



Maria Júlia Saraiva Gil

## Revisão Regulamentar das Ciclodextrinas enquanto Excipientes Farmacêuticos

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Ana Rita Ramalho Figueiras e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Março 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Maria Júlia Saraiva Gil

# Revisão Regulamentar das Ciclodextrinas enquanto Excipientes Farmacêuticos

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Ana Rita Ramalho Figueiras e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Março 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Maria Júlia Saraiva Gil, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2009010425, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo desta Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão de outrem, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 22 de Março de 2016.

---

(Maria Júlia Saraiva Gil)

A Orientadora

---

(Professora Doutora Ana Rita Figueiras)

A Aluna

---

(Maria Júlia Saraiva Gil)

*Aqui deixo os meus mais sinceros agradecimentos à Professora Dr<sup>a</sup>. Ana Rita Figueiras pelo auxílio, disponibilidade, e simpatia que sempre demonstrou, aos meus pais, irmão, e namorado que me deram tudo o que mais valorizo na minha vida, e por quem nunca terei palavras para expressar a minha gratidão, ao meu grupo de amigos, em particular à Inês Anastácio, por ter sido a melhor ouvinte que uma amiga podia pedir, mesmo do outro lado do mundo, a quem já não está. Porque sei que se estivessem, celebraríamos juntos este momento.*

## **Índice**

Abreviaturas .....	5
1. Resumo .....	7
Abstract .....	8
2. Introdução .....	9
3. Ciclodextrinas.....	11
3.1. Definição.....	11
3.2. Estrutura e Propriedades Físico-Químicas .....	12
3.3. Derivados .....	13
3.3.1 Derivados Hidrófilos.....	14
3.3.2 Derivados Hidrofóbicos.....	15
3.3.3 Derivados Ionizáveis .....	16
4. Avaliação da Segurança e Toxicidade nas diferentes Vias de administração.....	16
4.1. Administração Oral.....	20
4.2. Administração Nasal .....	22
4.3. Administração Retal.....	23
4.4. Administração Dérmica .....	24
4.5. Administração Ocular.....	26
4.6. Administração Parenteral .....	28
5. Perspetivas Futuras.....	30
6. Conclusões .....	33
7. Referências Bibliográficas .....	34
Anexo.....	37
Anexo I - Estrutura e Propriedades Físico-Químicas .....	37

## **Abreviaturas**

**$\alpha$ -CD** Alfa-ciclodextrina

**$\beta$ -CD** Beta-ciclodextrina

**$\gamma$ -CD** Gama-ciclodextrina

**2-HE- $\beta$ -CD** 2-hidroxietil-beta-ciclodextrina

**2-HP- $\beta$ -CD** 2-hidroxipropil-beta-ciclodextrina

**2,3-DHP- $\beta$ -CD** 2,3-dihidroxipropil-beta-ciclodextrina

**ADI** *Acceptable Daily Intake*

**AIM** Autorização de Introdução de Mercado

**AINE** Anti-Inflamatório Não-Esteróide

**CDs** Ciclodextrinas

**3-HP- $\beta$ -CD** 3-hidroxipropil-beta-ciclodextrina

**CGTase** Ciclodextrina-glicosil-transferase

**CM- $\beta$ -CD** Carboximetil-beta-ciclodextrina

**CME- $\beta$ -CD** Carboximetiletil-beta-ciclodextrina

**CPMP** *Committee for Proprietary Medicinal Products*

**DE- $\beta$ -CD** Dietil-beta-ciclodextrina

**DM- $\beta$ -CD** Dimetil-beta-ciclodextrina

**EMA** *European Medicines Agency*

**EP** *European Pharmacopeia*

**FDA** *Food and Drug Administration*

**G<sub>2</sub>- $\beta$ -CD** Maltosil-beta-ciclodextrina

**GRAS** *Generally Regarded as Safe*

**HE- $\beta$ -CD** Hidroxietil-beta-ciclodextrina

**HP- $\beta$ -CD** Hidroxipropil-beta-ciclodextrina

**HPE-101** 1-[2-(deciltio)etil]azaciclopentano-2-ona

**ICH** *International Conference on Harmonisation*

**JPC** *Japanese Pharmaceutical Codex*

**LD<sub>50</sub>** *Lethal Dose, 50%*

**NOAEL** *No Observed Adverse Effect Level*

**NOEL** *No Observed Effect Level*

**PDE** *Permitted Daily Exposure*

**RM- $\beta$ -CD** Randomil-beta-ciclodextrina

**SA** Substância ativa

**SBE- $\beta$ -CD** Sulfobutil-éter-beta-ciclodextrina

**SCB** Sistema de Classificação Biofarmacêutica

**TE- $\beta$ -CD** (2,3,6-tri-O-etil)-beta-ciclodextrina

**TM- $\beta$ -CD** Trimetil-beta-ciclodextrina

**USP/NF** *United States Pharmacopeia/National Formulary*

## **I. Resumo**

A utilização de ciclodextrinas (CDs) em formulações farmacêuticas como excipientes pode afetar a biodisponibilidade, e segurança dos medicamentos.

O *Committee for Proprietary Medicinal Products* (CPMP) em conjunto com as autoridades regulamentares dos Estados-Membro da União Europeia implementaram *guidelines* que regulamentam a utilização de excipientes nos medicamentos, de forma a auxiliar as autoridades competentes, e os requerentes dos pedidos de Autorização de Introdução de Mercado (AIM) de medicamentos de uso humano, promovendo a harmonização da interpretação e aplicação destas *guidelines*, e consequentemente, assegurando a qualidade, eficácia e segurança dos mesmos. Estas *guidelines* constituem também um complemento às monografias e capítulos da *European Pharmacopeia* (EP). Tendo sido a sua harmonização entre a Europa, Japão, e EUA realizada através da *International Conference on Harmonisation* (ICH).

De uma perspetiva regulamentar, a informação disponível sobre as CDs como excipientes em formulações farmacêuticas é ainda insuficiente. Verificando-se que as *guidelines* em vigor não estão atualizadas, nem se encontram em concordância com o facto de estas moléculas já serem larga e vastamente utilizadas na indústria farmacêutica. Neste sentido, este trabalho tem como principal objetivo realizar uma revisão regulamentar sobre a aplicação das CDs e dos seus derivados como excipientes farmacêuticos, fazendo uma abordagem sobre as suas principais características, propriedades físico-químicas, e perfis de segurança nas diversas vias de administração, recorrendo-se para tal a exemplos de estudos realizados sempre que considerado oportuno.

## **Abstract**

The use of CDs as excipients in pharmaceutical formulations can impact on drug's bioavailability and safety.

Together with the regulatory agencies of the member states, the CPMP has implemented guidelines that aim to regulate the use of excipients in drug formulations. This fact intends to help authorities and the marketing authorization applicants. The guidelines provide harmonization on the evaluation and decision procedures, assuring the quality, efficacy and safety of drugs. Moreover, these guidelines are a complement to the European Pharmacopoeia and are harmonized by the ICH between Japan, United States of America and European Union.

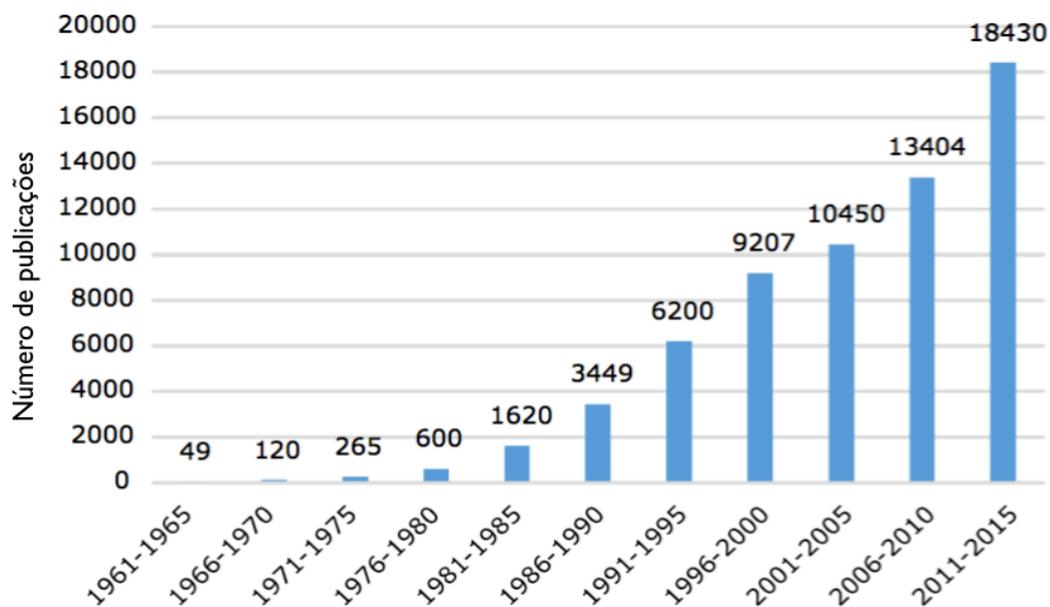
However, the regulatory information on CDs as drug excipients in the several pharmaceutical formulations remains limited. On the other hand, the current guidelines are not update, which collides with the fact that these molecules are already widely used across pharmaceutical industry. Therefore, this study, primarily aims to revise the current regulation over the use of CDs and their derivatives as pharmaceutical excipients. Their characterization will be approached, detailing their physicochemical properties and safety profiles along different routes of administration and quoting relevant studies when considered convenient.

