

Carina Patrícia Campos Meireles da Cunha

Novos sistemas farmacêuticos para administração ocular: estado da arte

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2013

Carina Patrícia Campos Meireles da Cunha

Novos sistemas farmacêuticos para administração ocular: estado da arte

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2013

Carina Patrícia Campos Meireles da Cunha

Novos sistemas farmacêuticos para administração ocular: estado da arte

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para
obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

(Carina Patrícia Campos Meireles da Cunha)

Resumo

O globo ocular apresenta uma estrutura anatômica e fisiológica bastante complexa, com várias barreiras que dificultam a penetração dos fármacos administrados para o tratamento das diversas afecções oculares. Geralmente, os fármacos são administrados recorrendo às formas farmacêuticas convencionais, as quais apresentam vários inconvenientes, nomeadamente a incapacidade de ultrapassar as várias barreiras oculares, serem rapidamente eliminados pelas lágrimas e não protegerem os fármacos contra a degradação causada por agentes externos.

Os novos sistemas farmacêuticos de administração ocular surgem como uma alternativa terapêutica no sentido de ultrapassar as referidas desvantagens associadas aos sistemas convencionais. A presente dissertação apresenta uma revisão pormenorizada destes novos sistemas (microemulsões, nanoemulsões, lipossomas, nanopartículas poliméricas e lipídicas, hidrogel, implantes e ciclodextrinas) e as aplicações mais relevantes na vectorização e libertação controlada de fármacos na administração ocular. São também citados vários estudos realizados com o intuito de demonstrarem as vantagens que surgem com a utilização destes sistemas. Os novos sistemas farmacêuticos mais promissores são os lipossomas e as nanopartículas. Os lipossomas, apesar da sua instabilidade a longo prazo, possuem a capacidade de interagir com os tecidos oculares permitindo uma maior absorção do fármaco, logo uma maior eficácia terapêutica. As nanopartículas são sistemas facilmente produzidas a grande escala, a baixo custo e com elevada estabilidade. A nível ocular, permitem que ocorra uma libertação controlada, aumento da penetração e conseqüentemente aumento da eficácia terapêutica.

Abstract

The human eye is a very complex physiological and anatomical structure, with many barriers that hinder the penetration of drugs used in the treatment of various ocular diseases. Generally, the drugs are administered using conventional dosage forms, which present several drawbacks, including the inability to overcome several ocular barriers, there are quickly eliminated by lachrymal fluid secretion (i.e. tears) and not protect the drug against degradation caused by external agents.

The novel drug delivery systems for ocular administration emerges as an alternative therapy in order to overcome the disadvantages associated with conventional systems. This paper presents a detail review of novel systems (microemulsions, nanoemulsions, liposomes and polymeric nanoparticles lipid hydrogel implants and cyclodextrins), and the most relevant applications to carrier and controlled drug release in ocular administration. Various studies in order to demonstrate the advantages that arise from the use of novel drug delivery systems. The most promising ones are liposomes and nanoparticles. Liposomes, although instability over time, have the capability to interact with ocular tissue allowing greater absorption of the drug then increased therapeutic efficacy. The nanoparticles are easily produced on a large scale at low cost and with high stability. In ocular administration, permit controlled release occurs, and consequently increased penetration increased therapeutic efficacy.

Agradecimentos

Agradeço aos meus pais, Mário e Teresa, por todo o apoio, ajuda, carinho e compreensão ao longo destes cinco anos. Assim, por tudo aquilo que me ensinaram e mostraram. Por tudo aquilo que eles significam. E por tudo aquilo que sempre me proporcionaram.

À Professora Doutora Carla Martins Lopes, pelo facto de ter sido uma óptima docente ao longo do meu percurso, por ensinar, por cativar. Pelo apoio, pela orientação fantástica que me deu, pelas vezes que me deixou mais à vontade e por todo o tempo despendido e disponibilidade.

Aos meus irmãos, Filipe e João, pela paciência, pela compaixão e por todas as vezes que apenas nos divertimos.

À minha família por me compreender, me apoiar e por toda a preocupação sempre demonstrada.

Ao João, pela paciência que sempre tem tido, pelo apoio nos momentos de maior nervosismo e por estar sempre lá quando eu mais preciso. Por todas as palavras de incentivo. Mas também pelo carinho, ternura e afecto.

Índice Geral

	Pág.
Resumo	i
Abstract	ii
Agradecimentos	iii
Índice de Figuras	vii
Índice de Tabelas	viii
Lista de Abreviaturas	ix
I. Introdução	1
II. Anatomia e fisiologia do globo ocular	4
2.1. Estruturas do globo ocular	4
2.1.1. Córnea	5
2.1.2. Conjuntiva	7
2.1.3. Retina	8
2.1.4. Esclerótica	9
2.1.5. Coróide	9
2.1.6. Músculo ciliar	10
2.1.7. Hialóide	10
2.1.8. Íris	10
2.1.9. Nervo óptico	11
2.1.10. Papila, Pupila e Cristalino	11
2.2. Fluídos oculares	11
2.2.1. Líquido lacrimal	11

2.2.2. Humor aquoso e vítreo	13
2.3. Barreiras oftálmicas à penetração farmacológica	14
2.3.1. Barreira sanguínea ocular	15
2.3.2. Barreira aquosa ocular	15
2.3.3. Barreira hemato-retiniana	16
2.3.4. Sistema de drenagem nasolacrimal	17
III. Novos sistemas farmacêuticos para administração ocular	19
3.1. Microemulsão/nanoemulsão	21
3.1.1. Microemulsão	24
3.1.2. Nanoemulsão	25
3.1.3. Aplicação para administração ocular	27
3.2. Lipossomas	29
3.2.1. Aplicação para administração ocular	33
3.3. Nanopartículas	35
3.3.1. Nanopartículas lipídicas	37
3.3.2. Nanopartículas poliméricas	40
3.3.3. Aplicação para administração ocular	42
3.4. Hídrogel	44
3.4.1. Aplicação para administração ocular	47
3.5. Implantes	48
3.5.1. Aplicação para administração ocular	50
3.6. Ciclodextrinas	51
3.6.1. Aplicação para administração ocular	54

