



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

SHAYARA LOPES CIRÍACO

DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE NANOCARREADORES
TRANSDÉRMICOS DE DOSE COMBINADA (TANSULOSINA E DUTASTERIDA)
PARA HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA

Teresina - Piauí

2016

SHAYARA LOPES CIRÍACO

DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE NANOCARREADORES
TRANSDÉRMICOS DE DOSE COMBINADA (TANSULOSINA E DUTASTERIDA)
PARA HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA

Defesa da Dissertação de Mestrado submetida à
Coordenação de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas do Curso de Farmácia da Universidade
Federal do Piauí, como pré-requisito para a obtenção
do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof Dr. André Luis Menezes Carvalho

Teresina - Piauí

2016

Universidade Federal do Piauí
Serviço de Processamento Técnico
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências da Saúde

Ciríaco, Shayara Lopes.
C578d Desenvolvimento tecnológico de nanocarreadores transdérmicos de dose combinada (Tansulosina e Dutasterida) para hiperplasia protástica benigna / Shayara Lopes Ciríaco. -- Teresina, 2016.
133 f. : il.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2016.
Orientador: Prof. Dr. André Luis Menezes Carvalho.
Bibliografia

1. Dutasterida. 2. Tansulosina. 3. Próstata. I. Título. II. Teresina -- Universidade Federal do Piauí.

CDD 616.65

SHAYARA LOPES CIRÍACO

DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE NANOCARREADORES
TRANSDÉRMICOS DE DOSE COMBINADA (TANSULOSINA E DUTASTERIDA)
PARA HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA

Defesa da Dissertação de Mestrado submetida à
Coordenação de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas do Curso de Farmácia da Universidade
Federal do Piauí, como pré-requisito para a obtenção
do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. André Luis Menezes Carvaho (Orientador)

Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas – CCS/UFPI

Prof. Dra. Marcilia Pinheiro da Costa (Examinadora interna)

Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas – CCS/UFPI

Prof. Dra. Fernanda Regina de Castro Almeida (Examinadora externa)

Universidade Federal do Piauí (UFPI)

Prof. Dra. Maria Zenaide de Lima Chagas Moreno Fernandes (Examinadora externa)

Universidade Federal do Piauí (UFPI)

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ

REITOR

Prof. Dr. José Arimatéia Dantas Lopes

VICE-REITOR

Prof^a. Dr^a. Nadir do Nascimento Nogueira

PRO-REITOR PARA ASSUNTOS DE PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Helder Nunes da Cunha

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof^a. Dr^a Regina Ferraz Mendes

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof^a. Dr^a Lina Gomes Santos

COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS

FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Paulo Michel Pinheiro Ferreira

VICE-COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS

FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Rivelilson Mendes de Freitas (*in memorian*)

DEDICATÓRIA

Dedico este Trabalho ao meu Bom Deus por ter me guiado até aqui e em especial a minha família que acreditou em mim, e aos meus bons e fiéis amigos que sempre estiveram na minha torcida!!!

AGRADECIMENTOS

A Deus por me mostrar que tudo é possível para quem nele crê e capacita-me a todo instante, A minha amada família, tios(as), primos (as), madrinha, padrinho e cunhado, por serem o reflexo de Deus na minha vida, por me apoiarem incondicionalmente, secarem as minhas lágrimas nos momentos difíceis, e nunca me deixarem desistir dos meus sonhos, muito obrigada em especial a minha mãe Elza Lopes da Silva Ciríaco, meu pai Antônio Edivam Silva Ciríaco e minha irmã Shenara Lopes Ciríaco, Amo demais vocês!!!

A minha segunda família Grupo de Oração Cristo Rei- RCC, no qual encontrei várias tias, mães, irmãos e irmãs, e me senti agraciada por Deus pela existência de cada um em minha vida.

A todos meus bons amigos que já conhecia e que encontrei pelos caminhos árduos até chegar aqui. A todos colegas de turma do mestrado, sucesso a cada um! Aos meus amigos da inesquecível turma de graduação Farmanet's por estarem presentes na minha vida até hoje, em especial ao meu grande amigo Benedito Neto que desde a graduação foi e continua sendo um irmão, por sempre mostrar-se disposto a ajudar-me e segurar na minha mão em muitos momentos. Te adoro demais meu amigo!

A todos os mestres que enriqueceram os meus conhecimentos ao longo da jornada em especial ao meu orientador professor Dr. André Luis Menezes Carvalho, por trilhar junto comigo esse caminho que não foi fácil, pelos ensinamentos e por acreditar na execução deste trabalho e a minha Co-orientadora Professora Dra. Maria Zenaide de Lima Chagas Moreno Fernandes, pela sua contribuição e por mostrar-se sempre disposta em ajudar na concretização deste sonho,

Aos orientandos da Professora Maria Zenaide, Ana Paula Gomes Pereira Cunha e Ykro Talvanis Duarte Cavalcante que tive a sorte de tê-los comigo, agradeço por todo apoio e pelas inúmeras ajudas!

A toda a equipe da Farmácia Escola e Laderm, desde os funcionários (Carlos, Talita, Evérton, Sean, Pablo) à discentes (Gláucia Lopes, Amanda Mota, Lucas Lopes, Flávia, Layne e muitos outros) e ex-alunos (Daniel Bento, Verônica Sátiro) que contribuíram de forma muito especial a concretizar este sonho, e que ao longo da jornada a família só cresceu, em especial ao meu bom e fiel amigo José Alves Terceiro Neto, por compartilharmos ideias, conhecimentos e sofrimentos. Nessa trajetória tudo seria mais difícil se não tivesse você aqui.

Amigo, juntos conseguimos finalizar essa etapa. Muito obrigada!!

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas e à UFPI por contribuir com o meu crescimento intelectual e profissional.

EPÍGRAFE

“Combati o bom combate, terminei a minha carreira, guardei a fé. Resta-me agora receber a coroa da justiça que o Senhor, justo Juiz, me dará naquele dia.”

(2Tm, 4:7)

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	11
LISTA DE FIGURAS	12
LISTA DE TABELAS	13
LISTA DE GRÁFICOS	14
RESUMO	16
ABSTRACT	17
1 INTRODUÇÃO	18
2 OBJETIVOS	20
2.1 GERAL	20
2.2 ESPECÍFICOS	20
3) REFERENCIAL TEÓRICO	21
3.1) ANATOMOFISIOLOGIA DA PRÓSTATA	21
3.2) HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA	22
3.2.1) Correlação entre HPB e a produção de andrógenos	22
3.2.2) Epidemiologia	25
3.2.3) Tratamento	25
3.2) FÁRMACOS ANTAGONISTAS α - ADRENÉRGICOS E INIBIDORES DA 5AR	26
3.2.1) Características físico-químicas e Farmacocinética	27
3.2.1.1) Dutasterida e Tansulosina	27
3.3) VIAS DE ADMINISTRAÇÃO TRANSDÉRMICA	30
3.4) MICROEMULSÕES COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO TRANSDÉRMICA	32
3.5) TÉCNICAS DE QUANTIFICAÇÃO SIMULTÂNEA DE FÁRMACOS	36
REFERÊNCIAS	39
4 CAPÍTULO 1: EVIDÊNCIAS CIENTÍFICAS E TECNOLÓGICAS DA UTILIZAÇÃO DOS FÁRMACOS DUTASTERIDA E TANSULOSINA PARA O TRATAMENTO DA HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA	44
RESUMO	46
ABSTRACT	47
INTRODUÇÃO	48

METODOLOGIA	50
RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
CONCLUSÃO	69
REFERÊNCIAS	70
5 CAPÍTULO 2: OBTENÇÃO, VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO DE QUANTIFICAÇÃO E CINÉTICA DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> DA DUTASTERIDA E TANSULOSINA EM MICROEMULSÃO	76
RESUMO	78
ABSTRACT	79
INTRODUÇÃO	80
MATERIAL E MÉTODOS	81
Material	81
Reagentes e amostras	81
Equipamentos	82
Métodos	82
Obtenção da Microemulsão	82
Validação de método analítico para determinação de DU/TA em microemulsão	82
Especificidade e Seletividade	82
Linearidade e intervalo	82
Limite de Quantificação e Limite de Detecção	83
Precisão	83
Exatidão	84
Robustez	84
Análise estatística	84
RESULTADOS E DISCUSSÃO	84
CONCLUSÃO	93
REFERÊNCIAS	94
6 CAPÍTULO 3: OBTENÇÃO TECNOLÓGICA E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTI-HIPERPLÁSICO PROSTÁTICO DE UMA MICROEMULSÃO TRANSDÉRMICA DE DUTASTERIDA E TANSULOSINA	96
RESUMO	98
ABSTRACT	99
INTRODUÇÃO	100

MATERIAL E MÉTODOS	101
Material	101
Reagentes e amostras	101
Equipamentos	102
Métodos	102
Diagrama de fase pseudoternario	102
Preparo da Microemulsão (4:1)	102
Caracterização Físico- Química	103
-Tamanho de gotícula	103
-Reologia	103
-pH	103
-Conductividade	103
-Índice de Refração	103
Teste de solubilidade para o meio receptor da cinética de liberação in vitro	103
Cinética de Liberação in vitro	104
Avaliação anti-hiperplásica Prostática	104
Análise estatística	105
RESULTADOS E DISCUSSÃO	105
Diagrama de fase pseudoternario	105
Preparo da Microemulsão (4:1)	106
Caracterização Físico- Química	107
-Tamanho de gotícula	107
-Reologia	108
-pH	111
-Conductividade	112
-Índice de Refração	114
Ensaio de solubilidade para o meio receptor da cinética de liberação in vitro	116
Cinética de Liberação in vitro	117
Avaliação anti-hiperplásica Prostática	121
CONCLUSÃO	124
REFERÊNCIAS	125
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	129
8 PRODUÇÃO CIENTÍFICA	130

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ANOVA	Análise de Variância
AR	Receptor androgênico
a/o	Água em óleo
CIP	Classificação Internacional de Patentes
CV	Coeficiente de Variação
DHT	Di-hidrotestosterona
DU	Dutasterida
ED-UV	Espectroscopia derivativa no UV-Vis
HPB	Hiperplasia Prostática Benigna
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
ME	Microemulsão
nm	Nanômetro
o/a	Óleo em água
PSA	Antígeno específico prostático
QLa	Quantidade Liberada acumulada
r	Coeficiente de correlação
Smix	Mistura de tensoativo, co-tensoativo e óleo
STUI	Sintomas do trato urinário inferior
T	Testosterona
TA	Tansulosina
5AR	Enzima 5 α redutase
5ARI	Inibidor da Enzima 5 α redutase
®	Marca Registrada