## **2. Introdução**

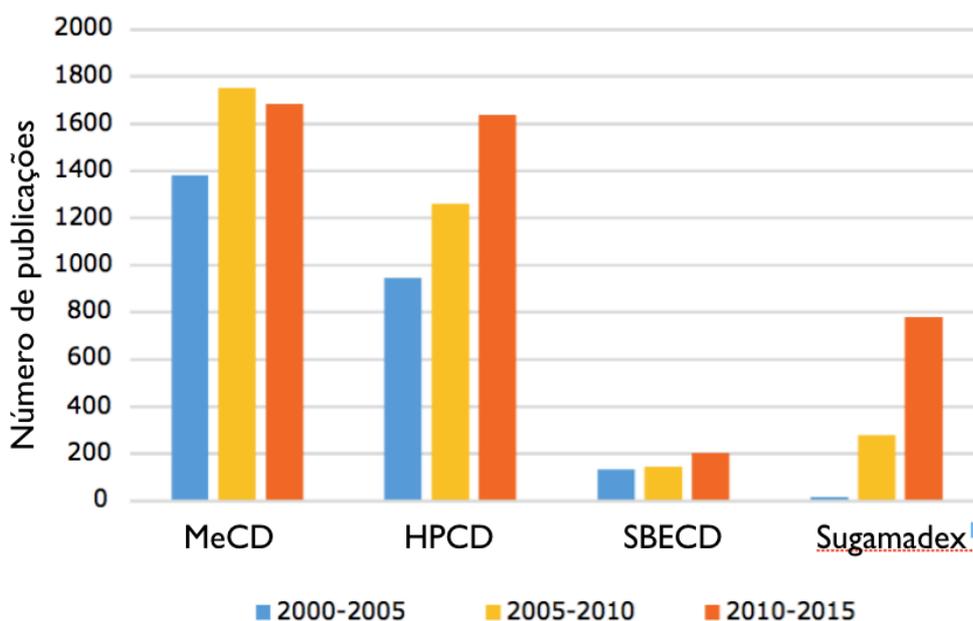
Em 1891, A. Villier descreveu de forma pioneira o isolamento das hoje conhecidas CDs, através de uma pequena quantidade de um composto cristalino obtido a partir do *Bacillus amylobacter*, que na altura designou de “cellulosine”, devido à semelhança com a molécula de celulose<sup>[1]</sup>. Mais tarde, Franz Scharinger caracterizou a substância descoberta por Villier como uma mistura de dois oligossacarídeos cíclicos, designando-os por  $\alpha$ -dextrina e  $\beta$ -dextrina cristalina, além disso descreveu pela primeira vez a preparação e isolamento destes oligossacarídeos cíclicos. Devido ao baixo grau de pureza, e elevados custos de produção, as CDs eram produzidas em quantidades muito pequenas até 1970, o que inviabilizava a sua aplicação industrial<sup>[2]</sup>. Graças aos avanços biotecnológicos na descoberta da sequenciação e clonagem da maioria dos genes dos ciclodextrina-glicosil-transferase (CGTase)<sup>[3,4]</sup> ocorridos após esta data, estes enzimas começaram a ser acessíveis a custos mais baixos, promovendo um aumento significativo na produção em larga escala das CDs naturais, e com um grau de pureza elevado. A complexação de fármacos com CDs permite otimizar e solucionar problemas relacionados com propriedades indesejáveis dos mesmos, tais como instabilidade, baixa solubilidade aquosa, características organolépticas desagradáveis ou potencial irritação que possam causar no local de aplicação. Por todas estas e muitas outras razões, atualmente verifica-se um aumento exponencial da utilização destas moléculas na indústria farmacêutica, existindo produtos comercializados no mercado que utilizam pelo menos sete tipos de CDs diferentes como excipientes farmacêuticos. Por outro lado, devido às suas propriedades como excipientes ativos e influência na biodisponibilidade de vários fármacos surgiu a necessidade de regulamentar criteriosamente a presença destas moléculas nos medicamentos<sup>[5]</sup>.

Após um século da descoberta das CDs, e de a primeira patente com CDs e os seus complexos de inclusão ter sido registada há 63 anos, são hoje conhecidas mais de 3300 patentes Europeias registadas. Prevê-se que este número possa aumentar no futuro, na medida em que já é possível a produção de milhares de toneladas por ano a preços relativamente baixos. Desde a década de 60 que são publicados trabalhos científicos relacionados com CDs e seus derivados, como é possível verificar nas Figuras 1 e 2. O aumento significativo destes números ao longo dos anos comprova o interesse da indústria farmacêutica nestas moléculas, e o papel preponderante das CDs como excipientes farmacêuticos no desenvolvimento de novas formulações. No entanto, na atualidade as CDs são também já utilizadas como substâncias ativas (SA). Um exemplo é o Bridion<sup>®</sup>, uma gama-ciclodextrina modificada (cujo nome comercial é Sugamadex) que quando usada como SA tem a indicação terapêutica

de reversão do bloqueio neuromuscular induzido pelo rocurónio ou pelo vecurónio<sup>[6,7]</sup>. Em dezembro de 2015, obteve aprovação pela *Food and Drug Administration (FDA)*<sup>[6,7]</sup>.



**Figura 1.** Evolução do número de publicações relacionadas com CDs<sup>[8]</sup>.



**Figura 2.** Número de artigos científicos publicados entre os anos de 2000 e 2015 relacionados com os diferentes derivados das CDs<sup>[8]</sup>.

### 3. Ciclodextrinas

#### 3.1 Definição

As CDs são oligossacarídeos cíclicos utilizados como excipientes farmacêuticos há 20 anos, sendo alvo de um interesse crescente pela indústria farmacêutica devido às suas propriedades e características físico-químicas peculiares.

Tendo em consideração a produção destas moléculas, podemos classificá-las em dois grupos, as CDs naturais, e os seus derivados quimicamente obtidos. As CDs naturais são obtidas a partir da degradação enzimática do amido por ação do CGTase. Resumidamente, podemos considerar as principais fases da produção das CDs naturais as seguintes<sup>[9]</sup>:

- Cultura de microrganismos que produzem o enzima CGTase;
- Separação do enzima do meio, sua concentração e purificação;
- Conversão enzimática do amido pré-hidrolisado numa mistura de dextrinas cíclicas e acíclicas;
- Separação das CDs da mistura anteriormente obtida, sua purificação, e por fim, cristalização.

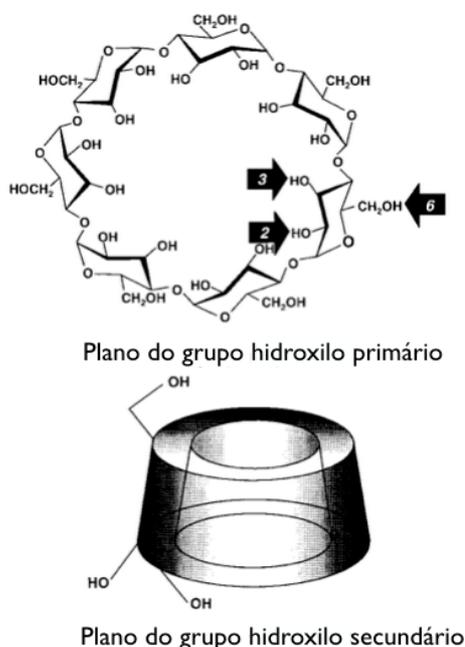
Os enzimas CGTases podem ser produzidas por diferentes microrganismos, como o *Bacillus macerans*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus circulans*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus alcalofilico*, *Bacillus subtilis*, através do mecanismo de hidrólise de determinadas ligações glicosídicas do amido, originando então misturas de dextrinas, e ciclização de fragmentos oligossacarídicos. As CDs naturais produzidas em maior quantidade são as  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD, e a  $\gamma$ -CD, sendo que estas quantidades dependem do tipo de microrganismo que produz o CGTase, e das condições da reação. De forma a tornar este processo de produção mais eficiente, é feita a imobilização do enzima num suporte inerte e insolúvel, passando a ter uma utilização contínua. De seguida, é realizado o processo de separação das CDs, que poderá ser feita através de vários métodos, como por exemplo, através da adição de solventes orgânicos, que é o processo com maior rendimento industrial<sup>[9]</sup>.

Na indústria farmacêutica, estas moléculas têm sido alvo de grande interesse graças às suas propriedades complexantes, na medida em que promovem um aumento da solubilidade e dissolução de fármacos insolúveis, aumentando a sua biodisponibilidade, contribuindo ainda para um aumento da sua estabilidade, diminuição da irritação gástrica ou ocular associada à utilização de determinados fármacos, diminuindo odores/sabores desagradáveis, prevenindo interações fármaco-fármaco, ou fármacos-excipiente, ou promovendo a conversão de fármacos líquidos em pós amorfos microcristalinos<sup>[5,10]</sup>.

### 3.2 Estrutura e Propriedades Físico-Químicas

As CDs são oligossacarídeos cíclicos compostas por unidades de glucose ligadas entre si por ligações  $\alpha$ -1,4 glicosídicas. As  $\alpha$ -CDs,  $\beta$ -CDs, e  $\gamma$ -CDs contêm 6,7, e 8 unidades de glucose, respectivamente, e são moléculas cristalinas, e não-higroscópicas. As três principais CDs naturais encontram-se ilustradas na figura 1 do anexo 1. Para que haja uma produção industrial rentável de CDs, é necessário um número mínimo de 6 unidades de glucose, por razões estereoquímicas, e um número máximo de 8 unidades. A tabela 1 do anexo 1 mostra as principais propriedades físico-químicas das CDs naturais.

Como é possível observar na figura 3, as CDs apresentam uma estrutura tronco-cônica devido à ausência de rotação livre das ligações glicosídicas, e da conformação em cadeira das unidades de glucose. A estrutura das CDs apresenta os grupos hidroxilos secundários localizados nos átomos C-2 e C-3 das unidades de glucose na extremidade mais larga, e os hidroxilos primários ligados aos átomos C-6 das unidades de glucose da extremidade oposta mais estreita. Esta disposição da molécula deve-se à livre rotação dos grupos hidroxilos primários que reduzem o diâmetro da cavidade na extremidade mais estreita. Por outro lado, os hidroxilos secundários como não apresentam movimento de rotação livre, exercem a ação contrária na molécula<sup>[9,11]</sup>.



**Figura 3.** Estrutura da  $\beta$ -CD<sup>[12]</sup>.

Como observável na figura 3, os grupos hidroxilos encontram-se orientados para o exterior do cone, tornando a superfície hidrofílica<sup>[11]</sup>. O revestimento da cavidade interna é

delineado por 2 anéis de grupos CH, que estão ligados aos átomos H-3 e H-5 por pontes éteres glicosídicas. Os pares de electrões livres dos oxigénios envolvidos nas pontes glicosídicas estão dirigidos para o interior, conduzindo a uma carga electrónica elevada. Devido a este motivo, a superfície interna das CDs torna-se extremamente hidrofóbica. As ligações de hidrogénio intramoleculares que se formam entre os grupos hidroxilos em posição C2 de uma glucose com os grupos hidroxilos em C3 da glucose adjacente estabilizam o anel macrocíclico, conferindo-lhe rigidez, no entanto tornam a solubilidade aquosa da  $\beta$ -CD reduzida.

No caso da  $\alpha$ -CD são possíveis 6 ligações de hidrogénio, no entanto apenas 4 estão disponíveis. A  $\gamma$ -CD tem uma estrutura mais flexível em relação às outras CDs naturais, uma vez que esta é não-coplanar, o que permite que seja a mais solúvel (Tabela I do Anexo I), sendo também produzida com um maior rendimento. Ao contrário da  $\gamma$ -CD, a  $\beta$ -CD tem uma solubilidade reduzida, contudo é considerada a CD natural com maior aplicação na indústria farmacêutica, porque a sua produção é conseguida com um bom rendimento e qualidade elevada, a custos baixos, e as dimensões da cavidade interna são excelentes para incorporar compostos aromáticos hidrófobos.

Em relação à estabilidade, as CDs são bastante estáveis em meio alcalino, mas sofrem facilmente hidrólise na presença de ácidos fortes. São muito resistentes à  $\beta$ -amilase, no entanto não resistem à degradação enzimática do  $\alpha$ -amilase, uma vez que este não precisa da presença de grupos terminais para atuar. A estabilidade das CDs é comparável à do amido, e por isso podem ser armazenadas durante longos períodos de tempo sem sofrerem degradação, o que contribui para que se tornem fortes candidatos para serem utilizadas como excipientes em formulações farmacêuticas.

