Drug form selection and preformulation stability studies. Journal of Pharmaceutical Sciences, v.67, n.2, p.231-236. 1978.

HLÁDON, T. e CWITERNIA, B. Physical and chemical interactions between cellulose ethers and β -cyclodextrins. Pharmazie, v.49, p.497-500. 1994.

IKEDA, Y., HIRAYAMA, F., ARIMA, H., *et al.* NMR spectroscopic characterization of metoprolol/cyclodextrin complexes in aqueous solution: Cavity size dependency. Journal of Pharmaceutical Sciences, v.93, n.7, p.1659-1671. 2004.

IRIE, T. e UEKAMA, K. Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins. III. Toxicological Issues and Safety Evaluation. Journal of Pharmaceutical Sciences, v.86, n.2, p.147-161. 1997.

JINDRICH, J. Synthesis of cyclodextrin dimer carriers of photodynamic sensitizers for cancer therapy. Disponível em: www.jindrich.org/projects/cyclodextrins.html; acesso em: 15/12/2007.

KENNY, B., BALLARD, S., BLAGG, J., *et al.* Pharmacological Options in the Treatment of Benign Prostatic Hyperplasia. Journal of Medicinal Chemistry, v.40, n.9, april 25, 1997, p.1293-1315. 1997.

KOROLKOVAS, A., CUNHA, B. C. D. A., FRANÇA, F. F. A. C. D., *et al.* Dicionário Terapêutico Guanabara. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1995

LACHMAN, L., LIEBERMAN, H. A. e KANIG, J. L. Teoria e prática na indústria farmacêutica. Lisboa: Fundação Calouste Gulbekian. 2001. 1517 p.

LIN, S., WOUESSIDJEW, D., POELMAN, M., *et al.* In vivo evaluation of indometacin cyclodextrin complexes gastrointestinal tolerance and dermal anti-inflammatory activity. International Journal of Pharmaceutics, v.106, p.63-67. 1994.

LOBENBERG, R. A., G.L. Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international regulatory standards. Eur. J. Pharm. Biopharm, v.50, p.3-12. 2000.

LOFTSSON, T. Cyclodextrins complexation. United States Patent, v.5, n.472, p.954. 1995.

_____. Increasing the cyclodextrins complexation of drugs and drug bioavailability through addition of water-soluble polymers. Pharmazie, v.53, p.733-740. 1998.

_____. Cyclodextrin and the Biopharmaceutics classification system of drugs. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, v.44, p.63-67. 2002.

LOFTSSON, T., BJORNSDOTTIR, S., PALSDOTTIR, G., *et al.* The effects of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin on solubility and stability of chlorambucil and melphalan in aqueous solution. International Journal of Pharmaceutics, v.57, p.63-72. 1989.

LOFTSSON, T. e BREWSTER, M. E. Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins. 1. Drug Solubilization and Stabilization. Journal of Pharmaceutical Sciences, v.85, n.10, 10/10/1996, p.1017 - 1025. 1996.

LOFTSSON, T. e DUCHÊNE, D. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. International Journal of Pharmaceutics, v.329, p.1-11. 2007.

LOFTSSON, T. e FRIKDRISDOTTIR, H. The effect of water-soluble polymers on the aqueous solubility and complexing abilities of β -cyclodextrin. International Journal of Pharmaceutics, v.163, p.115-121. 1998.

LOFTSSON, T., FRIKDRISDOTTIR, H. e GUMUNDSOTTIR, T. K. The effect of water-soluble polymers on aqueous solubility of drugs. International Journal of Pharmaceutics, v.127, p.293-296. 1996.

LOFTSSON, T., FRIKDRIKSDOTTIR, H., SIGURKDARDOTTIR, A. M., *et al.* The effect of water-soluble polymers on drug-cyclodextrin complexation. International Journal of Pharmaceutics, v.110, p.169-177. 1994.

LOFTSSON, T. e HREINSDÓTTIR, D. Determination of aqueous solubility by heating and equilibration: a technical note. AAPS Pharm Sci Tech, v.7, n.1, 13/1/2006, p.E1-E4. 2006.

LOFTSSON, T., HREINSDÓTTIR, D. e MÁSSON, M. Evaluation of cyclodextrin solubilization of drugs. International Journal of Pharmaceutics, v.302, p.18-18. 2005.

_____. The complexation efficiency. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, v.57, p.545-552. 2007.

LOFTSSON, T., MÁSSON, M. e BREWSTER, M. E. Self-association of cyclodextrins and cyclodextrin complexes. Journal of Pharmaceutical Sciences, v.93, p.1091-1099. 2004.

LOFTSSON, T., MÁSSON, M. e SIGURJÓNSDÓTTIR, J. F. Methods to enhance the complexation efficiency of cyclodextrins. S.T.P. Pharma Sciences, v.9, n.3, p.237-242. 1999.