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Divisão anatômica da próstata de acordo com a distribuição das zonas anatomofisiológicas	21
Figura 2- Ação da Testosterona nas células estromais e epiteliais da próstata	24
Figura 3- Estrutura química da Dutasterida	28
Figura 4- Estrutura química do Cloridrato de Tansulosina	29
Figura 5- Representação esquemática da pele com suas vias de penetração	31
Figura 6- Representação esquemática das microestruturas de uma microemulsão	33
Figura 7- Demonstração esquemática dos aparatos descritos na Farmacopéia Americana	34
Figura 8- Esquema da Célula de Difusão tipo Franz	36
Figura 9- Varreduras dos Fármacos Ibuprofeno e Paracetamol	38
Figura 10- Representação do Diagrama de Fases (4:1)	106
Figura 11- Diferentes Microemulsões (ME) sem fármacos à direita (a) e Microemulsões incorporadas com Dutasterida e Tansulosina à esquerda (b)	107
Figura 12- Amostragem dos órgãos coletados nos Grupos experimentais (Grupo 1- placebo da Microemulsão (ME); Grupo 2- Testosterona i.m.; Grupo 3- Testosterona i.m. + ME 0,2% de DU e TA; Grupo 4- ME 0,2 % de DU e TA)	122

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Relação dos principais artigos científicos encontrados nas bases de dados, com sua classificação e título	54
Tabela 2- Número de patentes por base de dados	61
Tabela 3- Número de Patentes depositadas por países	61
Tabela 4- Algumas patentes com os fármacos DU ou TA para uso transdérmico	64
Tabela 5- Análise estatística dos resultados das curvas analíticas da Dutasterida 1°Derivada / <i>Ratio-Spectra</i>	88
Tabela 6- Análise estatística dos resultados das curvas analíticas da Tansulosina 1°Derivada/ <i>Ratio-Spectra</i>	89
Tabela 7- Dados da Linearidade dos métodos por Espectrofotometria derivativa	89
Tabela 8- Resultados da Análise de Variância (ANOVA) entre os pontos da curva de calibração da Dutasterida	90
Tabela 9- Resultados da Análise de Variância (ANOVA) entre os pontos da curva de calibração da Tansulosina	90
Tabela 10- Análises estatísticas dos resultados da Dutasterida na exatidão	91
Tabela 11- Análises estatísticas dos resultados da Tansulosina na exatidão	91
Tabela 12- Resultados obtidos para os ensaios de precisão intermediária (precisão inter-corrída)	92
Tabela 13- Resultados obtidos no ensaio de robustez utilizando diferentes parâmetros	93
Tabela 14- Composição quali-quantitativa das microemulsões	102
Tabela 15- Tratamento experimental em ratos machos (<i>Wistar</i>)	105
Tabela 16- Solubilidade da Dutasterida em diferentes Meios	116
Tabela 17- Solubilidade da Tansulosina em diferentes Meios	117
Tabela 18- Teor de DU/TA na microemulsão utilizada na Cinética de Liberação <i>in vitro</i>	117
Tabela 19- Fluxos, coeficiente de correlação e lag time dos Fármacos no modelo de Higuchi	120

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1- Número de artigos científicos com combinação das palavras-chaves <i>Dutasteride</i> e <i>Tamsulosin</i> publicados nas bases de dados	51
Gráfico 2- Evolução temporal dos artigos científicos nas bases de dados pesquisadas no período de 2005-2015	51
Gráfico 3- Classificação dos artigos científicos pesquisados nas bases de dados em relação às temáticas envolvidas	52
Gráfico 4- Distribuição das Patentes depositadas por ano	62
Gráfico 5- Distribuição por Classificação Internacional de Patentes (CIP) dos depósitos de pedidos de patentes encontrados nas bases de dados	63
Gráfico 6- Varreduras da microemulsão sem os fármacos, com os fármacos isolados e com a mistura binária	85
Gráfico 7- Espectro de varredura da Dutasterida em concentrações crescentes (20, 30, 50, 60 e 70 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) na ordem zero	85
Gráfico 8- Espectro de varredura da Dutasterida em concentrações crescentes (20, 30, 50, 60 e 70 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) na <i>1ª Derivada/ Ratio-Spectra</i> indicando o comprimento de onda selecionado	86
Gráfico 9- Espectro de varredura da Tansulosina em concentrações crescentes (20, 30, 50, 60 e 70 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) na ordem zero	86
Gráfico 10- Espectro de varredura da Tansulosina em concentrações crescentes (20, 30, 50, 60 e 70 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) na <i>1ª Derivada/ Ratio-Spectra</i> indicando o comprimento de onda selecionado	87
Gráfico 11- Curva Analítica média da Dutasterida (291,4 nm) <i>1ª Derivada/ Ratio-Spectra</i>	88
Gráfico 12- Curva Analítica média da Tansulosina (264,6 nm) <i>1ª Derivada/ Ratio-Spectra</i>	88
Gráfico 13- Tamanho de gotícula das diferentes microemulsões.	108
Gráfico 14- Relação entre Tensão de Cisalhamento e Taxa de Cisalhamento entre as diferentes Microemulsões sem fármacos	109
Gráfico 15- Relação entre Tensão de Cisalhamento e Taxa de Cisalhamento entre as diferentes Microemulsões com fármacos	109
Gráfico 16- Relação entre Viscosidade e Tensão de Cisalhamento entre as	110

diferentes Microemulsões sem fármacos	
Gráfico 17- Relação entre Viscosidade e Tensão de Cisalhamento entre as diferentes Microemulsões com fármacos	110
Gráfico 18- Valores do pH nas diferentes microemulsões (ME) com e sem Dutasterida e Tansulosina a 0,2% (DUTAN 0,2%)	111
Gráfico 19- Relação entre o teor de água e o pH entre as microemulsões (ME) com e sem Dutasterida e Tansulosina a 0,2% (DUTAN 0,2%)	112
Gráfico 20- Valores da condutividade nas diferentes microemulsões (ME) com e sem Dutasterida e Tansulosina a 0,2% (DUTAN 0,2%)	113
Gráfico 21- Relação entre o teor de água e a condutividade entre as microemulsões (ME) com e sem Dutasterida e Tansulosina a 0,2% (DUTAN 0,2%)	114
Gráfico 22- Valores do índice de refração nas diferentes microemulsões (ME) com e sem Dutasterida e Tansulosina a 0,2% (DUTAN 0,2%)	115
Gráfico 23- Relação entre o teor de água e o índice de refração entre as microemulsões (ME) com e sem Dutasterida e Tansulosina a 0,2% (DUTAN 0,2%)	115
Gráfico 24- Perfil de Liberação <i>in vitro</i> da Dutasterida da microemulsão	118
Gráfico 25- Perfil de Liberação <i>in vitro</i> da Tansulosina da Microemulsão	118
Gráfico 26- Peso da Próstata (g/100g) de ratos Wistar dos grupos experimentais	123
Gráfico 27- Peso da Vesícula Seminal direita (g/100g) de ratos Wistar dos grupos experimentais	123
Gráfico 28- Peso da Vesícula Semina esquerda (g/100g) de ratos Wistar dos grupos experimentais	124

Desenvolvimento tecnológico de nanocarreadores transdérmicos de dose combinada (Tansulosina e Dutasterida) para Hiperplasia Prostática Benigna. SHAYARA LOPES CIRÍACO. Orientador: André Luis Menezes Carvalho. 133f. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Centro de Ciências da Saúde. Departamento de Farmácia, UFPI, 2016.

RESUMO

A Hiperplasia Prostática Benigna é uma doença que acomete o sexo masculino caracterizando-se pelo aumento da próstata e está relacionada com alguns fatores como a idade e a conversão de testosterona em di-hidrotestosterona. Na atualidade há um considerável arsenal terapêutico por via oral, dentre eles destaca-se a terapia combinada de α -bloqueadores (tansulosina) com inibidores da 5α -redutase (dutasterida). O desenvolvimento de sistemas transdérmicos tem promovido interesse crescente nas últimas décadas principalmente para fármacos com baixa biodisponibilidade, com isso a utilização das microemulsões se tornou cada vez mais recorrente, já que apresentam excelente taxa de penetração em camadas profundas do estrato córneo quando comparadas a formulações convencionais, sendo consideradas, portanto, como sistemas terapêuticos nanotecnológicos que apresentam grandes possibilidades de promover a permeação e o direcionamento eficiente de fármacos através da pele. O objetivo desse trabalho foi obter microemulsões da dose combinada de dutasterida e tansulosina além de avaliar a atividade anti-hiperplásica *in vivo*. O estudo perpassou por uma prospecção tanto científica como tecnológica, no qual, pode-se constatar que a maioria das pesquisas envolvendo os fármacos estão concentradas em estudos clínicos, onde estudos tecnológicos mostram baixa expressividade. Houve também, o desenvolvimento e validação de um método analítico de quantificação simultânea dos fármacos pela técnica da espectroscopia derivativa/ *Ratio-Spectra* no UV-VIS que mostrou-se ser linear, exata, precisa e robusta. Já com a obtenção do diagrama pseudoternário (4:1) houve a seleção de quatro formulações de microemulsões para a caracterização físico-química. Após esta análise a melhor formulação foi escolhida para prosseguir para os testes *in vivo*. A avaliação do efeito anti-hiperplásico do carreador microemulsionado através da redução dos órgãos testosterona- dependente (próstata e vesículas seminais) corroborou para o estudo em questão possibilitando então, a obtenção de formulações transdérmicas promissoras para o tratamento da Hiperplasia Prostática Benigna, sendo assim uma alternativa terapêutica aos tratamentos convencionais que são por via oral.

Palavras- Chaves: Dutasterida; Tansulosina; Microemulsão; Próstata; *Ratio-Spectra*

Technological development of transdermal nanocarriers combined dose (Tamsulosin and dutasteride) for Benign Prostatic Hyperplasia. SHAYARA LOPES CIRÍACO. Advisor: Dr. André Luis Menezes Carvalho. 133f. Master's qualification. Post-grad program in Pharmaceutical Sciences. Health Sciences Center. Department of Pharmacy, UFPI, 2016.

ABSTRACT

The Benign Prostatic Hyperplasia is a disease which affects males and is characterized by the prostate enlargement and is related to factors such as the age and the conversion of testosterone to dihydrotestosterone. Nowadays, there is considerable therapeutic arsenal orally, among which there is the combined therapy α -blockers (tamsulosin) with 5 α -reductase inhibitors (dutasteride). The development of transdermal systems have promoted increased interest in recent decades, primarily for drugs with low bioavailability. Thereby, the use of microemulsion became increasingly applicant, since it has excellent penetration into deeper layers of the stratum corneum as compared to conventional formulations, being considered, therefore, as nanotechnological therapeutic systems that has great potential to promote permeation and efficient targeting of drugs through the skin. The aim of this study was to obtain microemulsions of the combined dose of dutasteride and tamsulosin and to evaluate the *in vivo* anti-hyperplastic activity. The study passed by both scientific and technological prospecting, which could be seen that most research involving these drugs are concentrated in clinical studies, while technological studies show low expressiveness. There was also the development and validation of an analytical method for the simultaneous quantification of drugs by the technique of derivative spectroscopy/ UV-VIS Ratio Spectra, which proved to be linear, accurate, precise and robust. With the obtained pseudo-ternary phase diagram (4: 1), there was the selection of four microemulsion formulations for physicochemical characterization. After this analysis the best formulation was chosen to proceed to *in vivo* tests. The evaluation of the anti-hyperplastic effect of the microemulsion carrier by reducing testosterone-dependent organs (prostate and seminal vesicles) corroborated for the study in question enabling then obtaining promising transdermal formulations for the treatment of Benign Prostatic Hyperplasia, therefore, an alternative therapy to conventional treatments that are orally.