### 3.3 Derivados

Apesar da vasta aplicação das CDs naturais em diferentes áreas, estas apresentam algumas propriedades físico-químicas que constituem obstáculos à sua utilização como excipientes. Um exemplo concreto, é o facto da  $\beta$ -CD possuir uma solubilidade aquosa bastante reduzida<sup>[13]</sup>, devido à sua estrutura rígida. De forma a contornar esta limitação e promover um maior interesse farmacêutico, foram desenvolvidas CDs quimicamente modificadas, que possuem uma solubilidade aumentada e uma menor toxicidade<sup>[13,14]</sup>. As modificações ocorrem preferencialmente nos grupos hidroxilos primários e/ou secundários, onde podem ser ligados diversos grupos funcionais, como grupos metilo, etilo, carboximetilo, hidroxietilo, hidroxipropilo, sulfobutilo, sacarídeos, ou através da polimerização das CDs.

As  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD e  $\gamma$ -CDs têm, respetivamente, 18, 21 e 24 grupos hidroxilos passíveis de sofrerem derivatização, sendo os que estão ligados aos átomos C-6 os mais reativos, e os ligados aos átomos C-3 os menos reativos. Muitos derivados das CDs têm sido sintetizados, porém só alguns são utilizados como excipientes farmacêuticos. Neste grupo, é de destacar os derivados com substituintes metilo, hidroxipropilo, e, mais recentemente, éter-sulfobutilo.

Em 1990, Uekama e Irie classificaram os derivados das CDs em hidrófilos, hidrófobos, e ionizáveis<sup>[9]</sup>, que irão ser seguidamente abordados de forma detalhada.

### 3.3.1 Derivados Hidrófilos

Dentro deste grupo distinguem-se 3 tipos: os metilados, os hidroxialquilados, e os ramificados. Nos derivados metilados podem ainda existir diferentes subtipos:

- Os derivados dimetil-beta-ciclodextrina (DM- $\beta$ -CD), que são formados pela metilação seletiva de todos os hidroxilos secundários em posição C2 e de todos os primários em posição C6;
- Os derivados trimetil-beta-ciclodextrina (TM- $\beta$ -CD) que são formados pela metilação de todos os hidroxilos, incluindo os que se encontram em posição C3;
- Os derivados randomizados (RM- $\beta$ -CD) que resultam de uma metilação aleatória nos hidroxilos em posição C2, C3 ou C6.

A solubilidade aquosa dos derivados metilados é muito superior à da  $\beta$ -CD, e diminui com o aumento da temperatura. Esta particularidade faz com que os derivados metilados tenham uma utilização limitada na preparação de injetáveis que sofram esterilização pelo calor. Algumas vantagens que apresentam, é o facto de serem muito solúveis em solventes orgânicos, menos higroscópicos, possuírem uma menor tensão superficial, promovendo a sua utilização na complexação de fármacos sensíveis à humidade. A estabilidade das CDs metiladas é considerada razoável em meio alcalino, no entanto, a pH muito baixo sofrem hidrólise e formam oligossacarídeos lineares, sendo que a TM- $\beta$ -CD é a mais suscetível, devido à sua distorção na conformação do anel macrocíclico, e por outro lado, a DM- $\beta$ -CD é a mais resistente a este efeito.

Dentro do grupo das CDs hidroxialquiladas é possível distinguir a 2-hidroxietil-beta-ciclodextrina (2-HE- $\beta$ -CD), a 2-hidroxipropil-beta-ciclodextrina (2-HP- $\beta$ -CD), a 3-hidroxipropil-beta-ciclodextrina (3-HP- $\beta$ -CD) e a 2,3-dihidroxipropil-beta-ciclodextrina (2,3-DHP- $\beta$ -CD). A preparação destes derivados é realizada por condensação com agentes hidroxialquilantes em meio alcalino. Os derivados hidroxialquílicos são muito solúveis em

água, e menos higroscópicos do que a  $\beta$ -CD<sup>[9]</sup>. No entanto, na presença de um teor de humidade superior a 90%, dissolvem-se na água devido à sua elevada solubilidade<sup>[9]</sup>. Relativamente à estabilidade deste tipo de derivados, é de salientar que a velocidade com que estes sofrem degradação enzimática é tanto menor quanto maior é o grau de substituição.

As CDs ramificadas (que podem ser homogéneas ou heterogéneas) têm sido alvo de grande interesse farmacêutico devido à sua elevada hidrossolubilidade, uma vez que os hidroxilos primários e secundários são substituídos por mono e dissacarídeos através de ligações  $\alpha$ -(1,6). Estas CDs são produzidas principalmente por via enzimática, começando com enzimas CGTases que, com o amido previamente hidrolisado, produzem as CDs naturais, ocorrendo de seguida uma reação de condensação inversa com os enzimas pullulase ou isoamilase, que permitem a ligação das unidades de maltose. Estas CDs apresentam um grau de pureza química elevado, ao contrário das CDs hidroxialquiladas, e uma solubilidade em água a 25°C muito superior à da  $\beta$ -CD. Em relação à estabilidade, é de salientar que as CDs ramificadas são resistentes à hidrólise pelo  $\alpha$ -amilase, ao contrário da  $\beta$ -CD.

### 3.3.2 Derivados Hidrofóbicos

Um dos principais objetivos da utilização de CDs e dos seus derivados na indústria farmacêutica é o aumento da solubilidade e velocidade de dissolução de fármacos pouco solúveis, através do processo de complexação. No entanto, os derivados hidrofóbicos, têm uma utilização que visa o controlo da velocidade de dissolução de fármacos solúveis em água, comportando-se como agentes de libertação prolongada de fármacos. Dentro desta categoria, distinguem-se os derivados etilados, e os derivados acilados.

Os derivados etilados formam-se pela substituição dos grupos hidroxilos das CDs por grupos alquilo de tamanho superior ao grupo metilo, através da formação de ligações éter ou éster. Verificando-se uma diminuição na solubilidade aquosa das CDs resultantes, e esta diminuição é tanto maior quanto maior for o grau de substituição, ao mesmo tempo que aumenta nos solventes menos polares. São exemplos deste grupo de derivados etilados a *heptakis* (2,6-di-O-etil)- $\beta$ -CD (DE- $\beta$ -CD), e a *heptakis* (2,3,6-tri-O-etil)- $\beta$ -CD (TE- $\beta$ -CD). A DE- $\beta$ -CD é obtida por etilação parcial dos hidroxilos secundários em posição C2 e dos primários em posição C6 da  $\beta$ -CD, ficando assim os hidroxilos secundários em posição C3 sem substituição, o que já não acontece com o derivado TE- $\beta$ -CD, em que todos os hidroxilos poderão sofrer etilação. Quando comparados com a  $\beta$ -CD estes derivados caracterizam-se por serem menos higroscópicos, possuírem menor tensão superficial, e apresentarem uma menor degradação ácida, que é facilmente explicada pelo facto dos grupos etilo criarem um

impedimento estereoquímico, dificultando o ataque da ligação glicosídica por ação dos iões hidrogénio. Ao contrário dos derivados etilados que apresentam uma função éter, os derivados acilados são ésteres, e por isso são eliminados do organismo após hidrólise alcalina, obtendo-se a  $\beta$ -CD e o respetivo ácido.

### 3.3.3 Derivados Ionizáveis

A substituição dos grupos hidroxilos das CDs naturais por grupos ionizáveis confere a estes derivados uma hidrofilia e uma capacidade de complexação que depende do pH. A carboximetiletil-beta-ciclodextrina (CME- $\beta$ -CD) é uma ciclodextrina ionizável formada a partir da substituição dos hidroxilos da  $\beta$ -CD por grupos carboximetilo. A presença destes grupos, confere-lhe uma solubilidade aquosa que a pH ácido é baixa, e a pH neutro/alcalino é alta, resultante da ionização dos grupos carboxílicos que apresentam um pKa de 3,5. Por este motivo, a complexação de fármacos solúveis com a CME- $\beta$ -CD permite uma libertação lenta da SA a pH ácido (do estômago), e rápida a pH neutro ou alcalino (intestino), permitindo a utilização da CME- $\beta$ -CD como um agente de libertação retardada em função do pH.

A escolha dos grupos ionizáveis é de extrema importância para a determinação da solubilidade. Outro derivado com elevada aplicação farmacêutica, é a sulfobutil-éter- $\beta$ -ciclodextrina (SBE- $\beta$ -CD), que é uma ciclodextrina poli-aniónica resultante da substituição dos grupos hidroxilos em posição 2, 3 e 6 das unidades de glucose da  $\beta$ -CD por grupos sulfobutil-éter. A SBE- $\beta$ -CD apresenta uma solubilidade aquosa muito elevada, que lhe permite formar complexos de inclusão com um grande número de fármacos, originando complexos solúveis. Alguns exemplos da aplicação deste derivado são a solução intravenosa de voriconazol (VFend<sup>®</sup>), e a solução intramuscular de ziprasidona (Geodon<sup>®</sup>), ambas da Pfizer [2,14].

## **4. Avaliação da Segurança e Toxicidade nas diferentes Vias de administração**

As CDs apresentam a capacidade de complexação de fármacos, o que permite o aumento da sua solubilidade, estabilidade, e biodisponibilidade, diminuição da irritação gástrica e ocular, diminuição de odores/sabores desagradáveis, prevenção de interações, e maior facilidade na incorporação de fármacos líquidos em formas farmacêuticas sólidas mediante conversão dos mesmos em pós<sup>[10]</sup>. Assim sendo, podem ser encontradas em diferentes produtos farmacêuticos, destinados a diferentes vias de administração. Na indústria farmacêuti-

ca, já existem um elevado número de produtos contendo CDs, como é possível visualizar na tabela I, onde se encontram alguns exemplos da sua utilização e comercialização.

**Tabela I.** Aplicação das CDs em diferentes vias de administração<sup>[5]</sup>.

	$\alpha$ -CD	$\beta$ -CD	$\gamma$ -CD	HP- $\beta$ -CD	SBE- $\beta$ -CD	RM- $\beta$ -CD
Oral		x	x	x	x	
Nasal						x
Retal		x		x		
Dérmica		x	x	x		
Ocular		x		x		x
Parenteral	x			x	x	

O perfil regulamentar das CDs está continuamente em mudança. As monografias da  $\alpha$ -CD e  $\beta$ -CD encontram-se disponíveis na EP, na *Japanese Pharmaceutical Codex* (JPC), e na *United States Pharmacopeial/National Formulary* (USP/NF), desde a década de 90. As CDs naturais constam da lista *Generally Regarded as Safe* (GRAS) da FDA para o uso como aditivos alimentares<sup>[5,11]</sup>. A  $\beta$ -CD foi também aprovada com esta função (E459) na Europa, com um valor de *acceptable daily intake* (ADI) de 5 mg/kg/day<sup>[5]</sup>.