IV. Conclusão	56
V. Referências Bibliográficas	58

Índice de Figuras

	Pág.
Figura 1 - Estrutura do globo ocular	5
Figura 2 - Estratos presentes na córnea	6
Figura 3 - Estrutura do filme lacrimal pré-corneal	12
Figura 4 - Injeção intravítrea	15
Figura 5 - Representação da estrutura da emulsão: a) O/W, b) W/O, c) W/O/W e d) O/W/O	24
Figura 6 - Representação esquemática do envelhecimento de Ostwald	26
Figura 7 - Conformação da vesícula lipossomal	30
Figura 8 - Representação esquemática da estrutura perfeita das SLN e da estrutura imperfeita dos NLC	38
Figura 9 - Modelos representativos da incorporação do fármaco nas SLN	39
Figura 10 - Modelos representativos da incorporação do fármaco nos NLC	39
Figura 11 - Representação esquemática das nanopartículas poliméricas a) nanoesfera e b) nanocápsula	41
Figura 12 - Representação esquemática do hidrogel	44
Figura 13 - Representação das ciclodextrinas: a) estrutura atômica, b) estrutura molecular.	52

Índice de Tabelas

	Pág.
Tabela 1 - Vantagens e desvantagens das formas farmacêuticas de liberação convencional para a administração ocular	19
Tabela 2 - Características mais relevantes das microemulsões e das nanoemulsões	22
Tabela 3 - Estudo da eficácia das microemulsões e nanoemulsões para administração ocular	27
Tabela 4 - Caracterização dos lipossomas segundo o diâmetro e o número de camadas	30
Tabela 5 - Vantagens e desvantagens da utilização dos lipossomas para a administração intravítrea	32
Tabela 6 - Estudo da eficácia dos lipossomas para a administração ocular	33
Tabela 7 - Estudo da eficácia das nanopartículas lipídicas e poliméricas para administração ocular	43
Tabela 8 - Estudo da eficácia de hidrogéis para administração ocular	47
Tabela 9 - Estudo da eficácia de implantes para administração ocular	50
Tabela 10 - Estudo da eficácia de ciclodextrinas para administração ocular	54

Lista de Abreviaturas

Ep - epitélio

En - endotélio

BM - membrana de Bowman

SP - estroma

DM - membrana de Descemet

µm - micometro

W/O - water in oil - água em óleo

O/W - oil in water - óleo em água

O/W/O - oil in water in oil - óleo em água em óleo

W/O/W - water in oil in water - água em óleo em água

MLV - Vesículas Multilamelares

LUV - Vesículas Unilamelares

SUV - Vesículas Unilamelares Pequenas

GUV - Vesículas Unilamelares Gigantes

OLV - Vesículas Oligolamelares

MUV - Vesículas Unilamelares Médias

nm - nanometro

GRAS - generally regarded as safe

SLN - nanopartículas de lípidos sólidos

NLC - vectores lipídicos nanoestruturados

PEG - polietilenoglicol

PLGA - poli-lactídeo-co-licólido

I. Introdução

O tratamento farmacológico das várias afecções do globo ocular baseia-se, na sua maioria, na administração de colírios, ou seja, formas farmacêuticas líquidas. Para que as preparações oftálmicas sejam eficazes, o fármaco deve penetrar através das túnicas e dos anexos do globo ocular e exercer a resposta terapêutica pretendida. Geralmente, estas preparações misturam-se rapidamente com o líquido lacrimal, sendo a sua permanência na córnea impedida pela lavagem efectuada pelas lágrimas.

Desta forma, quando se instilam gotas oculares, apenas uma pequena quantidade de fármaco, menos de 5%, consegue penetrar na córnea e na conjuntiva e atingir os tecidos intraoculares (Järvinen *et al.*, 1995). Para além da sua remoção pelo líquido lacrimal, a baixa concentração do fármaco resulta da anatomia e fisiologia complexa que o globo ocular apresenta, sendo constituído por vários tipos de barreiras (Kumar *et al.*, 2011). Estas barreiras impedem a penetração do fármaco, especialmente se a sua utilização for para a parte posterior do olho (Kumar *et al.*, 2011). Adicionalmente, existem outras características que influenciam a disposição e a eliminação do fármaco no globo ocular, tais como (Sireesha *et al.*, 2011): (i) a presença de microrganismos, (ii) as características físico-químicas do fármaco, (iii) as propriedades do sistema farmacêutico, (iv) a irritação ocular. De acordo com as considerações apresentadas, e com o objectivo de ultrapassar as limitações referidas e aumentar a biodisponibilidade dos fármacos a nível ocular têm sido desenvolvidos novos sistemas de veiculação de fármacos para administração ocular.

Actualmente, existem diversos sistemas farmacêuticos que promovem uma alteração do perfil de libertação do fármaco a nível ocular, como por exemplo, as nanopartículas, as micropartículas, os lipossomas, os niossomas, os discomas, os farmacossomas, os implantes, os hidrogéis, os dendrímeros, sistemas cuja libertação é controlada por iontoforese, o revestimento de colagénio, os sistemas matriciais poliméricos, as lentes de contacto, as ciclodextrinas, as microemulsões, as nanosuspensões e a micro agulha (Wadhwa *et al.*, 2009). O presente trabalho de revisão visa compilar o estado de arte dos principais sistemas de libertação destinados à administração ocular de fármacos.

As preparações farmacêuticas para administração oftálmica devem possuir algumas características específicas, das quais se destacam (Kumar *et al.*, 2012): (i) adequada

penetração na córnea, estando esta condicionada pelo tempo de contacto com o tecido da córnea; (ii) simplicidade na administração e (iii) não ser desconfortável para o utente.

Durante a preparação das formas farmacêuticas de administração oftálmica é imprescindível serem respeitados determinados requisitos (Prista *et al.*, 2009). As condições de preparação destes produtos assentam em normas precisas e rigorosas, garantindo que a preparação oftálmica seja dotada de boa estabilidade, bem tolerada e inócua para a mucosa ocular, mas também fisiologicamente activa. O respeito destas normas evita a ocorrência de determinadas situações graves a nível ocular, incluindo a cegueira.

Segundo Prista *et al.* (2009), as preparações para administração oftálmica devem apresentar os seguintes requisitos: precisão de composição; limpidez (excepção caso se trate de uma suspensão); isotonia; pH compatível com o líquido lacrimal e esterilidade.

A precisão da composição é uma característica extremamente importante que deve ser respeitada, uma vez que neste tipo de preparações são normalmente utilizadas quantidades de fármaco baixas. Desta forma, um pequeno erro de pesagem pode significar uma alteração considerável na dose administrada.