Keywords: Dutasteride; Tamsulosin; Microemulsion; Prostate; *Ratio-Spectra*

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

- Obter uma microemulsão contendo os fármacos dutasterida e Tansulosina bem como avaliar sua eficácia em modelos animais de HPB após administração transdérmica.

2.2 ESPECÍFICOS

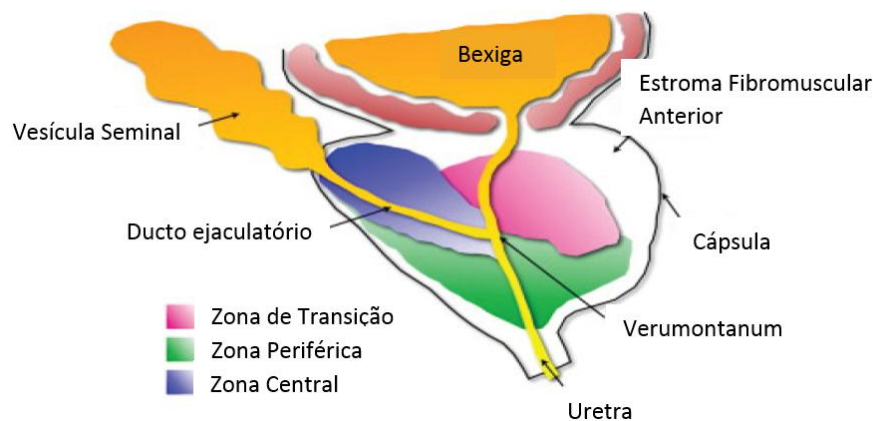
- Realizar uma busca de evidências científicas envolvendo a combinação dos fármacos dutasterida e Tansulosina e realizar uma prospecção tecnológica sobre os fármacos e sua administração transdérmica;
- Obter sistemas microemulsionados para a via transdérmica contendo a combinação dos fármacos dutasterida e Tansulosina;
- Desenvolver e validar um método analítico de quantificação simultânea dos fármacos dutasterida e Tansulosina em uma microemulsão por Derivada/Ratio- spectra no UV-Vis;
- Determinar a solubilidade dos fármacos em diferentes meios solubilizantes;
- Avaliar a liberação dos fármacos da microemulsão através de estudos de cinéticas *in vitro*;
- Realizar a caracterização físico-química das microemulsões obtidas;
- Avaliar o efeito anti-hiperplásico prostático do sistema microemulsionado contendo Dutasterida e Tansulosina.

3) REFERENCIAL TEÓRICO

3.1) ANATOMOFISIOLOGIA DA PRÓSTATA

A próstata humana é composta do epitélio secretor disposto em ácinos glandulares e do estroma fibromuscular composto principalmente de músculo liso. O compartimento também contém fibroblastos, vasos sanguíneos, nervos e componentes imunológicos. Possui três zonas: 1- zona central que contém as junções ducto ejaculatório, enquanto a zona anterior fibromuscular carece de estruturas glandulares, 2- zona periférica que representa aproximadamente 70 % do total de volume prostático, e é onde a maioria das formas de adenocarcinoma da próstata se desenvolvem e a 3- zona de transição que possui apenas 5 % do volume da próstata, é a zona exclusiva, em que a hiperplasia prostática benigna ocorre. A próstata é encerrada dentro de uma fina cápsula externa vascularizada, uma camada de musculatura lisa concêntrica que é contínua com a camada do tecido que rodeia a base da bexiga (MCNEAL, 1981) (Figura 1).

Figura 1- Divisão anatômica da próstata de acordo com a distribuição das zonas anatomofisiológicas



Fonte: Adaptado de Schauer e Rowley (2011)

Funcionalmente, a próstata é uma glândula exócrina reprodutiva que impulsiona uma solução proteolítica complexa composta de fosfatase ácida, ácido cítrico, fibrinolisa, PSA, e de outras enzimas e nutrientes para dentro da uretra durante a ejaculação. As secreções prostáticas expulsas liquefazem a solução seminífera ejetada, a fim de melhorar a motilidade do espermatozóide, bem como alcalinizar o canal vaginal para promover o aumento da viabilidade (MCNEAL, 1981).

3.2) HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA

3.2.1) Correlação entre a HPB e a produção de andrógenos

A hiperplasia prostática benigna (HPB) é um estado não canceroso ou pré-canceroso caracterizado pelo aumento da glândula prostática a partir da hiperplasia progressiva ou crescimento anormal das células do epitélio, estroma e células glandulares (DHIRGRA; BHAGWAT, 2011) (ROEHRBORN, 2012). Na próstata há a enzima 5- α -redutase que converte a testosterona em di-hidrotestosterona (DHT) e esta promove o crescimento excessivo do estroma e das células epiteliais, o que pode, por conseguinte, resultar nesse estado (CARSON; RITTMASER, 2003).

A hiperplasia prostática benigna também vulgarmente chamada de hipertrofia benigna da próstata pode ser descrita clinicamente ou patologicamente. Clinicamente é comumente vista como hiperplasia benigna da próstata, o que contribui para uma série de dificuldades de eliminação da urina que reflete negativamente na qualidade de vida entre os homens mais velhos. HPB patológica é a determinação histológica do quadro não neoplásico da próstata em homens adultos. As autópsias indicam que a prevalência patológica da HPB aumenta acentuadamente após a quarta década e é encontrado em até 90 % dos homens acima de 80 anos. A alta prevalência da HPB em homens mais velhos tem levado a considerar essa hiperplasia como um resultado do envelhecimento (ROEHRBORN, 2011).

A próstata humana consiste em três zonas distintas: central, periférica, e a de transição. Embora o câncer da próstata encontra-se principalmente na zona periférica, quase todos os casos de HPB se desenvolvem na zona de transição. O crescimento macroscópico da zona de transição pode causar o estreitamento da uretra quando ela passa através da próstata, levando a uma obstrução da saída da bexiga, o que pode afetar o fluxo de urina. A HPB e a obstrução da saída da bexiga contribuem para um espectro de problemas de eliminação da urina que podem afetar significativamente a qualidade de vida e são comumente conhecidos como sintomas do trato urinário inferior (STUI) (ROEHRBORN, 2005).

Sabe-se que os andrógenos são essenciais para a manutenção da HPB, mas isso foi demonstrado pela primeira vez no final do século 19 no artigo de Dr. J. William White intitulado “Results of double castration on hypertrophy of the prostate”, que elaborou suas teorias da dependência da próstata com uma fonte de energia então desconhecida dos testículos. Este mesmo pesquisador foi quem postulou que algumas desregulações da função gonadal coincidiram com hipertrofia da próstata como um "resultado da energia mal

direcionada". White apresentou uma série de 111 casos demonstrando que a castração bilateral levou à diminuição do tamanho da próstata e melhora na função urinária em alguns pacientes. O papel essencial dos andrógenos na patologia da próstata foi exemplificado por Huggins e Hodges, que mostraram que a castração era um tratamento eficaz para o câncer de próstata metastático, uma descoberta que fez com que eles dividissem o Prêmio Nobel com Peyton Rous, em 1966. O conceito básico de que os andrógenos são importantes na manutenção da doença da próstata permanece essencial para o padrão de tratamento, tanto para HPB e câncer da próstata (HUGGINS; HODGES, 2002).

Andrógenos e outros hormônios esteróides sexuais são sintetizados a partir do colesterol. A testosterona (T), produzida pelas células de Leydig dos testículos, é o principal andrógeno circulante nos homens, sendo fundamental para a virilização das estruturas do ducto de Wolff, espermatogênese e inibição do feedback da produção de esteróides sexuais eixo hipotálamo-hipófise-testículos. A maioria de T circulante em homens é produzida pelos testículos e menos de 1 % é proveniente do metabolismo dos andrógenos adrenais (VELTRI; RODRIQUEZ, 2007).

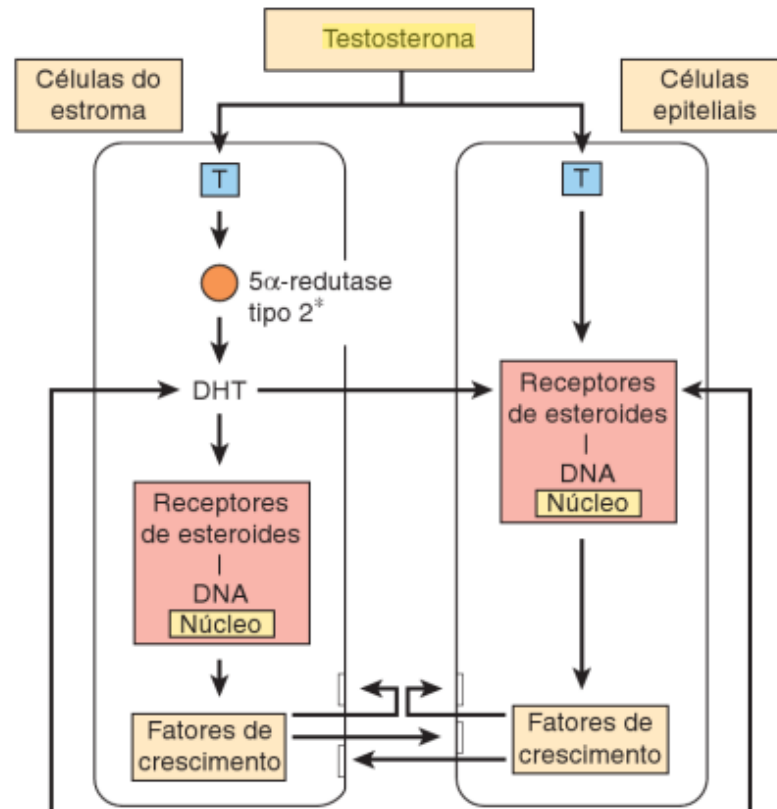
Na próstata, a T é convertida em DHT por meio da enzima 5α -redutase tipo II (Figura 2). A DHT é um metabólito importante da T sendo considerada o andrógeno mais potente nos homens. Durante o desenvolvimento fetal é a DHT que impulsiona a diferenciação do seio urogenital na próstata, com isso é responsável pela virilização dos órgãos genitais externos e das características sexuais secundárias. Como tal, a DHT pode ser o andrógeno da próstata mais importante no desenvolvimento e envelhecimento. Outros importantes andrógenos nos homens incluem desidroepiandrosterona, androstenediona, e 5α -androstenediona, que podem ser convertidos em potentes esteróides sexuais que afetam diretamente a próstata (ROEHRBORN, 2005).

Existem três tipos de 5α -redutases: os tipos I, II, e III; o tipo II é encontrada principalmente em células luminiais prostáticas epiteliais e estromais. Em comparação com T, a DHT tem uma maior afinidade para o receptor androgênico (AR). Na próstata, a interação de DHT com AR, e a subsequente ligação de DHT / AR dimerizada em segmentos específicos no DNA faz com que haja a transcrição de vários genes, resultando na produção de proteínas tais como antígeno específico da próstata (PSA) e proteínas reguladoras importantes para o funcionamento e crescimento celular (KAPOOR, 2012).