A monografia da  $\gamma$ -CD encontra-se referenciada na JPC, e prevê-se que brevemente estará na USP/NF, e na EP<sup>[14]</sup>. A monografia do derivado HP- $\beta$ -CD encontra-se igualmente disponível na EP e na USP/NF, e têm sido feitos esforços para que monografias de outros derivados sejam incluídos nestas farmacopeias<sup>[14]</sup>. Tanto a HP- $\beta$ -CD como a SBE- $\beta$ -CD, estão referidas na lista da FDA como *Inactive Pharmaceutical Ingredients*<sup>[5]</sup>.

Existem inúmeras patentes relativamente às CDs e suas aplicações, cujo número aumenta anualmente. As patentes atuais das CDs podem agrupar-se em quatro categorias<sup>[4]</sup>:

- Patentes sob métodos para a produção de CDs. As empresas produtoras patenteiam sobre certas técnicas de produção das CDs naturais e dos seus derivados;
- Patentes sobre aplicações farmacêuticas de certos derivados das CDs. Um exemplo desta categoria é o caso da *Johnson & Johnson* que é detentora da patente sobre aplicações farmacêuticas da 2-hidroxipropil- $\beta$ -CD (2-HP- $\beta$ -CD) nos EUA e a *CyDex* que possui a patente sobre a sulfobutil-éter- $\beta$ CD (SBE- $\beta$ -CD);
- Patentes sobre métodos para melhorar a eficácia das CDs. Por exemplo, certas técnicas de formulação para melhorar os efeitos de solubilização das CDs através da adição de polímeros solúveis em água ou hidroxiácidos;
- Patentes sobre combinações específicas fármaco-CD.

Atualmente, estas moléculas apresentam uma boa aceitação na qualidade de excipientes incorporados em várias formas farmacêuticas, encontrando-se disponíveis nos mercados dos mais diversos países, tais como Japão, EUA, Brasil, Alemanha, Itália, Islândia, Portugal, Suíça, Suécia, entre outros. Os principais derivados das CDs em desenvolvimento, com estatuto de excipiente farmacêutico, são obtidos por derivatização da  $\beta$ -CD, e incluem o derivado metilado da beta-ciclodextrina (RM- $\beta$ -CD), a 2-(Hidroxipropil)<sub>3</sub>- $\beta$ -ciclodextrina (2-(HP)<sub>3</sub>- $\beta$ -CD), a 2-(Hidroxipropil)<sub>7</sub>- $\beta$ -ciclodextrina (2-(HP)<sub>7</sub>- $\beta$ -CD), e a (Sulfobutil-éter)<sub>7</sub>- $\beta$ -ciclodextrina (SBE)<sub>7</sub>- $\beta$ -CD.

A CPMP criou a *guideline* CPMP/463/00 que se intitula *Excipients in the label and package leaflet of medicinal products for human use*, de forma a auxiliar as autoridades competentes, e os requerentes de pedidos de AIM de medicamentos de uso humano. Nesta *guideline* consta uma lista de excipientes que deverão estar indicados nos rótulos e folhetos informativos, e também alguma informação referente à segurança de alguns excipientes utilizados em medicamentos. No entanto, esta *guideline* não é aplicada quando estas substâncias são utilizadas como SA<sup>[15]</sup>, como é o caso das CDs que poderão ser usadas com esta função, para além de exercerem o papel de excipientes nas formulações farmacêuticas que integram. Esta *guideline*, que foi aprovada em 2003, não refere a utilização das CDs como excipientes, e como tal não alerta para a necessidade de ser necessária a inclusão de informação referente à presença destas moléculas nos rótulos e folhetos informativos. Tendo em consideração esta questão, em 2014, a *European Medicines Agency* (EMA) fez uma revisão desta mesma *guideline* (EMA/CHMP/333892/2013), onde foi feita a recomendação para ser adicionada informação sobre estas moléculas como excipientes farmacêuticos nos rótulos e folhetos informativos, tendo em conta que em concentrações elevadas poderão apresentar efeitos adversos<sup>[5]</sup>. Nesta revisão consta também alguma informação essencial referente à toxicidade das CDs nas diferentes vias de administração.

A viabilidade comercial das formulações contendo CDs é globalmente aceite. Tal facto está comprovado na tabela 2, na qual são apresentados alguns exemplos de medicamentos aprovados pelas agências reguladoras de medicamentos.

**Tabela 2.** Exemplos de medicamentos contendo complexos de inclusão fármaco-CD aprovados e comercialmente disponíveis<sup>[14,16,17]</sup>.

<b>Fármaco</b>	<b>Nome Comercial</b>	<b>Forma Farmacêutica</b>	<b>Laboratório/País</b>
<b><u>α-CD</u></b>			
Alprostadil	Rigidur®	Solução IM	Otsuka Pharm. Co./ Japão
PGE1	Prostandin 500®	Infusão IV	Ono/Japão
<b><u>β-CD</u></b>			
Cetirizina	Ceterizin®	Comprimido mastigável	LosanPharma/Alemanha
Dexametasona	Glymesason®	Pomada	Fujinaga/Japão
Nicotina	Nicorette®	Comprimido orodispersível	Pharmacia/Suécia
Omeprazol	Omebeta®	Comprimido	Betafarm/Alemanha
<b><u>γ-CD</u></b>			
OP-1206	Opalman®	Comprimido	Ono/Japão
<b><u>HP-β-CD</u></b>			
Cisaprida	Prepulsid®	Supositório	Janssen/Bélgica
Indometacina	Indocid®	Solução oftálmica	Chauvin/França
Itraconazol	Sporanox®	Solução oral ou IV	Janssen/Bélgica
<b><u>SBE-β-CD</u></b>			
Aripiprazol	Abilify®	Solução intramuscular	Bristol-Myers Squibb/EUA
Voriconazol	Vfend®	Solução IV	Pfizer/EUA
<b><u>RM-β-CD</u></b>			
17B-estradiol	Aerodiol®	Spray Nasal	Servier/França
<b><u>HP-γ-CD</u></b>			
Diclofenac	Voltaren Ophthalmic®	Solução oftálmica	Novartis/Suíça

Nestes medicamentos, as CDs são utilizadas exclusivamente como excipientes, sendo o único princípio ativo o fármaco na forma livre. Os complexos formados entre o fármaco e as CDs, dissociam-se com relativa facilidade devido ao efeito de diluição, sendo apenas o fármaco no estado livre que sofre absorção e entra na corrente sanguínea. Neste sentido, o fármaco é aprovado para comercialização, numa formulação contendo CDs, mas não como uma nova entidade fármaco-CD. Por outro lado, a incorporação de CDs em formulações farmacêuticas pode ser protegida por patentes cujas reivindicações protegem as respetivas CDs ou as vantagens da utilização de uma ciclodextrina numa determinada formulação. No entanto, atualmente, as CDs naturais não se encontram protegidas por patente, tornando-as

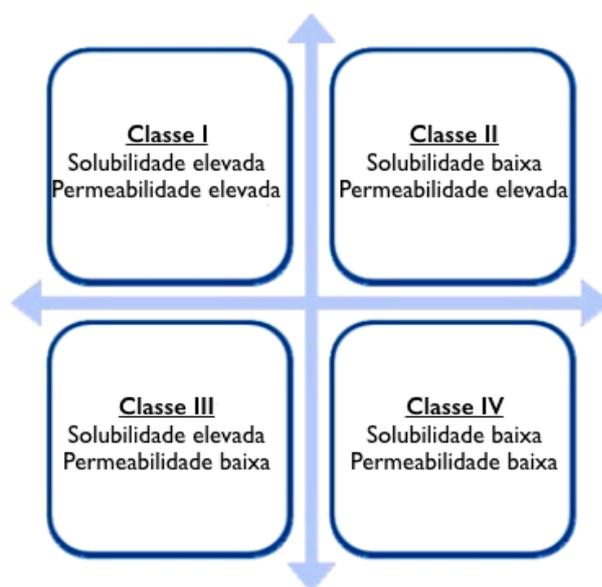
disponíveis comercialmente para um grande número de laboratórios, o que não se verifica para os derivados hidrofílicos como a SBE- $\beta$ -CD e a HP- $\beta$ -CD. Apesar de existir esta proteção, esta não constitui um entrave à utilização destes derivados no desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos.

De seguida, será realizada uma abordagem generalizada da administração de CDs pelas diferentes vias de administração: oral, nasal/pulmonar, retal, dérmica, ocular, parenteral, sendo o foco principal os aspetos relativos à segurança e toxicidade.

#### 4.1. Administração Oral

A biodisponibilidade oral das CDs em animais e humanos é muito baixa (0,1-3%), exceto para o derivado RM- $\beta$ -CD, que em ratos apresentou valores superiores (12%)<sup>[5]</sup>. Devido ao facto do peso molecular das CDs naturais ser elevado e da superfície externa ser hidrofílica, apenas quantidades insignificantes destes compostos são absorvidas no trato gastrointestinal por difusão passiva<sup>[18]</sup>.

As CDs melhoram o perfil de dissolução, aumentam a solubilidade, e a biodisponibilidade de fármacos com permeabilidade alta e solubilidade baixa, e fármacos com permeabilidade e solubilidade baixa (Classe II, e IV, respetivamente, segundo o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) demonstrada na Figura 4)<sup>[1]</sup>.



**Figura 4.** Diagrama do SCB.

Os primeiros resultados obtidos relativamente à toxicidade oral das CDs foram bastante negativos, visto que todos os ratos que ingeriram  $\beta$ -CD morreram ao fim de uma se-

mana, sem razão aparente. Mais tarde foram investigados os resultados obtidos, tendo-se concluído que a causa de morte dos animais se devia a contaminantes tóxicos das CDs, solventes aromáticos e clorados usados na preparação da  $\beta$ -CD<sup>[9]</sup>. A administração oral de CDs em doses elevadas (> 1000 mg/kg/dia) causa perturbações gastrointestinais reversíveis (diarreia e distensão cecal), devido à resposta fisiológica do organismo face à digestão fraca de grande quantidade de hidratos de carbono e de outros nutrientes osmoticamente ativos. Como suplemento alimentar, a dose diária total por via oral da  $\alpha$ -CD poderá ir até 6000 mg/dia, da  $\beta$ -CD até 500 mg/dia, da  $\gamma$ -CD até 10000 mg/dia, e da HP- $\beta$ -CD até 8000 mg/dia<sup>[18]</sup>. Em ensaios pré-clínicos verificou-se que os níveis de *No Observed Effect Level* (NOEL) após administração oral durante um ano para a HP- $\beta$ -CD foram de 500 mg/kg/dia para ratos, e 1000 mg/kg/dia para cães<sup>[19]</sup>. Para a SBE- $\beta$ -CD, a administração oral em ratos e cães durante 3 meses levou a níveis de *No Observed Adverse Effect Level* (NOAEL) de 3600 mg/kg/dia<sup>[5]</sup>. Como tal, a HP- $\beta$ -CD e a SBE- $\beta$ -CD, são consideradas atóxicas quando administradas oralmente<sup>[14]</sup>. Segundo a revisão da EMA<sup>[5]</sup> de 2014, a RM- $\beta$ -CD não tem aplicação para administração por via oral devido à sua toxicidade.