A limpidez, requisito especificado na Farmacopeia Portuguesa 9.0, é conseguida através da filtração das formulações apresentadas na forma de solução, não devendo apresentar partículas visíveis a olho nu.

A mucosa ocular é sensível a variações da pressão osmótica. Desta forma, as formulações para instilação ocular devem ser isotónicas com o líquido lacrimal, de modo a não perturbar o tónus e não causar irritação para a mucosa ocular.

A mucosa ocular é igualmente sensível a alterações do pH. O líquido lacrimal apresenta um pH fisiológico compreendido entre 7,4 - 7,7. Do ponto de vista fisiológico, quanto mais próximo for o pH da formulação melhor tolerada é a mesma. No entanto, o pH das preparações habitualmente prescritas para aplicação oftálmica é muito diferente do valor ideal por várias razões, nomeadamente por questões de estabilidade química e resposta farmacológica. Nestas situações, é utilizado o pH que confira ao fármaco a melhor actividade terapêutica, estabilidade e solubilidade. Caso se utilize preparações de pH diferente do fisiológico, o poder tampão das lágrimas, conferido pelo ácido carbónico, ácidos orgânicos e as proteínas, é suficiente para neutralizar as preparações com um

amplo intervalo de pH (3,5 - 10,5), sempre que não estejam tamponadas. Atendendo ao facto de que o volume instilado é pequeno, aproximadamente 0,05 - 0,1 ml, e a secreção lacrimal induzida nas condições de pH não fisiológico, estes factores permitem um ajuste relativamente rápido ao valor do pH das lágrimas.

A esterilidade das preparações oftálmicas é um requisito imposto pelas farmacopeias. A presença de microrganismos na preparação pode causar lesões oculares no utente. O contaminante que causa maior perigo a nível ocular é a *Pseudomonas aeruginosa*, responsável pela secreção de toxinas e compostos antibacterianos para além de se desenvolver rapidamente em diversos meios.

II. Anatomia e fisiologia do globo ocular

O olho é um órgão que permite visualizar, devido à sua capacidade de estimular o sistema nervoso ao refractar a luz e, desta forma, produzir uma imagem focada. O globo ocular apresenta uma anatomia complexa, sendo composto por diferentes estruturas (Kumar *et al.*, 2011).

Adicionalmente, este órgão apresenta vários mecanismos que dificultam a absorção dos fármacos de aplicação tópica. Após a sua administração, uma quantidade significativa do fármaco é rapidamente eliminada através do fluido lacrimal pré-corneal, havendo a drenagem da preparação através da lacrimação. Outra parte da preparação é absorvida para a conjuntiva ocular, por esta ser extremamente irrigada. Estão também presentes várias barreiras, que separam as diversas estruturas do globo ocular e impedem a absorção sistémica do fármaco (Urtti e Salminen, 1993 (a)). Importa realçar que as barreiras referidas se situam principalmente na parte anterior e posterior do olho, possuindo como função a restrição e o controlo da passagem de fluidos e solutos para as diferentes estruturas oculares (Hornof *et al.*, 2005).

Atendendo às considerações mencionadas, torna-se fundamental fazer uma breve referência às várias estruturas presentes no globo ocular para melhor compreender a forma como podem influenciar a acção dos fármacos a nível ocular.

2.1. Estruturas do globo ocular

O globo ocular recebe esta designação por ter a forma de um globo, que, por sua vez, fica acondicionado no interior de uma cavidade óssea e protegido pelas pálpebras.

A Figura 1 apresenta as várias estruturas do globo ocular. O globo ocular é dividido em três camadas, a camada mais externa, constituída pela córnea e pela esclerótica; a camada do meio anterior, da qual fazem parte a íris, a coróide e o corpo ciliar; e a camada interna que possui a retina. A retina é uma extensão do sistema nervoso central (Wadhwa *et al.*, 2009).

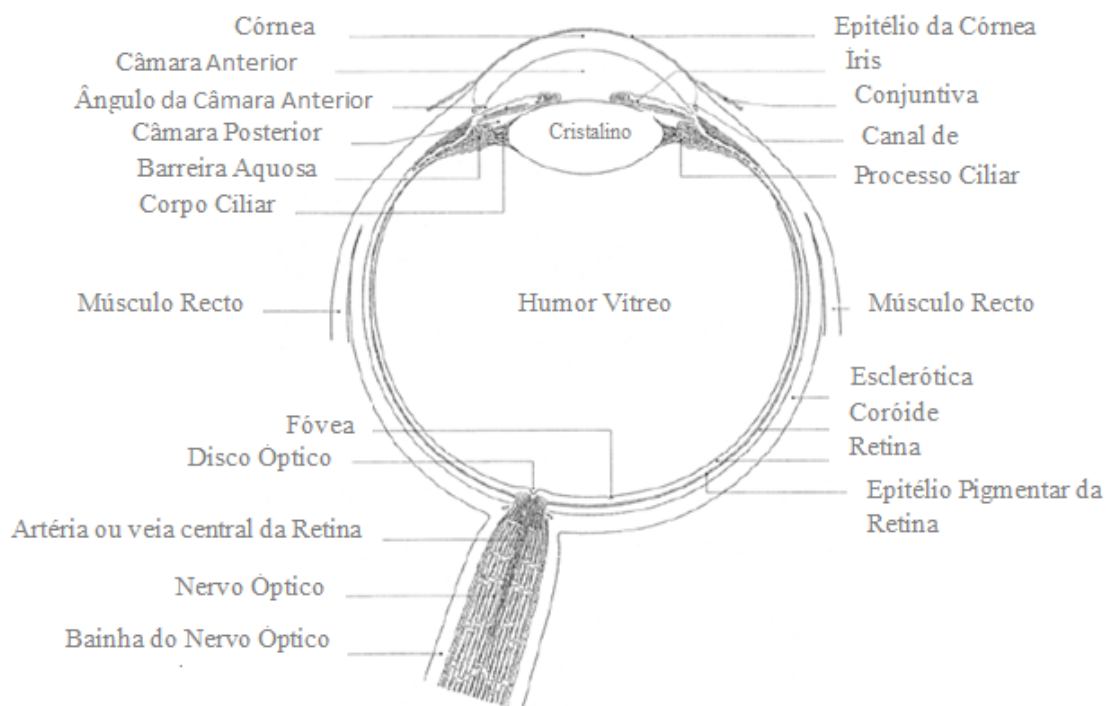


Figura 1 - Estrutura do globo ocular (adaptado de Kuno e Fujii, 2011).