A DHT estimula vários fatores de crescimento que levam à proliferação celular na próstata humana, incluindo o fator de crescimento-estimulador de crescimento epidérmico, fator de crescimento de queratinócitos e fatores de crescimento semelhantes à insulina. A

atividade do fator de transformação do crescimento β , que modula a apoptose, também é afetada pela DHT (CARSON; RITTMASER, 2003).

Figura 2- Ação da testosterona nas células estromais e epiteliais da próstata



Fonte: Adaptado de Hammer e Mcphee (2016).

Os sintomas do trato urinário inferior (STUI) bem característicos da HPB são caracterizados por sintomas de armazenamento da bexiga, como noctúria, urgência, aumento da frequência urinária e dificuldade de iniciar o fluxo da urina; diminuição do fluxo urinário e esvaziamento incompleto. Outras causas importantes e contribuintes aos STUI são diminuição na função do músculo detrusor e condições médicas sistêmicas. Ao contrário de épocas anteriores da história do homem, a HPB é agora uma causa direta de mortalidade. Episódios de retenção urinária aguda (dilatação dolorosa da bexiga, com incapacidade de urinar) e noctúria são marcadores clínicos de um risco aumentado de mortalidade que provavelmente representam a alta comorbidade da HPB com outras condições médicas sistêmicas. Tomados em conjunto com alta morbidade e encargos financeiros, a HPB e STUI são questões médicas graves (BARKIN, 2011).

A HPB patológica é caracterizada por crescimento epitelial e estromal que funde em nódulos microscópicos e macroscópicos na glândula da próstata. Quando a zona de transição aumenta macroscopicamente, o crescimento nodular pode impedir o fluxo da urina através da uretra prostática e assim contribuir para os STUI (MCNEAL, 1990).

3.2.2) Epidemiologia

A sintomatologia compatível com a HPB ocorre em 50 % dos homens com idade igual ou maior que 50 anos e em 88 % das autópsias em pacientes com 80 anos. Começando aos 40 anos a prevalência da HPB se agrava em um padrão de incidência de crescimento relacionado com a idade e aumenta em 10 % por década. Cinquenta por cento dos homens podem apresentar os sintomas na faixa de 51-60 anos. Setenta por cento dos homens apresentam a HPB em torno de 70 anos, e a incidência aumenta para 80 % até 85 anos e sabe-se que o volume da zona de transição local de prevalência da HPB pode dobrar até 55-60 anos. Estima-se que 20-30 % dos homens que atingem 80 anos de idade necessitam de intervenção cirúrgica para a gestão da HPB. Só nos EUA há mais de 300 mil cirurgias, a um custo de quase US \$ 4 bilhões, anualmente, com isso percebe-se uma clara necessidade de dirigir os esforços na investigação para uma compreensão de mecanismos específicos que poderiam ser alvo de novas abordagens terapêuticas (SAIGAL; JOYCE, 2005).

Apesar da elevada incidência da HPB na saúde pública, a patogênese está ainda em grande parte por resolver. Com efeito, embora várias teorias tenham sido propostas, a etiologia ainda permanece incerta, em alguns aspectos. Vários mecanismos parecem estar envolvidos no desenvolvimento e progressão de hiperplasia prostática benigna. Embora o envelhecimento represente o mecanismo central implicado, novos estudos destacaram também o papel fundamental das alterações hormonais, síndrome metabólica, e inflamação (ROEHRBORN et al., 2010).

3.2.3) Tratamento

A HPB é uma condição benigna que afeta a qualidade de vida. Muitos dos pacientes que não apresentam os sintomas de retenção urinária são aconselhados a ajustar seu estilo de vida com um efeito benéfico, por exemplo, a redução da ingestão ou moderação de bebidas alcoólicas e café, e isso às vezes, é suficiente para controlar os sintomas (PINHEIRO; PISCO, 2012).

O objetivo do tratamento medicamentoso é aliviar os sintomas urinários secundários referentes ao crescimento da próstata e obstrução. As terapias com os fármacos são úteis para prevenir a retenção urinária ou outras complicações. Em alguns pacientes evitar a retenção urinária ou cirurgia pode ser as metas para a terapia médica moderna. A terapia medicamentosa está dividida em tratamento com antagonistas alfa-adrenérgicos, inibidores da 5- α reDUTANse (I5AR), e fitoterápicos, bem como inibidores da fosfodiesterase, que também têm sido recentemente aprovados (ROEHRBORN et al., 2010).

O padrão do tratamento é com α -bloqueadores, I5AR, cirurgia ou uma combinação dessas classes de fármacos (ROEHRBORN et al., 2011). Drogas que bloqueiam receptores adrenérgicos α -1 são eficazes principalmente pelo bloqueio da contração do músculo liso da próstata, aliviando a obstrução da saída da bexiga (BOO), e levando a um aumento no fluxo de urina. Os receptores adrenérgicos α -1 estão presentes ao longo do músculo liso do trato urinário masculino e, ao nível da medula espinal, gânglios e terminais nervosos, assim são susceptíveis de ter um largo espectro de efeitos favoráveis sobre estes locais extra-prostáticos. Enquanto α - bloqueadores são eficazes por melhorar os sintomas miccionais para muitos pacientes, eles não afetam o crescimento da próstata e, portanto, não diminui o risco de complicações da HPB, tais como retenção urinária aguda e com isso talvez haja a necessidade de intervenção cirúrgica (KAPLAN et al., 2008).

O tratamento hormonal com inibidores da 5- α -reDUTANse bloqueia a conversão de T para a DHT, a próstata diminui e resulta em melhores taxas de fluxo urinário, porém o tratamento padrão-ouro é a ressecção transuretral da próstata, que alivia a obstrução através da remoção de nódulos na zona de transição; no entanto, o mínimo de abordagens cirúrgicas é melhor. Alguns pacientes não respondem bem a esses padrões de atendimento e é difícil prever quais pacientes responderão a um tratamento particular. Assim, continua a existir uma necessidade de avanços e melhorias no tratamento e na prevenção da HPB e STUI com base numa melhor compreensão da sua fisiopatologia (ROEHRBORN et al., 2005).

3.2) FÁRMACOS ANTAGONISTAS α - ADRENÉRGICOS E INIBIDORES DA 5AR

Os antagonistas α -adrenérgicos bloqueiam receptores α -1 e α -2 que estão amplamente distribuídos no músculo liso prostático e com este bloqueio há a sinalização para a redução da constrição da uretra e aumento do fluxo urinário. Os receptores α -2 são pré-sinápticos e regulam a liberação de noradrenalina (feedback negativo) com posterior relaxamento da

musculatura lisa. Os receptores α -1 são pós-sinápticos e são ativados por neurotransmissores (ROEHRBORN et al., 2005).

Receptores α -1 são classificados como α 1A (no músculo liso da próstata), α 1B (artérias e veias) do músculo liso, e α 1D (na bexiga). A eficácia dos bloqueadores α depende da sua afinidade nos diferentes tipos de receptores. O bloqueio dos receptores α 1A melhora a micção; bloqueio de α 1B leva à diminuição da resistência periférica e é responsável pelos efeitos colaterais de hipotensão postural e tonturas; bloqueio de receptores α 1D age contra o enchimento ou sintomas irritativos. Com este conhecimento percebe-se que o bloqueio combinado de ambos receptores α 1A e α 1D fornece os melhores resultados para melhorar os sintomas e fluxo urinário nos pacientes com HPB (TARTER; VAUGHAN, 2006).

Os α -bloqueadores têm sido desenvolvidos no que diz respeito à sua afinidade seletiva para os receptores adrenérgicos com o objetivo de melhorar a eficácia e reduzir os efeitos colaterais. Os urologistas estão prescrevendo os chamados bloqueadores alfa "segunda" e "terceira" geração. Doxazosin e alfuzosin são específicos bloqueadores α 1 com pouca atividade α 2. Eles melhoram sintomas urinários com alguns efeitos secundários vasculares. A ordem de seletividade para receptor de alfa-bloqueadores de segunda geração é α 1A = α 1B = α 1D. Bloqueadores alfa de terceira geração como tansulosina: α 1A = α 1D > α 1B e silodosin: α 1A > α 1D » α 1B são muito seletivos para receptores α 1A na próstata. Com isso, estes devem produzir o melhor efeito urinário com menores efeitos colaterais (NASLUND; MINER, 2007).

A lógica da combinação de bloqueadores 5AR e α adrenérgicos é reduzir o tônus do músculo liso da próstata com bloqueadores alfa (a curto prazo), simultaneamente reduzindo o volume prostático com medicamentos I5AR (a longo prazo) (GREGO; MCVARY, 2008).

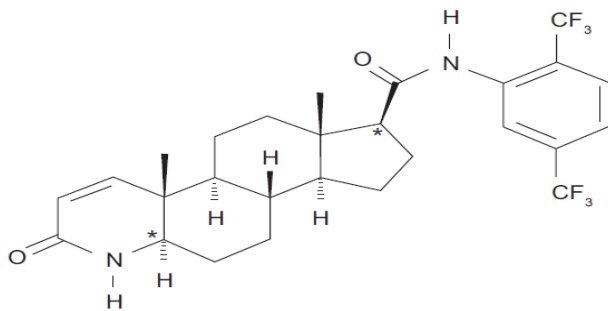
Os I5AR (ou seja a finasterida e DUTANsterida) inibem enzima 5-alfa reDUTANse, em última análise, reduzindo os níveis de di-hidrotestosterona na próstata e prevenindo assim o crescimento da próstata. Esses inibidores ajudam a diminuir a próstata aumentada, e com isso são mais eficazes na redução dos sintomas em homens com próstatas muito grandes (NASLUND; MINER, 2007).

3.2.1) Características físico-químicas e Farmacocinéticas

3.2.1.1) Dutasterida e Tansulosina

A dutasterida (5 α , 17 β) -N- {2,5 bis (trifluorometil) fenil} -3oxo-4-aza-androst-1-eno-17-carboxamida) (figura 3) é um potente inibidor de tipos 5 α -redutase 1 e 2 (ROEHRBORN et al., 2012) que apresenta efeitos aparentemente semelhantes à finasterida, quando se compara os resultados na diminuição do volume prostático, diminuição dos sintomas e melhora do fluxo urinário. É prescrito como uma terapia oral uma vez por dia para o tratamento de sintomas moderados a graves da hiperplasia prostática benigna. Apesar dos seus efeitos farmacológicos atraentes, a absorção da DU é bastante desafiada pela sua solubilidade aquosa pobre, que é de 0,038 ng / mL em água a 25 °C e a biodisponibilidade oral do produto comercializado, formulado com monoglicéridos ediglicéridos de ácido caprílico / cáprico, é ainda insatisfatória, em cerca de 40-60% em humanos e sua concentração máxima no soro é alcançada após 2 a 3 horas (LEE et al., 2015).

Figura 3- Estrutura química da Dutasterida.



Fonte: Miller e Tarter (2009).

O tempo para o estado estacionário é dependente da dose, numa dose de 0,5 mg/dia é de aproximadamente 3 meses. Mais de 99,5% do fármaco na circulação está ligado às proteínas plasmáticas, e tem um volume de distribuição de 300 a 500 L. A depuração é linear em 0,58 L / hora, resultando numa meia-vida de até 5 semanas (MILLER; TARTER, 2009).