Os valores de PDE e de NOAEL, encontram-se na Tabela 3 e foram calculados tendo em consideração a *Guideline for Residual Solvents* (CPMP/ICH/283/95)<sup>[20]</sup>.

**Tabela 3.** Valores de PDE e NOAEL de CDs administradas por via oral em diferentes espécies<sup>[5]</sup>.

Oral	$\alpha$ -CD	$\beta$ -CD	$\gamma$ -CD	HP- $\beta$ -CD	HP- $\beta$ -CD	HP- $\beta$ -CD	SBE- $\beta$ -CD	SBE- $\beta$ -CD
Espécie	humana	humana	humana	rato	cão	humana	rato	cão
NOAEL (mg/kg/day)	120	10	200	500	1000	160	3600	3600
PDE (mg/kg/day)	120	10	200	10	10	160	14,4	18

(Massa Corporal Humana= 50 kg)

É de salientar que até à data ainda não existe informação disponível relativamente à incidência de efeitos secundários (predominantemente gastrointestinais) em crianças com menos de 2 anos de idade.

## 4.2. Administração Nasal

Em doses elevadas, estes compostos aumentam a permeabilidade na membrana da mucosa nasal por ação direta, melhorando a absorção de fármacos e a sua biodisponibilidade. Estes efeitos devem-se à solubilização dos lípidos da membrana causada pelos complexos de inclusão com CDs, e a capacidade reversível destas moléculas de perturbarem a integridade membranar<sup>[21]</sup>. O derivado HP- $\beta$ -CD não apresenta um efeito significativo na permeabilidade nasal, porém estudos realizados demonstram que consegue potencializar o intensificador de absorção lipofílico 1-[2-(deciltio)etil]azaciclopentano-2-ona (HPE-101), e consequentemente, melhorar a biodisponibilidade dos fármacos administrados. O estudo em causa permitiu concluir que a absorção era bastante superior mediante administração da combinação HPE-101 e HP- $\beta$ -CD (45%) relativamente à administração da CD isolada (3%)<sup>[22]</sup>.

Estudos realizados demonstraram que a administração nasal de complexos de CDs com hormonas esteróides permitiu aumentar a solubilidade aquosa das hormonas, verificando-se um aumento dos seus níveis na corrente sanguínea, e desta forma evitado o metabolismo intestinal e o efeito de 1ª passagem no fígado<sup>[22]</sup>. No entanto, neste estudo particular, o efeito das CDs na membrana do epitélio nasal tem pouca influência no aumento da absorção de fármacos, visto que a cavidade das mesmas se encontra complexada com os esteróides, o que conduz a uma redução da sua capacidade de interação com as membranas<sup>[22]</sup>.

Estudos realizados revelaram que após 5 minutos de exposição de diferentes CDs em várias concentrações na mucosa nasal de ratos, não foi observado nenhum dano no tecido quando exposto a 1,5% (m/V) de  $\beta$ -CD, 5% (m/V) e 20% (m/V) de HP- $\beta$ -CD, assim como em exposições de 30 e 60 minutos com 10% (m/V) de HP- $\beta$ -CD e RM- $\beta$ -CD. No entanto, o dobro da concentração (20%, m/V) de RM- $\beta$ -CD após uma exposição de 5 minutos, conduziu ao aparecimento de danos severos na mucosa nasal. Estudos *in vivo*, permitiram concluir que soluções com uma concentração até 10% (m/V) não induzem danos no tecido, e permitem manter a integridade histológica da mucosa nasal, e que em concentrações até 20% (m/V), de RM- $\beta$ -CD não apresenta manifestações de toxicidade<sup>[23]</sup>. Estudos realizados em coelhos de forma a testar a irritação da mucosa nasal na presença de 10% (m/V) de HP- $\beta$ -CD, permitiram observar a ausência de efeitos secundários locais e sistémicos após tratamento por via nasal durante 3 meses<sup>[22]</sup>. Num outro estudo realizado em humanos com a duração de um mês, foi administrado um spray nasal, duas vezes ao dia, contendo estradiol e progesterona solubilizados com 6,2% (m/V) de RM- $\beta$ -CD, concluindo-se que a combinação foi bem tolerada pelos doentes<sup>[22]</sup>, e que os derivados utilizados conseguiram aumentar a solubilidade aquosa dos fármacos, e, consequentemente, melhorar a sua absorção nasal<sup>[9]</sup>.

Os resultados obtidos permitiram concluir que as CDs são pouco absorvidas quando administradas por via nasal. Porém, em concentrações elevadas, promovem um aumento da permeabilidade dos fármacos através da sua ação direta sobre as membranas das mucosas.

### 4.3. Administração Retal

Estudos realizados em ratos utilizando supositórios hidrofóbicos contendo  $\beta$ -CD, RM- $\beta$ -CD ou HP- $\beta$ -CD, permitiram verificar que cerca de 5% de  $\beta$ -CD, e 26% de HP- $\beta$ -CD sofreram absorção após administração retal<sup>[24]</sup>. Tal facto poderá ser justificado devido há ocorrência de uma alteração na permeabilidade da mucosa retal e/ou a interação entre a  $\beta$ -CD e os glicéridos, que são os principais componentes que constituem a base dos supositórios, permitindo concluir que as CDs poderão atuar como potenciadores da absorção retal de fármacos<sup>[22]</sup>.

Estudos em humanos, utilizando a  $\beta$ -CD como agente solubilizante, mediante complexação do diazepam ou do naproxeno, veiculados em micro-enemas, permitiram verificar um aumento na taxa de absorção retal dos respetivos fármacos. Nenhum dos voluntários reportou qualquer irritação associada à utilização dos micro-enemas, mesmo quando a maior quantidade de  $\beta$ -CD foi utilizada (230 mg)<sup>[5]</sup>.

No sentido de avaliar a segurança do derivado HP- $\beta$ -CD quando administrado por via retal, foi efetuado um estudo de forma a observar a irritação primária retal. Para tal, foi realizada a administração em coelhos de supositórios de polietilenoglicol e supositórios hidrofóbicos contendo 12% (m/V) de HP- $\beta$ -CD. O estudo permitiu concluir que os supositórios de polietilenoglicol causaram irritação grave e erosão da mucosa retal, a qual não foi observada quando os supositórios contendo HP- $\beta$ -CD foram administrados<sup>[22]</sup>. Outro estudo realizado em coelhos, no qual foi utilizada a RM- $\beta$ -CD, verificou-se que esta promoveu um aumento da absorção retal de insulina quando veiculada em supositórios hidrofílicos, no entanto, esta formulação pareceu ser ligeiramente irritante para a mucosa retal. Noutro estudo realizado, foram utilizados supositórios de morfina contendo  $\alpha$ -CD, concluindo-se que esta ciclodextrina pode causar danos na camada de células epiteliais, na medida em que após avaliação histológica, verificou-se o aparecimento de degeneração parcial e descamação da camada mucosa do epitélio. No entanto, constatou-se que a formulação incorporando goma xantana permitiu produzir uma libertação controlada da ciclodextrina e do fármaco, tornando a formulação menos irritante para a mucosa retal<sup>[22]</sup>.

De um modo geral, os estudos realizados permitem concluir que as CDs têm uma ação intensificadora da absorção retal de fármacos. Em relação à segurança na sua utilização

através desta via de administração, é de salientar que a administração de supositórios contendo 230 mg de  $\beta$ -CD e 12% (m/V) de HP- $\beta$ -CD não causou irritação na mucosa retal de humanos e coelhos, respectivamente. No entanto, a  $\alpha$ -CD poderá causar danos na camada celular do epitélio desta mucosa<sup>[5]</sup>.

#### 4.4. Administração Dérmica

Atualmente, os sistemas de libertação dérmica/transdérmica apresentam bastante utilidade quer para aplicação local, quer para administração sistêmica, respectivamente. Um grande desafio a ultrapassar nesta via de administração são as características do extrato córneo, limitando bastante a ação terapêutica da maioria dos fármacos, devido à sua dificuldade em o atravessar. Desta forma, as CDs surgem como uma estratégia que pode ser utilizada na otimização da libertação quer dérmica, quer transdérmica, uma vez que atuam como promotores da permeação de fármacos<sup>[25]</sup>, complexando as moléculas de fármaco hidrofóbico em solução, promovendo um aumento da sua solubilidade e posteriormente, libertando o fármaco livre à superfície das membranas biológicas, onde o fármaco irá sofrer absorção<sup>[26]</sup>.

A interação das CDs com o extrato córneo ocorre essencialmente mediante remoção de fosfolípidos, colesterol, e proteínas, alterando desta forma a função barreira, e podendo causar irritação local, sobretudo quando utilizadas em concentrações elevadas<sup>[25]</sup>. Estudos feitos em cobaias com CDs naturais em concentrações elevadas, concluíram que a irritação cutânea causada por estas moléculas depende da capacidade de extração de lípidos da pele, e aumenta pela ordem  $\gamma$ -CD <  $\alpha$ -CD <  $\beta$ -CD, e que em concentrações até 0,1% (m/V) as CDs naturais são consideradas seguras em administrações transdérmicas<sup>[5]</sup>. De forma a comparar a citotoxicidade de diferentes CDs em aplicações dérmicas, foram realizados estudos *in vitro* em queratinócitos HaCaT<sup>1</sup>, concluindo-se que esta aumentava pela seguinte ordem  $\gamma$ -CD <  $\alpha$ -CD < HP- $\beta$ -CD <  $\beta$ -CD < RM- $\beta$ -CD<sup>[28]</sup>. Quando utilizada a pele de coelho em estudos *in vitro*, concluiu-se que a DM- $\beta$ -CD conseguia aumentar a absorção de fármacos devido à extração de colesterol e triglicéridos, e que este processo fazia com que a função barreira da pele ficasse comprometida<sup>[5]</sup>. No entanto, as CDs conseguem diminuir a irritação local causada pelo contato do fármaco com a pele, ou mesmo a sua decomposição, como é o caso da prostaglandina E<sub>1</sub>. A diminuição da irritação dérmica resulta essencialmente da redução da fração de fármaco-livre, devido ao equilíbrio de inclusão<sup>[9]</sup>.

---

<sup>1</sup> As células HaCaT são uma linha de queratinócitos humanos imortalizados de forma espontânea, que tem sido extensamente utilizada devido à sua capacidade de diferenciação e proliferação *in vitro*<sup>[29]</sup>.

Com o objetivo de avaliar a segurança das CDs em aplicações dérmicas em humanos, foram aplicadas misturas de CDs com água ou vaselina durante 24 horas, e conclui-se que estas tinham uma margem de segurança significativa<sup>[5]</sup>.