2.1.1. Córnea

A córnea é um tecido transparente e avascularizado, sendo o oxigénio e os nutrientes fornecidos pelo líquido lacrimal e pelo humor aquoso. É uma estrutura extremamente rica em terminações nervosas sensitivas, tornando-a num dos tecidos mais sensíveis aos estímulos dolorosos (Wadhwa *et al.*, 2009; Ludwig, 2005; Prista *et al.*, 2008). As lágrimas, para além do fornecimento de oxigénio, são responsáveis pela sua lubrificação e actividade metabólica da córnea e de outras estruturas oculares (Ludwig, 2005). Atendendo que a córnea tem uma forma convexa, é a principal estrutura responsável pela refração dos raios de luz de forma a concentrarem-se na retina (Kumar *et al.*, 2011).

A função da córnea consiste na formação de uma barreira mecânica e química, responsável pela inibição do transporte de substâncias exógenas, tal como os fármacos para o olho e, desta forma, é responsável pela protecção dos seus tecidos (Hornof *et al.*, 2005). Esta estrutura é constituída por três estratos, o epitélio, o estroma e o endotélio

(Figura 2). É fundamental ter em consideração que cada uma dessas camadas possui polaridade distinta, sendo estruturas limitantes à penetração dos fármacos (Pederson, 2006; Kuno e Fujii, 2011).

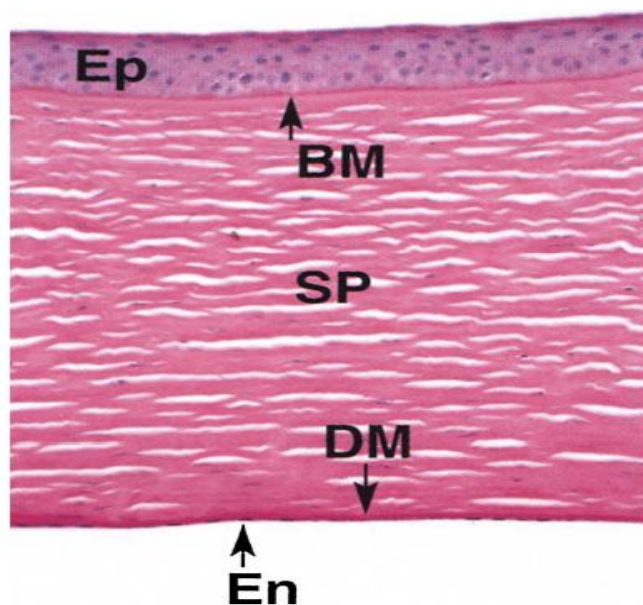


Figura 2 - Estratos presentes na córnea (adaptado de Hornof *et al.*, 2005). Legenda: Ep (epitélio), BM (membrana de Bowman), SP (estroma), DM (membrana Descemet), En (endotélio).

A córnea é ainda constituída por células basais, que são responsáveis pela protecção contra os microrganismos e, conseqüentemente, formam uma barreira à penetração dos fármacos (Ludwig, 2005). Segundo Rojanasakul *et al.* (1992), o epitélio ocular apresenta uma maior impermeabilidade quando comparado com outros epitélios (e.g. o epitélio intestinal, nasal, bronquial e traqueal), e até mesmo quando comparado ao estrato córneo da pele. O epitélio, com característica lipófila, impede a penetração dos fármacos hidrófilos, uma vez que possui junções apertadas entre as células (Kuno e Fujii, 2011; Järvinen *et al.*, 1995). A membrana de Bowman é uma membrana elástica e muito resistente a traumatismos e à passagem de microrganismos (Bicas, 1997). O estroma possui uma matriz extracelular composta por fibras de colágeno. Este estrato é muito hidratado, impedindo a penetração de moléculas hidrófobas (Kuno e Fujii, 2011). Caso a molécula de fármaco a administrar seja lipófila, esta penetra mais facilmente através do epitélio, uma vez que o epitélio também possui características lipófilas. A membrana de Descemet, também chamada de membrana basal, é elástica e possui uma

maior resistência quando comparada com a membrana de Bowman (Bicas, 1997). O endotélio é a barreira que separa o estroma do humor aquoso, permitindo uma passagem facilitada das moléculas entre estas duas estruturas devido às suas junções possuírem frechas (Kuno e Fujii, 2011; Fischbarg, 2006). O endotélio, tal como a membrana de Bowman, não possui qualquer tipo de inervação (Bicas, 1997).

A permeabilidade da córnea a determinadas substâncias é influenciada por vários factores, tais como: a lipofilia, o peso molecular, a carga e o estado de ionização (Schoenwald e Huang, 1983). É importante considerar que o tamanho do poro intercelular também influencia a penetração das moléculas. Desta forma, se o tamanho da molécula for reduzido melhor é a permeação. No entanto, considerando o pH fisiológico e na ausência de patologias associadas, o poro está carregado negativamente, pelo que os fármacos neutros ou positivos atravessam mais facilmente do que os de carga negativa (Hornof *et al.*, 2005; Rojanasakul *et al.*, 1992). Adicionalmente, os fármacos lipófilos permeam a córnea pela via transcelular, ocorrendo a uma velocidade e numa proporção superior comparativamente a outras vias (Hornof *et al.*, 2005).

2.1.2. Conjuntiva

A conjuntiva é uma membrana fina e transparente que reveste internamente duas dobras da pele que são as pálpebras. Esta membrana é humedecida pelas lágrimas, sendo também responsável pela sua produção, assim como, pela produção das glicoproteínas (Ludwig, 2005; Kuno e Fujii, 2011; Hornof *et al.*, 2005).

O epitélio da conjuntiva é estratificado, apresentando-se dividido em três estratos distintos: o epitélio conjuntival bulbar, que é adjacente à córnea; o epitélio fórnix; e o epitélio da pálpebra, sendo adjacente à epiderme da pálpebra (Järvinen *et al.*, 1995). O epitélio possui junções entre as células apertadas, verificando-se uma impermeabilidade a alguns tipos de fármacos (Ludwig, 2005).