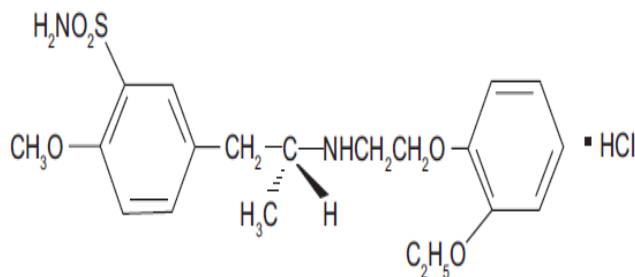
A Dutasterida é detectável (maior do que 0,1 ng / mL) no soro de 4- 6 meses após a descontinuação do tratamento, é extensivamente metabolizada pelo citocromo-P3A4 no fígado e é excretada principalmente nas fezes. Apenas pequenas quantidades são excretadas na urina. O metabólito, 6 β -hidroxidutasterida, tem atividade farmacológica comparável à dutasterida. O cuidado deve existir principalmente quando a administração do fármaco é feita em pacientes com insuficiência hepática e naqueles que administram drogas que inibem o

citocromo-P3A4 (verapamil, diltiazem e ritonavir) porque a farmacocinética e os efeitos podem ser alterados (BRAMSON, 1997).

Em alguns estudos foram observados que não há diferença significativa na segurança e eficácia entre pacientes mais velhos e mais jovens, dessa forma não necessitando de reajustes de dose (GOMELLA, 2005).

Já o cloridrato de tansulosina é um pó branco a quase branco que funde com decomposição a aproximadamente 230 °C. Quimicamente é (-) - (R) -5-[2-[[2-(o-Etoxifenoxi) etil] amino] propil]-2-metoxibenzenossulfonamida, de fórmula molecular $C_{20}H_{28}N_2O_5S \cdot HCl$ (Figura 4) e de peso molecular 445 g/mol. É moderadamente solúvel em água e metanol, ligeiramente solúvel em ácido acético glacial e etanol e praticamente insolúvel em éter (BRITISH PHARMACOPOEIA, 2011).

Figura 4- Estrutura química do Cloridrato de Tansulosina.



Fonte: Miller e Tarter (2009).

O tempo para atingir a concentração máxima após a administração oral é de 4 a 5 horas em jejum e 6-7 horas quando é administrada após as refeições. A administração da tansulosina em condições de jejum resulta em um aumento de 40% para 70% nas concentrações de pico em comparação com a mesma dosagem administrada com alimentos. O tempo de estado estacionário é de cerca de 5 dias. Mais de 94% de tansulosina está ligado às proteínas plasmáticas circulantes e a droga tem um volume de distribuição de 16 L. Possui meia-vida de 9-15 horas (MILLER; TARTER, 2009).

A tansulosina é extensivamente metabolizada pelo citocromo P3A4 e P2D6 no fígado e é principalmente excretada na urina (76%) com uma fração menor excretada nas fezes (21%). Os metabólitos são extensivamente conjugados com glucuronido ou sulfato antes da excreção renal. O ajuste da dose não é necessário em pacientes com insuficiência renal e com ligeira a grave insuficiência renal ou leve a moderada disfunção hepática (MILLER; TARTER, 2009).

3.3) VIAS DE ADMINISTRAÇÃO TRANSDÉRMICA

As vias de administração de fármacos mais comuns são as vias: oral, nasal, retal, parenteral, ocular e auricular. Os intervalos de administração por estas vias podem ser um empecilho e, alguns fármacos, quando administrados por via oral, podem ser inativados ou neutralizados no estômago, intestino ou fígado antes de alcançarem a via sistêmica. Com isso, a baixa biodisponibilidade do fármaco no local de ação, necessita de uma administração de doses maiores para garantir a sua eficácia, aumentando assim o risco de efeitos secundários (SAWAMURA; FRANCO, 2004).

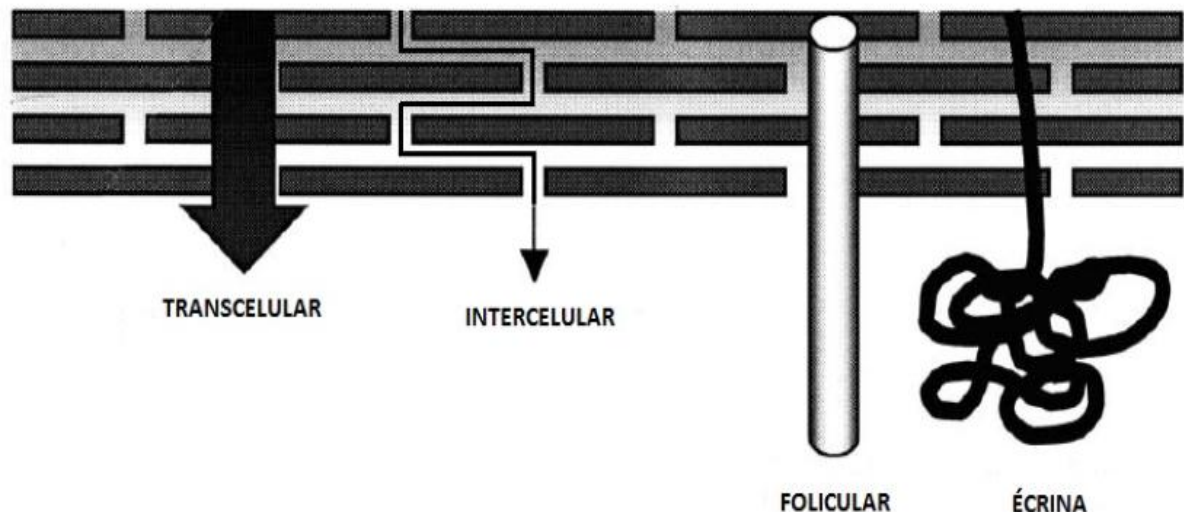
Devido às limitações provenientes destas vias, foram desenvolvidos novos sistemas de veiculação de fármacos, tais como os lipossomas, as microcápsulas, as microemulsões como sistemas transdérmicos, que permitem manter o nível plasmático do fármaco dentro da janela terapêutica por um maior período de tempo. Sabe-se que os fármacos incorporados nesses sistemas transdérmicos, quando aplicados sobre a pele atravessam várias camadas da mesma e atingem a corrente sanguínea numa velocidade constante, durante um período de tempo maior, com isso permitem a liberação controlada e prolongada das substâncias ativas, sem que para isso seja necessário o uso dos fármacos pela via parenteral e haver a sensação dolorosa da sua administração (SAWAMURA; FRANCO, 2004; SPERNATH; ASERIN, 2006).

Com isso as vantagens da via transdérmica de administração são: diminuir as variações plasmáticas de fármaco; diminuir a frequência de administração; anular a variabilidade da absorção oral; anular o metabolismo pré-sistêmico; possibilidade imediata de interromper a administração e constituir-se em boa alternativa à via intravenosa, no entanto algumas características o fármaco deve satisfazer para torna-se uma candidata viável para a liberação transdérmica que são: um peso molecular pequeno entre 400-500 daltons, um balanço lipofílico ideal entre 2 e 3 e uma solubilidade mensurável tanto em um meio lipofílico, como hidrofílico já que a liberação transdérmica envolve uma permeação pelo estrato córneo (lipofílico) e uma reabsorção no meio aquoso do sistema circulatório (MARTINS; VEIGA, 2002; KOGAN; GARTI, 2006).

A pele não é apenas o maior órgão humano, mas também uma excelente barreira biológica. Apesar de normalmente possuir uma espessura inferior a ≤ 2 mm, a pele contribui com cerca de 4% do peso corporal e é 102-104 vezes menos permeável do que uma parede dos vasos sanguíneos. A parte mais externa da pele é a epiderme e a sua subcamada mais externa é o estrato córneo que representa a primeira barreira da pele à difusão. A excelência deste obstáculo é reforçada com a presença de lipídios e proteínas (CEVC; VIERL, 2010).

Existem algumas rotas pelas quais uma molécula pode atravessar o estrato córneo que são: intercelular, transcelular e via apêndices da pele ou apendicular através das glândulas écrinas- suor ou glândulas foliculos pilosos (Figura 5). Em condições normais o percurso apendicular não é muito significativo, em parte, isto é devido a baixa área de superfície ocupada pelos apêndices (HADGRAFT, 2001), porém, alguns pesquisadores apontam a importância da rota apendicular na fase inicial da difusão, sendo esta contribuição subestimada muitas vezes. Esta via pode ser de grande interesse para fármacos usados no tratamento de doenças de pele relacionadas com a área folicular (BRONAUGH; MAIBACH, 2005).

Figura 5- Representação esquemática da pele com suas vias de penetração.



Fonte: Adaptado de Hadgraft (2001).

As células do estrato córneo ligam-se umas às outras por uma espécie de “cimento” rico em lipídeos dispostos em bicamadas. Por isso, a via intercelular representa uma boa via de acesso para as substâncias com características apolares (PRISTA et al., 2008). Já na via transcelular o fármaco passa diretamente através dos corneócitos e da matriz lipídica intercelular intermediária, por ser também uma barreira hidrofílica é a via de acesso para pequenas moléculas hidrofílicas. Para eletrólitos e moléculas grandes com baixo coeficiente de difusão, como esteróides apolares e antibióticos, e algumas partículas coloidais, os apêndices podem funcionar como a principal entrada (BARRY, 2005).

3.4) MICROEMULSÕES COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO TRANSDÉRMICA

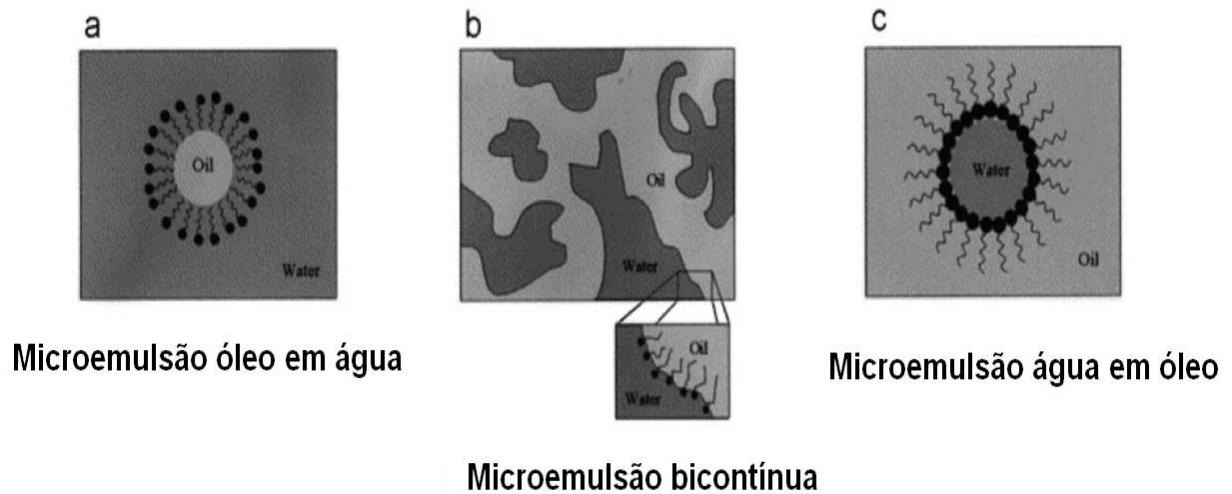
O conceito de microemulsão (ME) foi introduzido em 1940 por Hoar e Schulman que geraram uma solução monofásica clara por titulação de uma emulsão leitosa com hexanol. Posteriormente, o termo microemulsão foi evidenciado e desde então tem sido definido e, na verdade redefinido em muitas ocasiões. A definição proposta por Danielsson e Lindman, em 1981, é uma das mais utilizadas, na qual, a microemulsão é conceituada como um sistema de água, óleo e tensoativo, monofásica opticamente isotrópica e termodinamicamente estável na forma de uma solução líquida (LAWRENCE; REES, 2000; KOGAN; GARTI, 2006).