As CDs enquanto promotores da permeação de fármacos podem exercer os seguintes efeitos: 1. Aumentar a libertação do fármaco a partir de preparações farmacêuticas transdérmicas; 2. Aumentar o fluxo de fármaco através da pele ou conduzir à sua retenção; 3. Aumentar a libertação localizada, tópica ou nos tecidos alvos através da pele; 4. Combinação de 1, 2 e 3<sup>[25]</sup>. Considera-se um promotor de permeação ideal aquele que apresenta as seguintes características: farmacologicamente inerte, não-tóxico, de ação imediata, não-irritante, não-alérgico, de ação reversível, química e fisicamente compatível com o fármaco que veicula e excipientes da formulação, cosmeticamente aceitável, inodoro, insípido, incolor, acessível e com boas propriedades de solvente<sup>[25,27]</sup>.

Na tabela 4 estão descritos alguns exemplos de complexos de inclusão fármaco-CD utilizados para administração transdérmica.

**Tabela 4.** Exemplos da utilização de CDs na administração transdérmica<sup>[12,25]</sup>.

Ciclodextrina	Efeito	Fármaco
$\alpha$ -CD	Libertação e/ou permeação	Miconazol
$\beta$ -CD	Libertação e/ou permeação	Betametasona Flurbiprofeno Hidrocortisona Indometacina Nitroglicerina Piroxicam Prostaglandina E <sub>1</sub>
$\beta$ -CD	Redução da irritação local	Cloreto de clorpromazina Tretinoína
$\gamma$ -CD	Libertação e/ou permeação	Betametasona Prednisolona
DM- $\beta$ -CD	Libertação e/ou permeação	Indometacina Prednisolona
DM- $\beta$ -CD	Redução da irritação local	Clorpromazina
RM- $\beta$ -CD	Libertação e/ou permeação	Hidrocortisona
HP- $\beta$ -CD	Libertação e/ou permeação	Dexametasona 17 $\beta$ -estradiol Hidrocortisona
CM- $\beta$ -CD	Libertação e/ou permeação	Hidrocortisona
CME- $\beta$ -CD	Libertação e/ou permeação	Prostaglandina E <sub>1</sub>

As CDs promovem a permeação de fármacos lipofílicos (como os corticosteróides), devido ao aumento da atividade termodinâmica do fármaco nos veículos aquosos<sup>[25]</sup>. Este efeito pode ser determinado pela atividade termodinâmica do fármaco no veículo, e pelo coeficiente de partição entre a pele e o veículo. O conceito de atividade termodinâmica representa a tendência que o fármaco tem em “libertar-se” do veículo, e supõe-se que o aumento desta atividade irá conduzir a um aumento da velocidade de permeação do fármaco através da pele. A atividade termodinâmica é diretamente proporcional à solubilidade do fármaco no veículo, atingindo o valor máximo quando a solução está saturada. No entanto, uma quantidade adicional de ciclodextrina conduz a uma diminuição da velocidade de permeação de fármacos lipofílicos, devido à formação de uma quantidade adicional de complexos que não são absorvidos. Assim sendo, é importante utilizar apenas a quantidade de ciclodextrina suficiente para solubilizar o fármaco no veículo aquoso, uma vez que em excesso poderá causar um decréscimo da biodisponibilidade ótima do fármaco<sup>[25]</sup>.

#### 4.5. Administração Ocular

A administração de CDs em preparações oftálmicas está geralmente associada ao aumento da permeabilidade dos fármacos complexados na córnea, uma vez que atuam por interação com as membranas biológicas, facilitando a sua absorção ocular. Diversos estudos têm demonstrado grande aplicabilidade das CDs quando utilizadas nesta via de administração, essencialmente devido a três ações que exercem devido à sua capacidade de complexação<sup>[9]</sup>:

##### **I. Aumento da solubilidade aquosa e biodisponibilidade**

Apesar da maioria das CDs não atuarem diretamente como promotores de permeação ocular, tornam o fármaco mais disponível à superfície da córnea, promovendo deste modo a sua absorção. Em estudos onde a dexametasona foi complexada com 2-HP- $\beta$ -CD, verificou-se que esta formulação era bem tolerada, melhorava a solubilidade aquosa e biodisponibilidade do fármaco, e aumentava a eficácia terapêutica da SA<sup>[30]</sup>. No entanto, quantidades excessivas de CDs podem causar uma redução do fluxo de fármaco através da córnea, precipitação da SA, e conseqüentemente, uma diminuição da sua biodisponibilidade<sup>[30]</sup>. Num estudo realizado com córneas isoladas de coelhos, foi administrado nitrato de pilocarpina complexado com HP- $\beta$ -CD. Verificou-se que houve uma miose (redução do diâmetro da pupila) induzida pela SA mais significativa, como resultado da adição da HP- $\beta$ -CD na formu-

lação, concluindo-se que a biodisponibilidade ocular do nitrato de pilocarpina pode ser melhorada pela adição da HP- $\beta$ -CD<sup>[31]</sup>.

Os sistemas terapêuticos oftálmicos convencionais apresentam uma biodisponibilidade sistêmica baixa após administração ocular, devido à drenagem nasolacrimal e também à dificuldade que existe na distribuição de fármaco no segmento de tecido ocular posterior<sup>[32]</sup>. Devido a estes fatores, estima-se que apenas 5% dos fármacos administrados por esta via sofram absorção. Existem actualmente novas estratégias terapêuticas em oftalmologia para contornar estas dificuldades, com o principal objetivo de prolongar o contato com a superfície ocular, e também de diminuir a *clearance* do fármaco administrado.

## 2. Aumento da estabilidade química de fármacos

As CDs apresentam capacidade de aumentar a estabilidade de vários fármacos quando administrados por via ocular. Um estudo realizado demonstrou que a administração de dipivefrina complexada com HP- $\beta$ -CD e SBE- $\beta$ -CD em córneas de coelhos, onde as variáveis foram a temperatura (37-70°C) e o pH (5,0 e 7,4) que as CDs em estudo não só aumentaram significativamente a estabilidade, como a biodisponibilidade da dipivefrina na via ocular<sup>[33]</sup>.

## 3. Redução da irritação associada a preparações oculares

As CDs permitem também diminuir a irritação ocular, por substituição de aditivos irritantes presentes em formulações oculares, ou por formação de complexos de inclusão com fármacos com propriedades irritantes, como por exemplo, o colírio Voltaren Ophthalmic<sup>®</sup> (diclofenac sódico) que utiliza a HP- $\gamma$ -CD<sup>[34]</sup> para diminuir a irritação provocada por este Anti-Inflamatório Não-Esteróide (AINE). Quando foram administradas HP- $\beta$ -CD na conjuntiva e superfície da córnea de coelhos em concentrações de 12,5% (m/V), conclui-se que estas foram bem toleradas, assim como a SBE- $\beta$ -CD administrada a 10% (m/V)<sup>[5]</sup>. Após 6 meses de exposição de 25 mg/dia de SBE- $\beta$ -CD no olho de coelhos, não se verificou nenhum efeito de toxicidade, e o mesmo aconteceu após a sua administração em cães durante 52 semanas<sup>[35]</sup>. No entanto, isto não é regra geral. No caso das CDs metiladas pode ocorrer irritação, e até mesmo exercerem uma ação corrosiva. Quando foi administrada por via ocular a RM- $\beta$ -CD em concentrações de 5 e 12,5%, conclui-se que era irritante para a conjuntiva e superfície da córnea do olho dos coelhos<sup>[5]</sup>. Vários estudos *in vitro*, utilizando uma linha celular do epitélio da córnea humana, demonstraram que os efeitos tóxicos da DM- $\beta$ -CD podem ocorrer 5 minutos logo após a sua administração<sup>[33]</sup>. Alguns autores inclusive afirma-

ram que a DM- $\beta$ -CD não deve ser utilizada neste tipo de administração, uma vez que este derivado poderá causar citotoxicidade ao nível das membranas presentes na córnea, devido à interação que estabelece com os componentes das mesmas, (o colesterol, os fosfolípidos e as proteínas) causando hemólise. Apesar destas conclusões, está hoje disponível no mercado uma formulação, Clorocil<sup>®</sup>, que tem na sua constituição a DM- $\beta$ -CD e o cloranfenicol<sup>[36]</sup>. Para além da toxicidade das CDs metiladas, a ciclodextrina natural,  $\alpha$ -CD a 4% (m/V) também apresenta efeitos tóxicos quando administrada no epitélio da córnea de coelhos<sup>[5]</sup>.

As principais desvantagens associadas a esta via de administração são o reduzido efeito de diluição do complexo de inclusão, que ocorre apenas através das lágrimas, e o reduzido tempo de contato com a área pré-corneal, o que conduz a uma limitação da aplicação destas moléculas na administração ocular. Além disso, um cuidado adicional a observar na preparação de formulações que contenham CDs para administração ocular, é o facto de que caso a formulação seja acondicionada num recipiente multidose, o agente conservante deve possuir características hidrófilas, no sentido de evitar a sua complexação com a CD em causa, a qual iria conduzir à competição com o fármaco pela entrada na cavidade da CD, podendo levar à precipitação do fármaco e consequentemente à redução da sua eficácia terapêutica<sup>[37]</sup>.

#### 4.6. Administração Parenteral

As CDs devido à sua ação solubilizante mediante complexação permitem incorporar grandes quantidades de fármaco sob a forma de preparações injetáveis. Para que estas moléculas possam ser usadas como veículos de fármacos na administração parentérica deverão apresentar as seguintes características<sup>[2, 9]</sup>:

- Elevada solubilidade aquosa, à temperatura ambiente;
- Não apresentarem toxicidade, mesmo em doses elevadas;
- Ação solubilizante elevada, quando associadas a fármacos lipofílicos;
- Ausência de atividade farmacológica;
- Elevada estabilidade, mesmo quando submetidas ao processo de esterilização pelo calor, inerente à produção de injetáveis;
- Ausência de interação com os componentes das membranas celulares;
- Facilidade de serem obtidas com um grau de pureza elevado e a baixos custos;
- Capacidade de sofrerem biodegradação e eliminação sob a forma de metabolitos de tamanho reduzido;

Na administração parentérica, a utilização de  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD, e de DM- $\beta$ -CD só é aconselhada em concentrações muito baixas. No caso específico da  $\beta$ -CD, devido à sua baixa solubilidade aquosa, e à possibilidade de desenvolver nefrotoxicidade, e no caso da  $\alpha$ -CD e da DM- $\beta$ -CD devido ao efeito hemolítico causado.