LOGAN, Y. T. e BELGERI, M. T. Monotherapy versus combination drug therapy for the treatment of benign prostatic hyperplasia. The American Journal of Geriatric Pharmacotherapy, v.3, n.2, p.103-114. 2005.

MESLEY, J. R. e JOHNSON, C. A. Infrared identification of pharmaceutically important steroids with particular reference to the occurrence of polymorphism. J. Pharm Pharmacol, v.17, p.329-340. 1965.

MOYANO, J. R., GINES, J. M., ARIAS, M. J., *et al.* Study of the dissolution characteristics of oxazepam via complexation with b-cyclodextrin. International Journal of Pharmaceutics, v.114, p.95-102. 1995.

MURA, P., FAUCCI, M. T. e BETTINETTI, G. P. The influence of polyvinylpyrrolidone on naproxen complexation with hydroxypropyl-b-cyclodextrin. European Journal of Pharmaceutical Sciences, v.13, p.187-194. 2001.

NETO, A. F. Patologias da Próstata. Disponível em: <http://www.ndu.edu/Health/HF/preventmed/ProsCa2Dec00.ppt>; acesso em: 02/12/07.

NOVARA, G., GALFANO, A., GARDI, M., *et al.* Critical Review of Guidelines for BPH Diagnosis and Treatment Strategy. European Urology Supplements, v.5, p.418-429. 2006.

OMARI, M. M. A., ZUGHUL, M. B., DAVIES, J. E. D., *et al.* Sildenafil/cyclodextrin complexation: Stability constants, thermodynamics, and guest–host interactions

probed by ^1H NMR and molecular modeling studies. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v.41, p.857-865. 2006.

OTERO-ESPINAR, F. J., ANGUIANO-IGEA, S., BLANCO-MENDES, J., *et al.* Reduction in the ulcerogenicity of naproxen by complexation with cyclodextrin. International Journal of Pharmaceutics, v.70, p.35-41. 1991.

OTHMAN, A., EVANS, J. S. O., RADOSAVLJEVIC, I., *et al.* Structural Study of Polymorphs and Solvates of Finasteride. Journal of Pharmaceutical Sciences, v.96, n.5, p.1380-1397. 2007.

OVERSTREET, J. W., FUH, V. L., GOULD, J., *et al.* Chronic treatment with finasteride daily does not affect spermatogenesis or semen production in young man. The journal of urology, v.162, p.1295. 1999.

PEREIRA, C. C. L., NOLASCO, M., BRAGA, S. S., *et al.* A Combined Theoretical-Experimental Study of the Inclusion of Niobocene Dichloride in Native and Permethylated β -cyclodextrins. Organometallics, v.26, p.4220-4228. 2007.

PITHA, J., MILECHI, J., FALES, H., *et al.* Hydroxypropyl- β -cyclodextrin: preparation and characterization : effects on solubility of drugs. International Journal of Pharmaceutics, v.29, p.73-82. 1986.

PITHA, J., SZENTE, L. e GREENBERG, J. Poly-L-methionine sulfoxide: A biologically inert analogue of dimethyl sulfoxide with solubilizing potency. Journal of Pharmaceutical Sciences, v.72, n.6, p.665-668. 1983.

PRALHAD, T. e RAJENDRAKUMA, K. Study of freeze-dried quercetin-cyclodextrin binary systems by DSC, FT-IR, X-ray diffractions and SEM analysis. J. Pharm. Biomed. Anal., v.34, p.333-339. 2004.

RAJEWSKI, R. A. e STELLA, V. J. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 2. In vivo drug delivery. Journal of Pharmaceutical Sciences, v.85, p.1142-1169. 1996.

RAMA, A. C. R., VEIGA, F., FIGUEIREDO, I. V., *et al.* Aspectos biofarmacêuticos da formulação de medicamentos para neonatos. Fundamentos da complexação de indometacina com hidroxipropil- β -ciclodextrina para tratamento oral do fechamento do canal arterial. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v.41, n.3, p.281-299. 2005.

RAO, B. P., SURESH, S., NARENDRA, C., *et al.* Caracterización fisicoquímica de los complejos de hidroxietil- β -ciclodextrina y β -ciclodextrina de rifampicina. Ars Pharm, v.47, n.1, p.37-59. 2006.

RIBEIRO, L., LOFTSSON, T., FERREIRA, D., *et al.* Investigation and Physicochemical Characterization of Vinpocetine-Sulfobutyl ether β -cyclodextrin binary and ternary complexes. Chemical Pharmaceutical Bulletin, v.51, n.8, p.914-922. 2003.

SAVOLAINEN, J., JÄRVINEN, K., TAIPALE, H., *et al.* Co-administration of a water-soluble polymer increases the usefulness of cyclodextrins in solid oral dosage forms. Pharmaceutical Research, v.15, p.1696-1701. 1998.