Na prática, as diferenças fundamentais entre emulsões e microemulsões são que as primeiras, apesar de poderem apresentar uma excelente estabilidade cinética, são termodinamicamente instáveis e, eventualmente, podem separar fases. Outra diferença importante diz respeito à sua aparência; emulsões são opacas enquanto microemulsões são claras ou translúcidas. Além disso, existem diferenças distintas no seu método de preparação, uma vez que as emulsões exigem um grande fornecimento de energia, enquanto as microemulsões não necessitam (formação quase espontânea). Este último ponto tem implicações óbvias quando se considera o custo relativo de produção comercial dos dois tipos de sistema (ABOOFAZELI; BARLOW; LAWRENCE, 2000; FANUN, 2012).

As microemulsões podem ser administradas por via oral, por via tópica sobre a pele, ou por via nasal, como um aerossol para entrada direta nos pulmões. Devido ao seu comportamento de fase bastante complicado e por possuir microestruturas fascinantes, muitos pesquisadores têm feito esforços significativos para obter uma melhor compreensão principalmente das suas microestruturas (WARISNOICHAROEN; LANSLEY; LAWRENCE, 2000).

A figura 6 mostra as representações esquemáticas de três tipos de microemulsões que são mais susceptíveis de serem formados, dependendo da sua composição. As três estruturas apresentadas são bastante diferentes, em cada uma há uma monocamada de tensoativo interfacial que separa as fases oleosa e aquosa. Nas ME óleo em água (o/a) e água em óleo (a/o), as gotículas são representadas como esferas, enquanto nas microemulsões bicontínuas podem ter formas assimétricas e, com frequência, adotam a forma de um elipsóide alongada. A presença de gotículas o/a é uma característica em microemulsões em que a fração de volume de óleo é baixa. Por outro lado, as gotículas a/o são prováveis quando a fração de volume de água é baixa, já em sistemas em que as quantidades de água e óleo são semelhantes, pode resultar em uma ME bicontínua (LAWRENCE; REES, 2000).

Figura 6- Representação esquemática das microestruturas de uma microemulsão.



Fonte: Adaptado de Lawrence e Rees (2000).

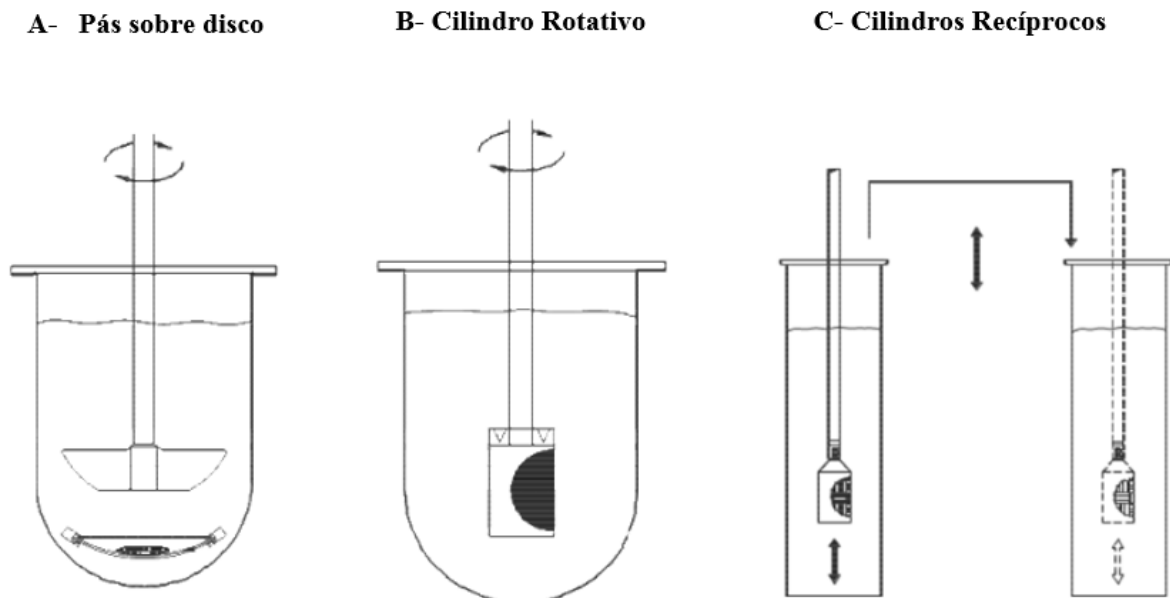
Sabe-se que a pele é uma barreira para a penetração de substâncias, deixando passar apenas algumas substâncias e em determinadas condições. Devido à presença de substâncias tensoativas em sua composição as ME podem interagir com o estrato córneo desestruturando a bicamada lipídica do mesmo. Dessa forma, os lipídios da pele passam de uma forma ordenada para uma forma desordenada, com isso a permeabilidade cutânea é aumentada e a penetração de substâncias, que normalmente não passariam através dessa barreira, fica bastante facilitada (OLIVEIRA et al., 2004).

Para acontecer a permeação cutânea primeiramente os fármacos devem ser liberados do sistema. Com isso, o teste *in vitro* de liberação de fármacos é muito importante na indústria farmacêutica, tanto no desenvolvimento de produtos como no controle de qualidade de rotina. Inicialmente essa metodologia foi desenvolvida para formas farmacêuticas sólidas, entretanto é aplicada também para formas farmacêuticas não sólidas, como suspensão, adesivos transdérmicos, supositórios e outros. De uma forma geral a liberação de fármacos pode ser definida como o processo pelo qual um fármaco é liberado de sua forma farmacêutica e se torna disponível para ser absorvido pelo organismo (CHOWDARY; RAJYALAKSHMI, 1987; MARCOLONGO, 2003).

Nos primeiros estágios do desenvolvimento farmacotécnico o teste de liberação *in vitro* é importante para identificar variáveis críticas na produção, escolher entre diferentes formulações, otimizá-las e fazer avaliações de risco, como no caso de formas farmacêuticas de liberação modificada (MARCOLONGO, 2003).

As primeiras metodologias descritas no ano de 1970, na Farmacopéia Americana (Edição XVIII) e posteriormente em 1975 (Edição de XIX) recomenda dois aparelhos de liberação para forma farmacêutica sólida, aparato 1 (cesta) e aparato 2 (pás) que são até hoje os equipamentos mais utilizados. Em 1990, a Farmacopéia Americana (Edição XXII) descreve três aparelhos para a liberação de formas farmacêuticas transdérmicas: aparato de pás sobre disco, aparato cilindro rotatório e aparato de suporte cilíndrico recíproco (Figura 7) (SHAH; VINOD; ROGER, 1999).

Figura 7- Demonstração esquemática dos aparatos descritos na Farmacopéia Americana



Fonte: Adaptado da Farmacopéia Americana- USP 29 (2006).

No aparato da pá há um disco de aço inoxidável para fixação do sistema transdérmico no fundo da cuba. O disco deve manter o sistema transdérmico esticado paralelamente a pá, com a superfície de liberação do fármaco voltada para cima. O pH do meio de dissolução deve estar entre 5,0 e 6,0 para refletir as condições da pele, a mesma razão para utilização da temperatura em $32^{\circ}\text{C} (\pm 0,5)$ e a agitação considerada adequada é em torno de 50 a 100 rpm (SIEWERT et al.,2003).

O cilindro rotatório é também descrito pelas Farmacopéias Britânica e Européia, na qual a haste com a pá é substituída por um cilíndrico rotatório onde é colocado, na sua parte externa, a forma farmacêutica (USP 29, 2006). O outro aparato é o suporte recíproco que

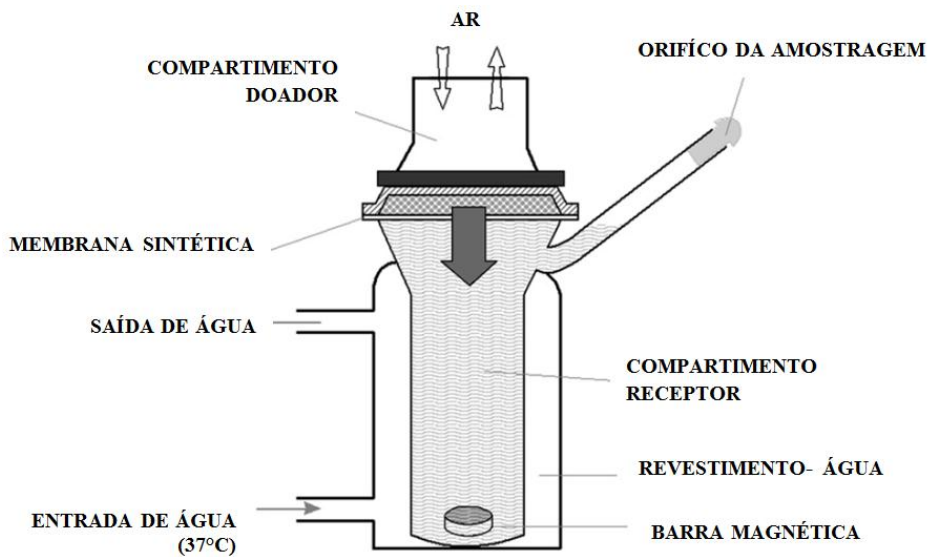
utiliza um sistema similar ao dos cilindros recíprocos com modificações para colocação dos sistemas transdérmicos (SIEWERT et al., 2003).

Com o tempo houve a evolução do número de monografias na Farmacopéia Americana, por exemplo, em 1970 apresentava testes de liberação de fármacos em apenas 12 monografias, todas para a forma farmacêutica sólida. Esse número foi alterado para 462 em 1990, 630 em 2002 e aproximadamente 787 em 2006, sendo apenas 02 para sistema transdérmico (clonidina e nicotina) (USP 29, 2006). Já a Farmacopéia Brasileira apresenta aproximadamente 116 monografias com ensaios de liberação de fármacos, todas para forma farmacêutica sólida.

A literatura científica descreve métodos *in vitro* que mimetizam o processo de liberação e penetração transdérmicas *in vivo* com e sem membranas (artificiais ou biológicas) e diferentes tipos de células de difusão das quais a Vertical Diffusion Cell (VDC) de Franz em sistema estático e fluxo contínuo, tem sido a mais empregada no desenvolvimento farmacotécnico, caracterização biofarmacêutica e controle de qualidade, tanto para adesivos transdérmicos como para formas farmacêuticas semi-sólidas (SIEWERT et al., 2003).