As CDs menos problemáticas em termos de toxicidade, para administração parenteral, são a HP- $\beta$ -CD,  $\gamma$ -CD, e SBE- $\beta$ -CD<sup>[4,14]</sup>. A HP- $\beta$ -CD apresenta muitas das características favoráveis à sua utilização na via parenteral, tornando-a um bom excipiente a utilizar neste tipo de formulações. Esta ciclodextrina melhora a solubilidade e estabilidade de muitos fármacos mediante complexação, não apresenta toxicidade, não sofre cristalização por ação do calor, e é obtida por um processo relativamente fácil. Em estudos realizados com o objetivo de avaliar a toxicidade aguda e subcrónica de HP- $\beta$ -CD em ratos e macacos, foi administrada por via intravenosa uma dose de 0,2 g/kg versus uma dose placebo de solução fisiológica salina, concluindo-se que este derivado era atóxico, e não mutagénico, para os animais em estudo<sup>[9]</sup>. Num outro estudo com o mesmo objetivo, foi administrada uma dose de 2g/kg, e de seguida de 10g/kg, chegando-se à mesma conclusão, excetuando dois casos de hematuria que ocorreram quando foi administrada a dose mais elevada. A HP- $\beta$ -CD é uma ciclodextrina com mais solubilidade aquosa e considerada mais segura por via parenteral, quando comparada com a ciclodextrina natural que lhe deu origem ( $\beta$ -CD)<sup>[14]</sup>, uma vez que se admite que o seu valor de *Lethal Dose, 50%* (LD<sub>50</sub>) seja idêntico ao da glucose. A administração de soluções contendo 10 a 40% (m/V) deste derivado não conduziram ao aparecimento *in vivo* de hemólise. Foi possível concluir que a atividade hemolítica deste derivado é menor do que a da  $\beta$ -CD, diminuindo linearmente em função do aumento do grau de substituição. É também de referir, que a irritação muscular causada pela HP- $\beta$ -CD é muito menor do que a observada quando administradas as CDs naturais e os derivados metilados (como por exemplo, a DM- $\beta$ -CD). Outros derivados, devido à ausência de toxicidade, também poderão ser utilizados como excipientes em formulações parentéricas, tais como a SBE- $\beta$ -CD, a G<sub>2</sub>- $\beta$ -CD, os derivados sulfatados da  $\beta$ -CD, e a  $\gamma$ -CD.

Comparando valores de toxicidade das CDs naturais quando administradas por via intravenosa, é de salientar que a  $\beta$ -CD foi a que apresentou uma maior toxicidade, visto apresentar um valor de LD<sub>50</sub> de 0,788 g/kg em ratos, comparativamente à  $\alpha$ -CD, que apresenta um valor de 1g/kg, e a  $\gamma$ -CD de 4g/kg. Aquando da administração intravenosa e intraperitoneal, esta toxicidade manifestou-se no aumento dos níveis plasmáticos de azoto ureico, na perda de peso do fígado, no aumento de peso do rim, e também na diminuição da

atividade de alguns enzimas renais. Do ponto de vista histológico, a nefrotoxicidade poderá ocorrer devido à vacuolização citoplasmática, degeneração mitocondrial, e nefrose<sup>[9]</sup>.

Em relação ao derivado DM- $\beta$ -CD, verificou-se uma toxicidade elevada quando administrado por esta via. Para além de ser considerada irritante para as mucosas e tecidos musculares, quando é dissolvido em água ocorre uma diminuição da tensão superficial, que associada à sua capacidade de complexação, permite que seja possível a remoção de colesterol, e proteínas do eritrócito, causando hemólise, como referido anteriormente, mesmo em concentrações baixas. Por via parenteral em ratos, a DM- $\beta$ -CD apresenta um valor de LD<sub>50</sub> baixo (0,2g/kg)<sup>[9]</sup> e como tal é considerada tóxica por esta via de administração.

Por outro lado, as CDs hidroxietiladas, apresentam uma atividade hemolítica muito baixa, assim como as CDs ramificadas, devido à sua fraca capacidade de remoção do colesterol das membranas dos eritrócitos, e são ainda menos irritantes para os músculos comparativamente à HP- $\beta$ -CD. Devido à ausência de toxicidade da HP- $\beta$ -CD, da HE- $\beta$ -CD e das CDs ramificadas nesta via de administração, é possível a sua incorporação em preparações parenterais como excipientes, com a vantagem de serem produzidas com um grau de pureza bastante elevado.

## **5. Perspetivas Futuras**

Atualmente, existe uma grande versatilidade na utilização das CDs, salientando-se no setor biotecnológico, farmacêutico, e na dermocosmética, nomeadamente na encapsulação de novos fármacos, no melhoramento de diversos aspetos das formulações (textura, sabor, e odor) e no tratamento de algumas patologias, como o glaucoma, e as doenças inflamatórias do intestino. Como perspetivas futuras, é de salientar o potencial terapêutico das CDs em áreas como a vetorização para o cérebro, e em terapia génica, e na aterosclerose.

Enquanto excipientes salienta-se que as CDs ainda não estão incluídas na *guideline excipients in the label and package leaflet of medicinal products for human use* (CPMP/463/00) da Comissão Europeia<sup>[15]</sup>. Dependendo da concentração utilizada, podem influenciar a permeabilidade de tecidos e, por consequência, a biodisponibilidade de alguns fármacos quando administrados por via nasal, retal, dérmica, e ocular. Embora a absorção oral destas moléculas seja reduzida, quando administradas em doses elevadas podem causar perturbações gastrointestinais quer em animais, quer em humanos. Elevadas concentrações de CDs podem causar nefrotoxicidade após administração sistémica em animais, no entanto tal efeito ainda não foi observado após administração em humanos, e os dados de segurança referentes a crianças com menos de 2 anos de idade e grávidas continuam a ser escassos<sup>[38]</sup>. Como tal, aguarda-se

que num futuro próximo estas informações sejam estudadas e esclarecidas. Tanto estas questões, como a informação já disponível sobre a utilização de CDs como excipientes farmacêuticos deverá estar disponível nos folhetos informativos dos produtos que as contêm, tendo em conta os dados de segurança e toxicidade disponíveis até à data. Assim sendo, é urgente que seja realizada uma revisão e alteração da *guideline* em vigor, CPMP/463/00, e que as CDs sejam adicionadas à lista dos excipientes que precisam de estar mencionados nos rótulos e folhetos informativos, de forma a promover maior coerência na informação referente à segurança dos produtos contendo CDs. Esta revisão terá impacto na produção de alguns produtos já com AIM no mercado e que contenham estes excipientes, na medida em que será necessário realizar alterações nos rótulos, e folhetos informativos, de forma a estarem em concordância com a nova *guideline*. Desta forma, haverá uma maior divulgação e acesso de informação aos dados de toxicidade destes excipientes nos medicamentos que os incorporam<sup>[38]</sup>. Uma vez que na *guideline* que está em vigor<sup>[24]</sup> não existe nenhuma informação relativa às CDs nos rótulos e folhetos informativos, a EMA sugere que as informações mencionadas na tabela 5 sejam indicadas nos folhetos informativos<sup>[5]</sup>:

Tabela 5. Proposta de informação que deverá constar no folheto informativo.

CD	Via de administração	Informação no FI	Comentários (para profissionais de saúde)
$\alpha$ -CD $\beta$ -CD $\gamma$ -CD SBE- $\beta$ -CD	Todas	<ul style="list-style-type: none"> <li>A quantidade de CDs (xx mg);</li> <li>“Se a criança tiver menos de 2 anos de idade antes de tomar este medicamento fale com o seu médico ou farmacêutico, devido aos efeitos secundários que poderão surgir”;</li> <li>Informação sobre a possível interação fármaco-CD.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Prevê-se que doses baixas destas CDs não causem efeitos secundários;</li> <li>A interação fármaco-CD deverá estar documentada da seção 4.5 do RCM.</li> </ul>
HP- $\beta$ -CD	Oral	<ul style="list-style-type: none"> <li>Como as da 1ª seção de CDs;</li> <li>Poderão ocorrer perturbações gastrointestinais como diarreia.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>As CDs presentes em doses elevadas (&gt; 1000 mg/kg/dia) poderão causar efeitos secundários reversíveis como diarreia e distensão cecal. (efeito secundário testado em animais)</li> </ul>
RM- $\beta$ -CD	Parentérica	<ul style="list-style-type: none"> <li>Como as da 1ª seção de CDs;</li> <li>Em caso de doença renal, antes de tomar este medicamento, fale com o seu médico.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Poderão levar a efeitos secundários extra-renais;</li> <li>Em doentes com disfunção renal severa, poderá ocorrer acumulação das CDs;</li> <li>Até à data não há nenhum caso de lesão renal causada por CDs em humanos.</li> </ul>
RM- $\beta$ -CD	Ocular Dérmica Retal Nasal	<ul style="list-style-type: none"> <li>Como as da 1ª seção de CDs;</li> <li>Poderá ocorrer irritação.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Em concentrações elevadas (&gt;&gt; 1%), apresentam toxicidade no epitélio da córnea de coelhos;</li> <li>Em concentrações elevadas (&gt;&gt; 1%), podem causar danos na pele;</li> <li>Em doses elevadas (&gt;&gt; 5 mg/kg) podem causar danos no epitélio da mucosa retal;</li> <li>Em concentrações elevadas (&gt; 10%) demonstraram que podem causar danos na mucosa nasal de ratos.</li> </ul>

## **6. Conclusões**

A crescente procura do conhecimento científico levou a uma evolução no aparecimento de sistemas específicos de libertação modificada de fármacos, bem como à produção e utilização de excipientes capazes de ultrapassar as limitações impostas por um grande número de moléculas já descobertas e utilizadas com potencial terapêutico. Entre estes, são de salientar as CDs, que apresentam imensas aplicações em diferentes vias de administração, entre elas a capacidade de complexarem moléculas hidrófobas, e modificarem o perfil de libertação de muitos fármacos.

Apesar da extensa aplicação das CDs, a velocidade de evolução na sua utilização e todo o esforço científico e tecnológico que têm sido realizados, as dificuldades em atualizações regulamentares persistem. No entanto, estas não deverão representar um obstáculo intransponível para a indústria farmacêutica aumentar o número de formulações contendo estes excipientes nos próximos anos. Assim sendo, esforços acrescidos deverão ser realizados no sentido de reconhecer a necessidade de divulgação da sua presença nas formulações farmacêuticas que as contêm, bem como a presença de dados de toxicidade em rótulos e folhetos informativos de medicamentos. Neste sentido, comprovada a diversos níveis a versatilidade das CDs naturais e modificadas em aplicações terapêuticas, é necessário um maior investimento na área regulamentar, de forma a que esta possa acompanhar o desenvolvimento tecnológico.