SCHER, H. I. Hyperplastic and malignant diseases of the prostate. In: Harrison's Principles of internal medicine. New York: McGraw-Hill, 2001, p.608 - 616.

SHARGEL, L. e YU, A. B. C. Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics. London: Prentice-Hall International. 1993. 625 p.

_____. Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics. New York: Mc Graw-Hill. 1999. 129-167 p.

SLAYTER, E. M. e SLAYTER, H. S. Light and electron microscopy. New York: Cambridge University Press. 1994. 312 p.

STELLA, V. J. e RAJEWSKI, R. A. Cyclodextrins: Their future in drug formulation and delivery. Pharmaceutical Research, v.14, n.5, p.556 - 567. 1997.

STORPIRTIS, S. Biofarmácia e biofarmacotécnica: ensino e pesquisa. Infarma, v.2, n.4, p.19-20. 1993.

STORPIRTIS, S., OLIVEIRA, P. G., RODRIGUEZ, D., *et al.* Considerações biofarmacotécnicas relevantes na fabricação de medicamentos genéricos: fatores que afetam a dissolução e a absorção de fármacos. Rev. Farm. Bioquim. Univ. São Paulo, v.35, n.1, p.1-16. 1999.

SWEETMAN, S. C., Ed. Martindale Guia completa de consulta farmacoterapêutica. Barcelona: Pharma Editores, p.2721, 1 ed. 2003.

SZEJTLI, L. Limits of cyclodextrins application in oral drug preparations. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, v.2, p.487-501. 1984.

_____. Cyclodextrins. In: Cyclodextrins technology. London: Kluwer Academic Publishers, 1988, p.1-78.

TRAPANI, A., LAQUINTANA, V., DENORA, N., *et al.* Eudragit RS 100 microparticles containing 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin and glutathione: Physicochemical characterization, drug release and transport studies. European Journal of Pharmaceutical Sciences, v.30, p.64-74. 2007.

UEKAMA, K. e HIRAYAMA, F. Improvement of Drug Properties by Cyclodextrins. In: The Practice of Medicinal Chemistry. Cambridge: Academic Press, 1996, p.793 - 819.

THE UNITED STATES PHARMACOPEIA/The National Formulary. 30.ed. Rockville: US Pharmacopeial Convention. 3013 p. 2007.

- VALERO, M. E. A. Effect of PVP K-25 on the formation of the naproxen:b-cyclodextrin complex. International Journal of Pharmaceutics, v.253, p.97-110. 2003.
- VEIGA, F., TEIXEIRA-DIAS, J. J. C., KEDZIEREWICZ, F., *et al.* Inclusion complexation of tolbutamide with b-cyclodextrin and hydroxypropyl-b-cyclodextrin. International Journal of Pharmaceutics, v.129, p.63-71. 1995.
- VIEGAS, T. X., CURATELLA, R. U., VAN WINKLE, L. L., *et al.* Measurement of Intrinsic Drug Dissolution Rates Using Two Types of Apparatus. Pharm.Tech, p.44-53. 2001.
- VILA-JATO, J. L., BLANCO, J. e TORRES, J. J. Biopharmaceutical aspects of the tolbutamide-b-cyclodextrin inclusion compound. Il Farmaco, v.43, p.37-45. 1988.
- WELLS, J. I. Pharmaceutical preformulation the physicochemical properties of drug substances. New York: Ellis Horwood. 1988. 227 p. (Series in pharmaceutical technology)
- WENSLOW, R. M., BAUM, M. W., BALL, R. G., *et al.* A Spectroscopic and Crystallographic Study of Polymorphism in an Aza-Steroid. Journal of Pharmaceutical Sciences, v.89, n.10, out/2000, p.1271-1285. 2000.
- YU, L. X., CRISON, J. R. e AMIDON, G. L. A strategic approach for predicting oral drug absorption. Pharmaceutical Research, v.12, p.S8. 1995.
- YU, L. X., LIPKA, E., CRISON, J. R., *et al.* Transport approaches to the biopharmaceutical design of oral drug delivery system: prediction of intestinal absorption. Adv. Drug Delivery Rev., v.19, p.359-376. 1996.
- YUAN, C., JIN, Z. e LI, X. Evaluation of complex forming ability of hydroxypropyl- β -cyclodextrins. Food Chemistry, v.106, p.50-55. 2008.
- ZHANG, M. e REES, D. C. A review of recent applications of cyclodextrins for drug discovery. Exp. Opin. Ther. Patents, v.9, p.1697-1717. 1999.
- ZINGONE, G. e RUBESSA, F. Preformulation study of the inclusion complex warfarin-b-cyclodextrin. International Journal of Pharmaceutics, v.291, p.3-10. 2004.