Esta estrutura é uma zona rica em capilares e em vasos linfáticos. Desta forma, quando a administração do fármaco ocorre na conjuntiva este pode ser eliminado pelo sistema sanguíneo e pelo sistema linfático (Singh, 2003). A eliminação dos fármacos através da corrente sanguínea ocorre devido às junções dos vasos sanguíneos não serem apertadas, o que permitindo a passagem das moléculas pela membrana e atingir a corrente

sanguínea. A eliminação do fármaco pelo sistema linfático ocorre devido ao efluxo de moléculas das células para a corrente linfática (Kuno e Fujii, 2011).

No caso das moléculas hidrófilas com tamanhos mais elevados, a conjuntiva representa a primeira barreira de penetração tópica, quando as preparações são aplicadas na córnea (Hornof *et al.*, 2007; Ahmed, 2003).

2.1.3. Retina

A membrana interna do olho, a retina, possui fotossensibilidade que lhe permite efectuar a conversão da luz detectada e, através dos nervos ópticos, enviar a mensagem ao cérebro. A luz apenas atinge a retina após passagem por várias estruturas, nomeadamente córnea, humor aquoso, pupila, cristalino, hialóide e humor vítreo (Kumar *et al.*, 2011).

As moléculas passam da retina, para o humor vítreo, estando a eliminação do fármaco directamente relacionada com a sua capacidade de penetração através da retina. A eliminação de fármacos do humor vítreo pode ocorrer de duas formas por via posterior ou anterior. A maior parte dos fármacos são eliminados pela via anterior, enquanto a eliminação pela via posterior está relacionada com a permeação através da retina (Maurice e Mishima, 1983; Kuno e Fujii, 2011). Um dos factores limitantes desta passagem é a membrana limitante interna, pois é constituída por dez matrizes extracelulares diferentes (Kuno e Fujii, 2011; Candiello *et al.*, 2007).

Teoricamente, na retina não lesada ocorre a absorção do fármaco para os vasos sanguíneos ou o seu transporte através do epitélio pigmentar da retina (Kuno e Fujii, 2011). Caso o fármaco seja transportado pelo epitélio pigmentar da retina, este pode ser absorvido pelos vasos presentes na coróide ou passar para a esclerótica.

A retina apresenta ainda a fóvea, uma pequena depressão, que é responsável pela elevada resolução na visão (Kumar *et al.*, 2011).

2.1.4. Esclerótica

A esclerótica é responsável pela manutenção da forma do olho e permite a fixação do músculo extrínseco no olho, sendo também responsável pela sua protecção (Kumar *et al.*, 2011; Bicas, 1997). Esta estrutura é formada por lamelas de fibras conjuntivas de colagénio e elásticas que se encontram entrelaçadas e ligadas a uma matriz extracelular resistente e praticamente avascular (Bicas, 1997). A esclerótica divide-se em três camadas, designadas, desde na zona mais anterior, a episclera, a escleral estroma e a lâmina fusca (Järvinen *et al.*, 1995).

A permeabilidade da esclerótica está inversamente relacionada com o tamanho das moléculas (Oyster, 1999; Ambati *et al.*, 2000). A permeabilidade também é influenciada pela lipofilia, pelo que quando são administradas moléculas lipófilas, a permeabilidade diminui, já as moléculas hidrófilas apresentam uma maior penetração, uma vez que se difundem melhor nos proteoglicanos e na matriz das fibras de colagénio. No entanto, a esclerótica apresenta uma maior permeabilidade quando comparada com a córnea (Cruysberg *et al.*, 2002; Järvinen *et al.*, 1995).

2.1.5. Coróide

A coróide localiza-se por detrás da retina de forma a absorver a radiação não usada pela retina na visualização (Kumar *et al.*, 2011;). Segundo Kuno e Fujii (2011), esta estrutura apresenta o tecido mais vascularizado do organismo, proporcionando a transferência de nutrientes para a retina.

Segundo Bicas (1997), a coróide é constituída por três camadas, a camada de tecido conjuntivo laminar, a camada de coriocapilares e a membrana de Bruch. A camada de tecido conjuntivo laminar possui uma quantidade elevada de espaços linfáticos por onde ocorre a passagem de nervos e vasos. A camada de coriocapilares é constituída por vasos, fibras conjuntivas e elásticas, cromatóforos, fibras musculares lisas e nervos. Importa referir que o sangue passa na artéria oftálmica para as veias oftálmicas superiores e inferiores. A membrana de Bruch encontra-se em contacto com a retina.

2.1.6. Músculo ciliar

O músculo ciliar situa-se após a esclerótica, sendo a porção mais externa do corpo ciliar (Bica, 1997). Encontra-se ligado à íris possuindo uma forma anelar. O músculo ciliar é responsável pela forma da lente, pois a sua contracção e o seu relaxamento controlam a forma que a lente apresenta (Kumar *et al.*, 2011). É no músculo ciliar que ocorre o alojamento do humor aquoso após a sua produção no corpo ciliar (Bicas, 1997).

2.1.7. Hialóide

O hialóide é responsável pela separação do humor aquoso do humor vítreo (Kumar *et al.*, 2011).

2.1.8. Íris

A íris é a parte colorida do olho, situando-se entre o cristalino e a córnea, e divide o segmento anterior do olho na câmara anterior e posterior (Kumar *et al.*, 2011). A íris apresenta várias funções, nomeadamente (Prista *et al.*, 2008): (i) regular a entrada de luz para o olho; (ii) reter as radiações; (iii) eliminar os produtos metabólicos das células; (iv) contribuir para a formação do humor aquoso; e (v) nutrir as estruturas que não possuem vasos sanguíneos, a córnea e a retina.

A quantidade de luz que passa para a retina é regulada pela íris, pois esta estrutura regula o tamanho da pupila, utilizando os músculos lisos (Seeley *et al.*, 2003). A íris é enervada pelos nervos parassimpáticos, responsáveis pela contracção e dilatação da pupila, e simpáticos, que tem como função a dilatação da pupila (Kumar *et al.*, 2011). A sensibilidade da íris é dada pelos nervos ciliares curtos e longos que são originários do nervo nasal (Bicas, 1997).

2.1.9. Nervo óptico

O nervo óptico é um nervo craniano que é responsável pela visão. Este nervo possui inúmeras fibras responsáveis pela transmissão da informação para as células presentes na retina (Kumar *et al.*, 2011).