A célula de difusão de Franz (Figura 8) é constituída por dois compartimentos: doador e receptor separados por uma membrana. O compartimento doador contém a formulação e o compartimento receptor o meio que solubiliza o composto ou fármaco estudado. Para experiências de liberação, as membranas artificiais são normalmente usadas para separar o compartimento doador e o receptor. A membrana deve permitir que o fármaco possa ultrapassá-la para solubilizar-se prontamente no meio a medida que é liberado da formulação. O meio deve ser misturado para assegurar a uniformidade da difusão e a homogeneidade da concentração. A difusão é dependente da temperatura, assim, o meio deve ser mantido a uma temperatura constante e ao realizar o experimento, as amostras são coletadas no orifício da célula de difusão (KLIMUNDOVÁ et al., 2006).

Figura 8- Esquema da Célula de Difusão tipo Franz



Fonte: Adaptado Bonina et al. (2008)

3.5) TÉCNICAS DE QUANTIFICAÇÃO SIMULTÂNEA DE FÁRMACOS

A espectroscopia derivativa no UV-Vis (ED-UV) surgiu na década de 50, para resolver análises de sistemas em que diferentes analitos absorvem em faixas muito próximas, com a finalidade de obter a estrutura das bandas espectrais estreitas. Esta técnica consiste na representação gráfica do quociente diferencial, por exemplo, $dA/d\lambda$ para a primeira derivada, $d^2A/d\lambda^2$ para segunda derivada em um determinado intervalo de comprimento de onda (TORAL; ORELLANA; SALDIAS, 2009).

A ED-UV está se tornando cada vez mais corriqueira, contribuindo como uma ferramenta importante no controle de qualidade de medicamentos para a determinação simultânea de fármacos em sistemas com multicomponentes. Essa metodologia oferece uma alternativa para melhorar a sensibilidade e a seletividade na análise de misturas. O aumento da seletividade deve-se à separação das bandas sobrepostas, enquanto o aumento da sensibilidade é devido à amplificação do sinal da derivada e à diminuição do ruído (DONATO et al., 2010).

É uma metodologia simples, rápida, evita a sobreposição de bandas espectrais, e apresenta-se como ferramenta útil nas análises de fármacos associados em formas farmacêuticas, sem a necessidade de separação prévia dos constituintes da formulação (PASCHOAL et al., 2003; DONATO et al., 2010; TAVARES et al., 2011). Existem inúmeros trabalhos que recorrem a essa técnica como o estudo de Hasan et al., 2003 na quantificação do aceclofenaco na terceira derivada na presença do seu produto de degradação; de Ragno et al.,

2002 na quantificação da amlodipina (anlodipino) em meio o seu produto de degradação; já o de Gorger; Gokcen, 1999 mostra a quantificação do miconazol na segunda derivada em cremes contendo ácido benzóico.

Essa técnica consiste na transformação do espectro normal por derivação. Os espectros derivados são obtidos utilizando-se apenas as informações contidas no espectro clássico ou de ordem zero. Deste modo, a derivação não aumenta o conteúdo de informações, o que acontece é a supressão das bandas mais largas e realce das bandas estreitas, individualizando melhor os constituintes da mistura e eliminando a interferência dos produtos indesejáveis como excipientes e produtos de degradação (PASCHOAL et al., 2003; DONATO et al., 2010).

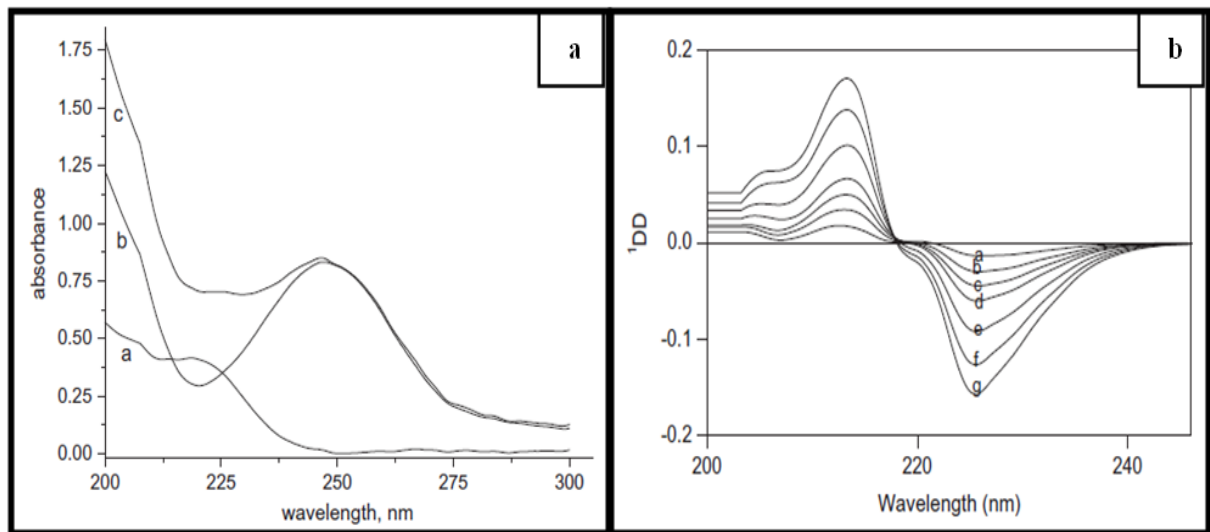
Diversas técnicas ou métodos de derivadas são encontrados na literatura para determinação de fármacos associados: zero pico, ponto de anulação (*zero crossing*), derivada da razão do espectro (*ratio-spectra*), calibração multivariada, dentre outras (DONATO et al., 2010).

As vantagens do método de *ratio-spectra* em relação ao método por derivada *zero-crossing*, é a possibilidade da realização de medições em correspondência com picos, de modo que permite o uso do comprimento de onda de valor mais alto dos sinais analíticos (máximos ou mínimos), assim, um potencial maior de sensibilidade e precisão, também não há a necessidade de trabalhar apenas em pontos de anulação, como no caso do *zero-crossing* (ISSA; ZAYED; HABIB, 2011).

Em 1990, Salinas e colaboradores introduziram a técnica de derivada da razão do espectro (*ratio-spectra*). A base matemática desta metodologia é que, se o espectro de uma mistura de dois componentes contendo os compostos A e B é dividido pelo espectro de uma solução, por exemplo, de A, o espectro resultante é rácio de B. Se a primeira derivada desta razão do espectro é então determinada, a amplitude dos sinais obtidos mostrada é proporcional à concentração de B na solução da mistura. Utilizando-se um procedimento semelhante, mas com uma solução de B como divisor, pode proporcionar dados sobre a concentração de A (MAHGOUB et al., 2003).

Vários estudos foram realizados utilizando tal técnica como o trabalho de Issa; Zayed; Habib, 2011 que fazem a determinação simultânea de ibuprofeno e paracetamol por *ratio-spectra*, no qual abaixo (Figura 9) estão as varreduras dos fármacos na ordem zero e na derivada/*ratio-spectra* da solução de ibuprofeno tendo como o divisor a solução de paracetamol, na qual observa-se a necessidade da utilização dessa técnica de quantificação simultânea, já que os dois fármacos se sobrepõem e é necessário a escolha de um pico mínimo para fazer a quantificação do ibuprofeno.

Figura 9- Varreduras dos Fármacos Ibuprofeno e Paracetamol através da ordem zero e na derivada/ *ratio spectra*



Legenda: à esquerda (a)- varreduras na ordem zero de a- ibuprofeno, b- paracetamol, c- mistura dos dois fármacos; à direita (b) 1º derivada/*ratio-spectra* da solução de ibuprofeno.

Fonte: Adaptado de Issa; Zayed e Habib (2011).

Para garantir que as características de desempenho de um método de quantificação sejam entendidas e para demonstrar que o método seja cientificamente coerente, são necessárias verificações. Essas verificações são conhecidas como validação. A validação de um método estabelece, através de estudos sistemáticos de laboratório, que o método é adequado à finalidade, isto é, se suas características de desempenho são capazes de produzir resultados correspondentes às necessidades do problema analítico (BRASIL, 2005).

As considerações contidas na Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária apresentam as características a serem observadas durante a validação de procedimentos analíticos. A validação deve garantir, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. Para tanto, deve apresentar especificidade, linearidade, precisão, sensibilidade, limite de quantificação e detecção, e exatidão adequados à análise (BRASIL, 2003).

REFERÊNCIAS

- ABOOFAZELI, R.; BARLOW, D.J., LAWRENCE, M.J. Particle size analysis of concentrated phospholipid microemulsions. I. Total intensity light scattering. **AAPS Pharm. Sci.**, n. 2, p. 449–470, 2000.
- BARKIN, J. Review of DUTANsteride/tamsulosin fixed-dose combination for the treatment of benign prostatic hyperplasia: Efficacy, safety, and patient acceptability **Patient Prefer Adherence**, v.5, p. 483-490, 2011.
- BARRY, B. W. Liberação transdérmica de fármacos. In: AULTON M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2° ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- BONINA, F. P.; GIANNOSSI, M. L.; MEDICI, L.; PUGLIA, C.; SUMMA, V.; TATEO, F. Diclofenac-hydrotalcite: In vitro and in vivo release experiments. **App Clay Science**, v. 41, p. 165–171, 2008.
- BRASIL. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RE nº 899 de 29/05/2003**. Dispõe sobre: Guia para validação de métodos analíticos e bionalíticos. Ministério da Saúde: Brasil, 2003.
- BRASIL. ANVISA. **Guia para Qualidade em Química Analítica**: uma assistência à habilitação. Brasília: Senai/DN, 2005.
- BRAMSON, H.N.; HERMANN, D; BATCHELOR, K.W.; LEE, F.W.; JAMES, M.K.; FRYE, S.V.. Unique preclinical characteristics of GG745, a potent dual inhibitor of 5AR. **J Pharmacol Exp Ther**, v.282, p. 1946-1502, 1997.
- BRITISH PHARMACOPOEIA. **The Stationary Office**: Pharmacopoeia Comission British, 2011.
- BRONAUGH, R. L.; MAIBACH, H. I. **Percutaneous absorption: Drugs-Cosmetics-Mechanisms-Methodology**. 4° ed. Boca Raton: Taylor e Francis Group, 2005.
- CARSON, C.; RITTMASER, R. The role of dihydrotestosterone in benign prostatic hyperplasia. **Urology**, v. 61, p. 2-7, 2003.
- CEVC, G.; VIERL, U. Nanotechnology and the transdermal route: A state of the art review and critical appraisal. **J Control Release**, v. 141, n. 3, p. 277-299, 2010.
- CHOWDARY, K.P.R.; RAJYALAKSHMI, Y. Dissolution rate in modern pharmacy. **East Pharm. New Delhi**, v. 30, n. 350, p. 51-54, 1987.
- DHIRGRA, N., BHAGWAT, D. Benign prostatic hyperplasia: an overview of existing treatment. **Indian J Pharmacol**, v. 43, p. 6-12, 2011.