## **7. Referências Bibliográficas**

- [1] Brewster, M; Loftsson, T; Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers; *Adv Drug Deliv Rev.*; 59 (7):645-66; 2007.
- [2] Szejtli, J; Past, present and future of cyclodextrin research; *Pure Appl. Chem.*; 76 (10): 1825-45; 2004.
- [3] Del Valle, E; Cyclodextrins and their uses: a review; *Process Biochem.*; 39 (9): 1033-46; 2004.
- [4] Loftsson, T; Duchêne, D; Cyclodextrins and their pharmaceutical applications; *Int J Pharm.*; 329 (1-2):1-11; 2007.
- [5] EMA/CHMP/333892/2013; Background review for cyclodextrins used as excipients In the context of the revision of the guideline on 'Excipients in the label and package leaflet of medicinal products for human use' (CPMP/463/00 Rev. 1); 2014; Disponível em: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Report/2014/12/WC500177936.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Report/2014/12/WC500177936.pdf) (consultado a 28 de novembro de 2015).
- [6] RCM do medicamento Bridion®; Disponível em: [http://ec.europa.eu/health/documents/communityregister/2010/2010020974878/anx\\_74878\\_pt.pdf](http://ec.europa.eu/health/documents/communityregister/2010/2010020974878/anx_74878_pt.pdf) (consultado a 17 de fevereiro de 2016).
- [7] “Relatório de Avaliação Prévia de Medicamento para Uso Humano em Meio Hospitalar” do medicamento Bridion®; Disponível em: [http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/MEDICAMENTOS\\_USO\\_HUMANO/AVALIACAO\\_ECONOMICA\\_E\\_COMPARTICIPACAO/MEDICAMENTOS\\_USO\\_HOSPITAL/DL\\_N\\_195\\_2006\\_3\\_OUT/RELATORIOS\\_AVALIACAO\\_PREVIA/PDF/ParecerNet\\_Bridion.pdf](http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/MEDICAMENTOS_USO_HUMANO/AVALIACAO_ECONOMICA_E_COMPARTICIPACAO/MEDICAMENTOS_USO_HOSPITAL/DL_N_195_2006_3_OUT/RELATORIOS_AVALIACAO_PREVIA/PDF/ParecerNet_Bridion.pdf) (consultado a 17 de fevereiro de 2016).
- [8] Statistical Overview on 2015 in Cyclodextrin Research and Technology; 30 (1); 2016; Disponível em: [http://cyclolab.hu/images/CDNews/cdn\\_2016\\_jan.pdf](http://cyclolab.hu/images/CDNews/cdn_2016_jan.pdf) (consultado a 17 de fevereiro de 2016).
- [9] Veiga, F; Pecorelli, C; Ribeiro, L; As ciclodextrinas em Tecnologia Farmacêutica; MinervaCoimbra; Capítulo I (11-32), Capítulo III (89-100), Capítulo IV (108-112; 128-132; 138-139); 2006.
- [10] Jambhekar, S; Breen P; Cyclodextrins in pharmaceutical formulations II: solubilization, binding constant, and complexation efficiency; *Drug Discov Today*; 21 (2):363-8; 2016.

- [11] Loftsson, T; Masson, M; Cyclodextrins in topical drug formulations: theory and practice; *Int J Pharm.*; 225 (1-2):15-30; 2001.
- [12] Uekama, K; Hirayama, F; Irie T; Cyclodextrin Drug Carrier Systems; *Chem Rev.*; 98 (5):2045-76; 1998.
- [13] Loftsson, T; Brewster, M; Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins. I. Drug Solubilization and Stabilization; *J Pharm Sci.*; 85 (10):1017-25; 1996.
- [14] Jambhekar, S; Breen, P; Cyclodextrins in pharmaceutical formulations I: structure and physicochemical properties, formation of complexes, and types of complex; *Drug Discov Today*; 21 (2): 356-62; 2016.
- [15] CPMP/463/00; Guideline on excipients in the label and package leaflet of medicinal products for human use; July 2003; Disponível em:  
[http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC50003412.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC50003412.pdf) (consultado a 27 de novembro de 2015).
- [16] Cunha-Filho, M; Sá-Barreto, L; Utilização de ciclodextrinas na formação de complexos de inclusão de interesse farmacêutico; *J Basic Appl Pharm Sci.*; 28 (1): 1-9; 2007.
- [17] Miranda, J; Martins, T; Veiga, F; *et al.*; Cyclodextrins and ternary complexes: technology to improve solubility of poorly soluble drugs; *Braz J Pharm Sci.*; 47 (4): 665-81; 2011.
- [18] Loftsson T, Brewster M; Pharmaceutical applications of cyclodextrins: basic science and product development; *J Pharm Pharmacol.*; 62(11):1607-21; 2010.
- [19] Gould, S; Scott, R; 2-Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin (HP-beta-CD): a toxicology review; *Food Chem Toxicol.*; 43 (10):1451-9; 2005.
- [20] ICH - Q3C(R5), CPMP/ICH/283/95; Guideline for Residual Solvents; February 2011; Disponível em:  
[http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q3C/Step4/Q3C\\_R5\\_Step4.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q3C/Step4/Q3C_R5_Step4.pdf) (consultado a 14 de janeiro de 2016).
- [21] Challa, R; Ahuja, A; Ali, J; *et al.*; Cyclodextrins in drug delivery: an updated review; *AAPS PharmSciTech.*; 6 (2): E329-57; 2005.
- [22] Irie, T; Uekama, K; Pharmaceutical applications of cyclodextrins. III. Toxicological issues and safety evaluation; *J Pharm Sci.*; 86 (2):147-62; 1997.
- [23] Asai, K; Morishita, M; Katsuta, H; *et al.*; The effects of water-soluble cyclodextrins on the histological integrity of the rat nasal mucosa; *Int J Pharm.*; 246 (1-2): 25-35; 2002.
- [24] EMA/CHMP/495747/2013, (CPMP/463/00 Rev. 1); Questions and answers on cyclodextrins in the context of the revision of the guideline on 'Excipients in the label and package leaflet of medicinal products for human use'; 2014; Disponível em:

[http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2014/12/WC500177944.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2014/12/WC500177944.pdf) (consultado a 12 de janeiro de 2016).

[25] Martins, M; Veiga, F; Promotores de permeação para a libertação transdérmica de fármacos: uma nova aplicação para as ciclodextrinas; *Braz J Pharm Sci.*; 38 (1): 33-54; 2002.

[26] Loftsson, T; Másson, M; Sigurdsson, H; *et al.*; Cyclodextrins as co-enhancers in dermal and transdermal drug delivery; *Pharmazie*; 53 (2): 137-9; 1998.

[27] Sinha, V; Kaur, M; Permeation Enhancers for Transdermal Drug Delivery; *Drug Dev Ind Pharm.*; 26 (11): 1131-40; 2000.

[28] Hipler, UC; Schönfelder, U; Hipler C; *et al.*; Influence of cyclodextrins on the proliferation of HaCaT keratinocytes in vitro; *J Biomed Mater Res A.*; 83 (1):70-9; 2007.

[29] Wilson, VG; Growth and differentiation of HaCaT keratinocytes; *Methods Mol Biol.*; 1195: 33-41; 2014.

[30] Loftsson, T; Stefánsson, E; Cyclodextrins in eye drop formulations: enhanced topical delivery of corticosteroids to the eye; *Acta Ophthalmol Scand.*; 80 (2): 144-50; 2002.

[31] Aktas, Y; Ünlü, N; Orhan, M; *et al.*; Influence of hydroxypropyl beta-cyclodextrin on the corneal permeation of pilocarpine; *Drug Dev Ind Pharm.*; 29 (2): 223-30; 2003.

[32] Ribeiro, A; Figueiras, A; Veiga, F; Improvements in Topical Ocular Drug Delivery Systems: Hydrogels and Contact Lenses; *J Pharm Pharm Sci.*; 18 (5): 683-95; 2015.

[33] Jarho, P; Järvinen, K; Urtti, A; *et al.*; The use of cyclodextrins in ophthalmic formulations of dipivefrin; *Int J Pharm.*; 153 (2): 225-33; 1997.

[34] RCM do Voltaren Ophthalmic®; Disponível em: [http://www.infarmed.pt/infomed/download\\_ficheiro.php?med\\_id=9289&tipo\\_doc=rcm](http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=9289&tipo_doc=rcm) (consultado a 12 de janeiro de 2016).

[35] Stella V.J; He, Q; Cyclodextrins. *Toxicol Pathol.*; 36 (1): 30-42; 2008.

[36] RCM do Clorocil®; Disponível em: [http://www.infarmed.pt/infomed/download\\_ficheiro.php?med\\_id=2014&tipo\\_doc=rcm](http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=2014&tipo_doc=rcm) (consultado a 12 de janeiro de 2016).

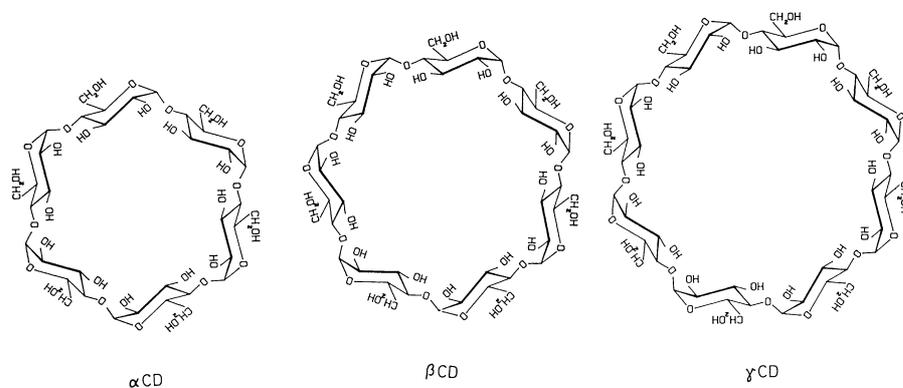
[37] Cal, K; Centkowska, K; Use of cyclodextrins in topical formulations: practical aspects; *Eur J Pharm Biopharm.*; 68(3): 467-78; 2008.

[38] EMA/CHMP/SWP/888239/2011, (CPMP/463/00); Concept paper on the need for revision of the guideline on excipients in the label and package leaflet of medicinal products for human use; 2012; Disponível em:

[http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2012/03/WC500123804.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2012/03/WC500123804.pdf) (consultado a 28 de novembro de 2015).

## Anexo

### Anexo I - Estrutura e Propriedades Físico-Químicas



**Figura I.** Representação esquemática da  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD e  $\gamma$ -CD<sup>[1]</sup>.

**Tabela I.** Propriedades físico-químicas das CDs naturais mais utilizadas<sup>[1,9]</sup>.

Propriedades físico-químicas	$\alpha$ -CD	$\beta$ -CD	$\gamma$ -CD
Unidades de glicose	6	7	8
Massa molecular (g/mol)	972	1135	1297
Solubilidade aquosa (g/100ml a 25°C)	14,5	1,85	23,2
$[\alpha]_D^{25}$ (25 °C)	150 $\pm$ 0,5	162,5 $\pm$ 0,5	177,4 $\pm$ 0,5
Diâmetro interno da cavidade (Å)	4,7 - 5,3	6,0 - 6,5	7,5 - 8,3
Altura da estrutura tronco-cônica (Å)	7,9 $\pm$ 0,1	7,9 $\pm$ 0,1	7,9 $\pm$ 0,1
Volume aproximado da cavidade (Å <sup>3</sup> )	174	262	427
Forma dos cristais	lâminas hexagonais	paralelogramas monocíclicos	prismas quadráticos
pKa (a 25°C)	12,333	12,202	12,081

(1.  $[\alpha]$  é a rotação específica de um composto químico quiral)