2.1.10. Papila, Pupila e Cristalino

A papila encontra-se localizada na zona em que o nervo óptico atravessa a retina (Kumar *et al.*, 2011).

A pupila permite a entrada de luz no olho, sendo responsável pela capacidade de visualização. Quando a íris dilata, a pupila contrai e vice-versa (Kumar *et al.*, 2011).

O cristalino é uma zona flexível do olho onde o tecido (i.e. fibras do cristalino) se encontra numa cápsula (Kumar *et al.*, 2011). O cristalino não possui vasos sanguíneos, sendo nutrido pelo humor aquoso, nem nervos, sendo constituído por fibrilas celulares que sofrem sobreposições ao longo da vida (Bicas, 1997). Ao longo dos anos, a flexibilidade e a capacidade do cristalino vão diminuindo (Bicas, 1997)

2.2. Fluídos oculares

2.2.1. Líquido lacrimal

O líquido lacrimal possui várias funções, tais como: (i) a produção e a excreção de nutrientes e produtos metabólicos para o epitélio e o estroma da córnea; (ii) responsável pela qualidade da imagem formada na retina; (iii) a manutenção da superfície lisa da córnea; (iv) a manutenção do ambiente húmido fundamental para as células da córnea e da conjuntiva; (v) apresenta propriedades bactericidas; (vi) permite a lubrificação das pálpebras; (vii) efectua a diluição de estímulos nocivos (Tiffany, 2003; Tutt *et al.*, 2000; Milder, 1987).

O filme lacrimal pré-corneal possui uma estrutura de três camadas designadamente, a camada lipídica superficial, a camada do meio aquoso e a camada da mucosa profunda (Figura 3) (Baeyens e Gurny, 1997).

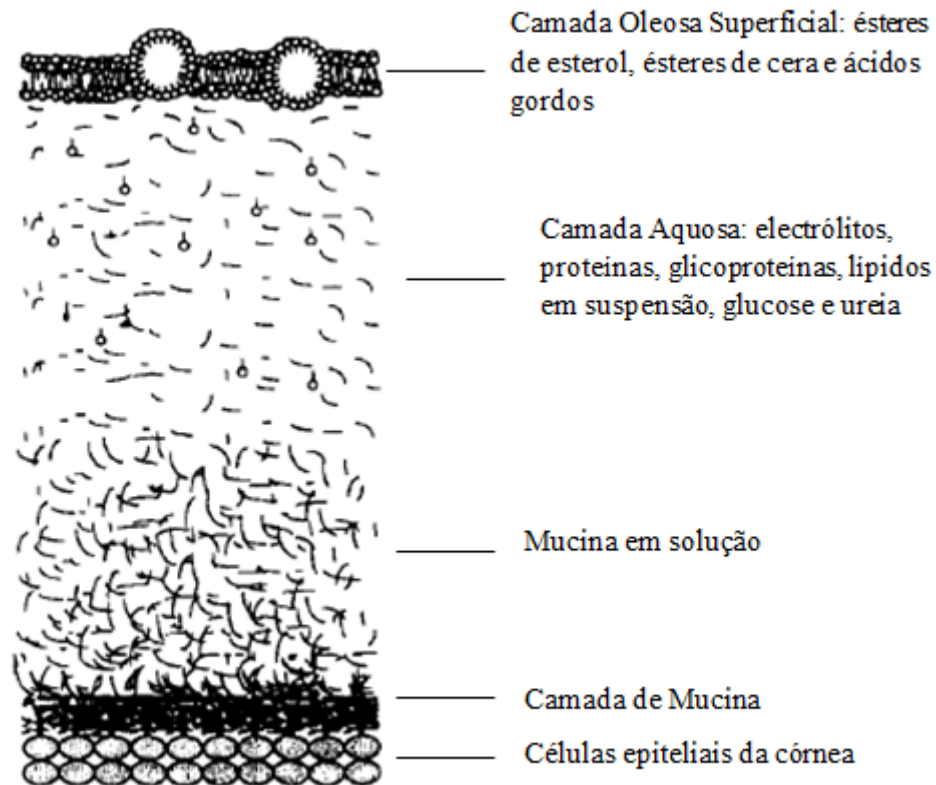


Figura 3 - Estrutura do filme lacrimal pré-corneal (adaptado de Baeyens e Gurny, 1997).

A camada oleosa evita a evaporação da água (Baeyens e Gurny, 1997). A camada de mucina permite molhar as células da córnea pelas lágrimas e, desta forma, contribui para a estabilidade desta estrutura (Baeyens e Gurny, 1997). A mucina é uma glicoproteína que, em contacto com as células epiteliais da córnea, permite uma maior aderência da camada aquosa ao epitélio (Ludwig, 2005). A síndrome do olho seco ou ceratoconjuntivite *sicca* está, na sua maioria, associado à baixa produção de mucina a nível ocular. Através do piscar dos olhos, ocorre a mistura das lágrimas, que constituem uma camada aquosa, com a camada lipídica presente à superfície ocular, que é constituída por ésteres de esteróis, triglicéroides, fosfolípidos e ácidos gordos livres (Ludwig, 2005). Esta camada lipídica evita a evaporação das lágrimas, contribuindo para a estabilidade, no caso do olho se encontrar aberto, e a manutenção da osmolaridade (Tiffany, 2003; Ludwig, 2005).

As lágrimas são produzidas pelas glândulas lacrimais, apresentando na sua constituição várias substâncias, tais como: sais inorgânicos, glucose, ureia, vitamina C, retinol,

proteínas, imunoglobulinas, lisossomas e glicoproteínas. Esta produção ocorre de forma contínua, permanecendo o líquido fresco no menisco até o piscar de olhos seguinte. Com o piscar de olhos o líquido é renovado ocorrendo a formação da nova película (Bayens e Gurny, 1997; Tiffany, 2003; Creech *et al.*, 1998). A sua osmolaridade é assegurada pela presença dos sais inorgânicos, mas também das proteínas (Ludwig, 2005). Em condições fisiológicas normais, o valor de pH está compreendido, aproximadamente, entre 7,4 e 7,7 (Ludwig, 2005). No entanto, as lágrimas possuem uma capacidade tampão bastante elevada devido às proteínas, mucina e iões de bicarbonato. Tal como já foi referido anteriormente, esta característica permite a administração de formulações com um pH diferente da mucosa ocular (Bayens e Gurny, 1997; Haeringen, 1981).