DONATO, E. M., CANEDO, N.A.P.; ADAMS, A.I.H.; FRÖEHLICH, P.E.; BERGOLD, A.M. Espectrofotometria derivada: uma contribuição prática para o desenvolvimento de métodos. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 31, n. 2, p. 125-130, 2010.

FANUN, M. Microemulsions as delivery systems. **Curr. Opin. Colloid Interface Sci.**, v. 17, p. 306–313, 2012.

GOGER, N.G.; GOKCEN, L. Quantitative Determination of Miconazole in Creams by Second Order Derivative Spectrophotometry. **Anal. Lett.**, v. 32, p. 2595–2602, 1999.

GOMELLA, L. G. Chemoprevention using DUTANsteride: The Reduce Trial. **Curr Opin Urol.**, v. 15, p. 29-32, 2005.

GREGO, K.A.; MCVARY, K. T. The role of combination medical therapy in benign prostatic hyperplasia. **Int J Impot Res**, v. 20, p. S33- S43, 2008.

HADGRAFT, J. Skin, the final frontier. **Int J Pharm**, v. 224, p. 1–18, 2001.

HAMMER, G.D.; MCPHEE, S.J. **Fisiopatologia da doença**: uma introdução à medicina clínica. 7 ed. Porto Alegre: AMGH, 2016.

HASAN, N.Y.; ABDEL-ELKAWY, M.; ELZEANY, B.E.; WAGIEH, N.E. Stability indicating methods for the determination of aceclofenac. **II Farmaco**. v. 58, n. 2, p. 91-99, 2003.

HUGGINS, C.; HODGES, C. V. Studies on prostatic cancer. I. The effect of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. 1941. **J Urol.**, v. 167, p. 948-951, 2002.

ISSA, Y. M.; ZAYED, I. M. Z.; HABIB, I. H. I. Simultaneous determination of ibuprofen and paracetamol using derivatives of the ratio spectra method. **Arabian J Chem.**, v. 4, p. 259-263, 2011.

KAPLAN, S.A., ROEHBORN, C.G.; MCCONNELL, J.D.; MEEHAN, A.G.; SURYNWANSKI, S.; LEE, J.Y.; ROTONDA, J.; KUSEK, J.W.; JUNIOR NYBERG, L.M.. Long-term treatment with finasteride results in a clinically significant reduction in total prostate volume compared to placebo over the full range of baseline prostate sizes in men enrolled in the MTOPS trial. **J Urol**, v. 180, n. 3, p. 1030-1032, 2008.

KAPOOR, A. Benign prostatic hyperplasia (BPH) management in the primary care setting. **Can J Urol**, v. 19, p. 10-17, 2012.

KLIMUNDOVÁ, J.; SATINSKÝ, D.; SKLENAROVÁ, H.; SOLICH, P. Automation of simultaneous release tests of two substances by sequential injection chromatography coupled with Franz cell. **Talanta**, v. 69, p. 730–735, 2006.

KOGAN, A.; GARTI, N. Microemulsions as transdermal drug delivery vehicles. **Adv. Colloid Interface Sci.**, v. 123–126, p. 369–385, 2006.

LAWRENCE, M. J.; REES, G. D. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. **Adv Drug Deliver Reviews**, v. 45, n.1, p. 89-121, 2000.

LEE, D. H. YEOM, D.W.; SONG, Y.S.; CHO, H.R.; CHOI, Y.S.; KANG, M.J.; CHOI, Y.W. Improved oral absorption of Dutasteride via Soluplus®-based supersaturable self-emulsifying drug delivery system (S-SEDDS). **Int J Pharm**, v. 478, p. 341–347, 2015.

LEE, P.J.; LANGER, R.; SHASTRI, V.P. Novel microemulsion enhancer formulation for simultaneous transdermal delivery of hydrophilic and hydrophobic drugs. **Pharm Res.**, v. 20, p. 264-269, 2003.

MAHGOUB, H.; GAZY, A.A.; EL-YAZBI, F.A.; EL-SAYED, M.A.; YOUSSEF, R.M. Spectrophotometric determination of binary mixtures of pseudoephedrine with some histamine H-1-receptor antagonists using derivative ratio spectrum method. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 31, p. 801-809, 2003.

MARTINS, M. R. F. M.; VEIGA, F. Promotores de permeação para a liberação transdérmica de fármacos: uma nova aplicação para as ciclodextrinas. **Rev Bras Ciênc Farm**, v. 38, n.1, p. 33-54, 2002.

MARCOLONGO, R. **Dissolução de medicamentos: fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectivas na área farmacêutica**. 117 p. Dissertação - (Mestrado em Fármaco e Medicamentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

MILLER, J.; TARTER, T. H. Combination therapy with Dutasteride and tamsulosin for the treatment of symptomatic enlarged prostate. **Clin Interv Aging**, v. 4, p. 251-258, 2009.

MCNEAL, J.E. The zonal anatomy of the prostate. **Prostate**, v. 2, n. 1, p. 35–49, 1981.

MCNEAL, J. Pathology of benign prostatic hyperplasia. Insight into etiology. **Urol Clin North Am.**, v. 17, n. 3, p 477–486, 1990.

NAPALKOV, P.; MAISONNEUVE, P.; BOYLE, P. Worldwide patterns of prevalence and mortality from benign prostatic hyperplasia. **Urology**, v. 46, p. 41-26, 1985.

NASLUND, M. J.; MINER, M. A review of the clinical efficacy and safety of 5 α -reductase inhibitors for the enlarged prostate. **Clin Ther**, v. 29, n. 1, p. 17-25, 2007.

OLIVEIRA, A. G.; SCARPA, M.G.; CORREA, M.A.; CERA, L.F.R.; FORMARIZ, T.P. Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos. **Quím. Nova**, v.27, n. 1, p. 131-138, 2004.

PASCHOAL, L. R.; FERREIRA, W.A.; PRADO, M.R.D.; VILELA, A.P.O. Aplicação do método da espectrofotometria de derivadas na identificação e doseamento simultâneo de sistemas multicomponentes. **Rev Bras Ciênc Farm**, v. 39, n. 1, p. 105-1013, 2003.

PINHEIRO, C. L.; PISCO, J. M. Treatment of Benign Prostatic Hyperplasia. **Tech Vasc Interv Radiol**, n. 182, p. 256-260, 2012.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R.; LOBO, J. S. **Tecnologia Farmacêutica**, 6^oed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2008.

RAGNO, G.; GAROFALO, A.; VETUSCHI, C. Photodegradation monitoring of amlodipine by derivative spectrophotometry. **J Pharm Biomed Anal.**, v.27, n. 1-2, p. 19-24, 2002.

REIS, R. B.; COLOGNA, A.J.; MARTINS, A.C.P.; PASCHOALIN, E.L.; JUNIOR-TUCCI, S.; SUAID, H.J. Incontinência urinária no idoso. **Acta Cir Bras**, v. 18, 2003. Supplementun 5.

ROEHBORN, C. G. Benign prostatic hyperplasia: an overview. **Rev Urology**, v. 9, n. 7, p. S3-S14, 2005.

ROEHRBORN C. G.; SIAMI, P.; BARKIN, J.; DAMIÃO, R.; MAJOR-WALKER K.; NANDY, I.; MORRILL, B.B.; GAGNIER, R.P.; MONTORSI, F. The effects of combination therapy with Dutasteride and tamsulosin on clinical outcomes in men with symptomatic benign prostatic hyperplasia: 4 year results from the CombAT study. **Eur Urol**, v. 57, p. 123-131, 2010.

ROEHRBORN, C.G. ANDRIOLE, G.L.; WILSON, T.H.; CASTRO. R; RITTMASER, R.S. Effect of DUTANsteride on prostate biopsy rates and the diagnosis of prostate cancer in men with lower urinary tract symptoms and enlarged prostates in the combination of avodart and tamsulosin Trial. **International Braz J Urol**, v. 37, n. 2, p. 282-283, 2011.

ROEHRBORN, C. G. Benign prostatic hyperplasia and lower urinary tract symptom guidelines. **Canadian Urology Association Journal**, n. 6, S130-S132, 2012.

SAIGAL, C. S.; JOYCE, G. Economic costs of benign prostatic hyperplasia in the private sector. **J. Urol.**, v. 173, n. 4, p. 1309–1313, 2005.

SAWAMURA, A. M. S.; FRANCO, S. L. Sistemas Terapêuticos Transdérmicos. **Arq. Apadec**, v. 8, n. 1, p. 40-47, 2004.

SCHAUER, I. G.; ROWLEY, D. R. The functional role of reactive stroma in benign prostatic hyperplasia. **Differentiation**, v. 82, p. 200-210, 2011.

SHAH, P. V.; JEROMES, S. E.; ROGER, L. W. Evaluation of the test system used for in vitro release of drugs for topical dermatological drug products. **Pharm Dev Technol**, v. 4, p. 377-385, 1999.

SIEWERT, M.; DRESSMAN, J.; BROWN, C.; SHAH, V.P. FIP/AAPS Guidelines for dissolution *in vitro* release testing of novel/special dosage forms. **Dissol. Tech.**, v. 10, n. 1 p. 6-15, 2003.

SILVA, J. A.; BEDOR, D.C.G.; DAMASCENO, B.P.G.L.; OLIVEIRA, A.G.; EGITO, S.; SANTANA, D. Physicochemical Characterization and Development of a Microemulsion System for Transdermal Use. **J Dispers Sci Technol.**, v. 31, n. 1, p. 1-8, 2010.

SPERNATH, A.; ASERIN, A. Microemulsions as carriers for drugs and nutraceuticals. **Adv Colloid Interface Sci.**, v. 128-130, p. 47-64, 2006.

TARTER, T. H.; VAUGHAN, E. D. Inhibitors of 5alpha-reductase in the treatment of benign prostatic hyperplasia. **Curr Pharm Des.**, v. 12, n. 7, p. 775-783, 2006.

TAVARES, G. D.; ISHIKAWA, G.M.; MONTEIRO, T.F.; ZANOLINI, C.; KEDOR-HACKMANN, E.R.M.; BOU-CHACRA, N.A.; CONSIGLIERI, V.O. Derivate spectrophotometric method for determination of acyclovir in polymeric nanoparticles. **Quím. Nova**, v. 35, n. 1, p. 203-206, 2011.

TORAL, M. I.; ORELLANA, S.; SALDÍAS, M. Estrategias en el desarrollo de métodos analíticos para la determinación simultánea de compuestos orgánicos por espectrofotometría derivada. **Quím. Nova**, v. 32, n. 1, p. 257-262, 2009.

USP 29. **United States Pharmacopoeia**. 29.ed. Rockville: United States Pharmacopoeial Convention, 2006.

VELTRI, R; RODRIGUEZ, R. **Molecular biology, endocrinology, and physiology of the prostate and seminal vesicles**. In: Wein AJ, editor. Campbell-Walsh Urology. 9. Vol. 3. Saunders Elsevier; Philadelphia: 2007. pp. 2677–2726.

WARISNOICHAROEN, W.; LANSLEY, A. B.; LAWRENCE, M. J. Nonionic oil-in-water microemulsions: the effect of oil type on phase behaviour. **Int. J. Pharm.**, v. 198, p. 7–27, 2000.