As lágrimas são responsáveis pela diluição dos fármacos administrados. Após a administração, verifica-se uma diminuição da concentração efectiva do fármaco, um aumento da clearance, podendo também ocorrer a ligação do fármaco a proteínas que fazem parte da constituição do líquido lacrimal (Kuno e Fujii, 2011). É fundamental ter em atenção que o fármaco pode ser eliminado pelo ducto nasolacrimal ou escorrer para o rosto.

2.2.2. Humor aquoso e vítreo

O humor aquoso apresenta uma constituição semelhante à da linfa, com menor quantidade de albumina, situando-se na câmara anterior do olho (Bicas, 1997). O humor aquoso, como referido anteriormente, tem a função de nutrição, nutrindo a córnea e o cristalino, mas também é responsável pela manutenção da pressão hidrostática no interior do olho (12-19 mmHg) (Bicas, 1997).

A produção do humor aquoso efectua-se através dos processos ciliares, tendo em conta que regressa à circulação através do canal de Schlemm. É esta produção e remoção que permite a manter a pressão intraocular constante (Seeley *et al.*, 2003).

O humor vítreo é uma substância gelatinosa que se encontra na parte posterior do olho. A produção desta substância é menor do que a produção de humor aquoso, sendo também a sua renovação lenta (Kumar *et al.*, 2011; Seeley *et al.*, 2003). A função do humor vítreo consiste na manutenção da pressão intraocular, mantendo a retina e o

cristalino no seu local, e é responsável pelo fenómeno de refacção da luz (Seeley *et al.*, 2003).

2.3. Barreiras oftálmicas à penetração farmacológica

Antes de referir as várias barreiras existentes a nível ocular, é fundamental apresentar uma breve explicação das vias de administração ocular. Segundo Wadhwa *et al.* (2009), as vias mais utilizadas a nível ocular são: a via tópica, subconjuntival, intravítrea, retrobulbar e intracameral.

Quando a administração é efectuada pela via tópica recorre-se à utilização de gotas oftálmicas, podendo apresentarem-se na forma de soluções ou suspensões. O principal problema principal desta via de administração relaciona-se com o facto do tempo de contacto do fármaco com a mucosa ocular ser reduzido, podendo ocorrer eliminação pelo sistema nasolacrimal e apenas uma concentração baixa de fármaco conseguir atingir o segmento posterior.

A via subconjuntival é usada quando os fármacos não passam para o segmento anterior. O fármaco é injectado na conjuntiva, necessitando apenas de passar pela esclerótica para o interior de olho. A presença do epitélio pigmentar dificulta que o fármaco atinja a retina.

Com a utilização da via intravítrea é possível a administração dos fármacos directamente ao nível da retina e do humor vítreo. Após a administração, o fármaco é eliminado através do fluxo de sangue e do humor aquoso.

Na via retrobulbar, a injeção é efectuada através da pálpebra ocorrendo a deposição do fármaco ao nível do segmento posterior. O problema desta via relaciona-se com a possibilidade de causar danos no nervo óptico.

A injeção intracameral permite a administração do fármaco directamente ao nível da câmara anterior e da câmara vítrea, estando a sua desvantagem relacionada com o facto de o fármaco não conseguir atingir o segmento posterior.

2.3.1. Barreira sanguínea ocular

Para manter a dose terapêutica de fármaco, ao nível da retina e do humor vítreo, recorre-se à administração por via sistémica ou intravítrea (Figura 4). No entanto, estas vias requerem a administração de uma concentração elevada de fármaco para que se verifique o efeito terapêutico pretendido, uma vez que o fluxo sanguíneo é limitado pela barreira sanguínea ocular (Hornof *et al.*, 2005). Adicionalmente, a utilização destas vias está associada ao aparecimento de efeitos adversos, pois como apenas uma baixa concentração de fármaco atinge o olho, o restante é distribuído pelo corpo (Hornof *et al.*, 2005). Contudo, esta via apresenta riscos, tais como: endofalmite, lesão no cristalino, deslocamento da retina e baixa adesão por parte do utente (Bochot *et al.*, 2000).

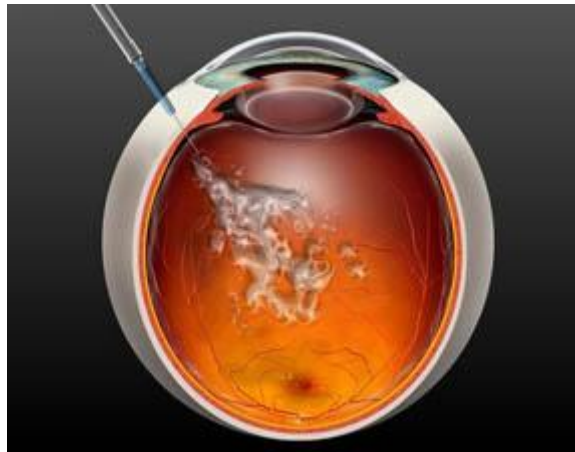


Figura 4 - Injecção intravítrea (retirada de www.ofthalmologiaonline.com.br).

2.3.2. Barreira aquosa ocular

A barreira aquosa ocular localiza-se na zona anterior do olho. Esta barreira é formada por células endoteliais, pertencentes aos vasos sanguíneos presentes na íris, e por células da camada de células não pigmentadas do epitélio ciliar (Hornof *et al.*, 2005). A camada celular impede a passagem de fármacos para o meio intraocular, pois esses fármacos podem alterar a transparência e o equilíbrio químico do fluido ocular (Vaz-Cunha, 1997). Importa referir que mesmo quando a barreira aquosa ocular está intacta permite a

permeação de fármacos para o humor aquoso. Tal ocorre devido à baixa quantidade de proteínas presentes no mesmo (Hornof *et al.*, 2005).

A permeação da barreira aquosa é menos restrita quando o movimento de fármacos ocorre do humor aquoso para os vasos sanguíneos da íris através da circulação sistêmica, uma vez que o tecido da íris é poroso, facilitando a passagem de substâncias (Jumbe e Miller, 2003; Hornof *et al.*, 2005). Quando presentes, na íris, os fármacos podem ser absorvidas pelos pigmentos da mesma ou atravessarem e serem eliminados pelos vasos sanguíneos (Chastain, 2003). A eliminação através dos vasos sanguíneos ocorre mais facilmente para os fármacos lipófilos de pequenas dimensões (Urtti e Salminen, 1993 (b)).

2.3.3. Barreira hemato-retiniana

A barreira hemato-retiniana localiza-se na zona posterior do olho e separa a retina da coróide. Esta barreira é formada por células endoteliais de vasos sanguíneos da retina e por células do epitélio pigmentar da retina (Hornof *et al.*, 2005). O epitélio pigmentar da retina possui várias funções, nomeadamente, serve de suporte para as células de Müller e astrócitos, é responsável pela remoção de fluido do espaço sub-retinal e, desta forma, consegue manter a adesão da retina (Hornof *et al.*, 2005; Ludwig, 2005). O epitélio pigmentar possui junções bastante apertadas formando uma barreira que impede a passagem de substâncias, pelo que os nutrientes são as únicas substâncias que passam de forma transcelular, entre a retina e a coróide (Duvvuri *et al.*, 2003; Hornof *et al.*, 2005).

As células de Müller servem de suporte à actividade neuronal e mantêm o funcionamento indicado, em condições normais, do epitélio pigmentar da retina (Reichenbach *et al.*, 2007). Estas células também mantêm a homeostasia e o controlo do pH. Quando ocorre algum tipo de disfunção (e.g. retinose pigmentar) pode ocorrer o colapso do epitélio pigmentar da retina (Bringmann *et al.*, 2000; Tretiach *et al.*, 2005). Os astrócitos são originados no nervo óptico e migram para a fibra nervosa durante o desenvolvimento, sendo responsáveis pela manutenção da integridade dos capilares (Ludwig, 2005).

O epitélio pigmentar da retina, para além de ser responsável pela formação da barreira hemato-retiniana, possui outras funções, tais como (Marmor, 1998): (i) fagocitose dos segmentos exteriores existentes, libertados pela retina; (ii) reactividade imunológica; (iii) transporte de nutrientes e produtos metabólicos; (iv) absorção da luz e a sua dissipação; (v) produção de enzimas; (vi) produção de factores de crescimento e pigmentos.

Devido às junções entre as células do epitélio pigmentar da retina serem apertadas este previne a penetração de moléculas tóxicas para a retina e, desta forma, impede também a entrada de fármacos cuja passagem seja sistémica (Duvvuri *et al.*, 2003; Vaz-Cunha, 1997). O epitélio pigmentar da retina também elimina vários fármacos, por transporte activo ou difusão passiva através do corpo vítreo. Os vasos formados pelo epitélio pigmentar são pouco permeáveis à passagem de proteínas e de compostos hidrófilos. Contudo os fármacos lipófilos apresentam uma maior permeabilidade, tal como ocorre na retina (Sunkara e Kompella, 2003; Hornof *et al.*, 2005).

Na administração intravítrea de fármacos, inúmeras substâncias podem ser eliminadas por mecanismos de difusão passiva e transporte activo, do corpo vítreo para o epitélio pigmentar da retina (Hornof *et al.*, 2005). Desta forma, quando alguma substância seja pouco permeável ao corpo vítreo, há um aumento do seu tempo de semi-vida no corpo vítreo, sendo a sua eliminação efectuada através da difusão da superfície da íris ou através da sua passagem para a câmara anterior (Hornof *et al.*, 2005).

2.3.4. Sistema de drenagem nasolacrimal

O sistema de drenagem nasolacrimal é dividido em diferentes partes: secretora, distributiva e de colecção (Ludwig, 2005). A parte secretora é constituída pelas glândulas lacrimais, responsáveis pela produção das lágrimas. As lágrimas são espalhadas por toda a superfície ocular através das pálpebras. A produção de lágrimas varia mediante o sexo e a idade. Com o avançar da idade menor é a produção de lágrimas e o olho fica mais seco. A produção de lágrimas pode ser devido a causas emotivas, reflexivas e primárias (Ludwig, 2005; Murube *et al.*, 1999). A produção de lágrimas de forma reflexiva é estimulada pela presença de agentes químicos ou mecânico, que causam irritação na mucosa ocular, e temperatura.

A mucosa nasal pode absorver fármacos hidrófobos, que tenham sido aplicados na mucosa do olho e que por drenagem atingem a mucosa nasal. Desta forma, há a possibilidade de ocorrer efeitos adversos e reacções de toxicidade (Järvinen *et al.*, 1995; Paulsen *et al.*, 2002).

III. Novos sistemas farmacêuticos para administração ocular

De uma maneira geral, para o tratamento de uma patologia ocular recorre-se à aplicação de formas farmacêuticas convencionais apresentadas na forma de soluções, suspensões, pomadas ou geles (Júnior *et al.*, 2003). No entanto, com a utilização destas formas farmacêuticas apenas cerca de 5% da dose administrada consegue alcançar o tecido alvo. Desta forma, para que sejam alcançados níveis terapêuticos, torna-se necessário a administração de doses repetidas ou de doses muito elevadas de fármaco. Ambas as situações podem causar um aumento das interações, efeitos secundários e reacções adversas.

Uma das vantagens associadas às formas farmacêuticas convencionais mais utilizadas i.e. os colírios, em que o fármaco é administrado por instilação, é a simplicidade de utilização, sendo facilmente usada pelos vários grupos etários (Wadhwa *et al.*, 2009). Adicionalmente, com a administração por via ocular não ocorre o efeito de primeira passagem, ao contrário da administração oral (Kumar *et al.*, 2011). A administração destas preparações permite uma boa penetração de fármacos hidrófilos e de baixo peso molecular. Contudo, vários fármacos usados no tratamento de patologias oftálmicas possuem características lipófilas e, desta forma, não devem ser incorporadas nos sistemas farmacêuticos convencionais com características hidrófilas (Ding, 1998). Estas formas de administração possuem vários problemas associados, os quais são referidos na Tabela 1. Entre as desvantagens salientam-se (Bourlais *et al.*, 1998): (i) má drenagem das substâncias administradas, não sendo atingidos os tecidos intraoculares; (ii) lavagem através das lágrimas; (iii) baixa permeabilidade da córnea que impede a penetração de diversos fármacos; (iv) drenagem através do sistema nasolacrimal, surgindo efeitos a nível sistémico e perturbações na visão.

Tabela 1 - Vantagens e desvantagens das formas farmacêuticas de libertação convencional para administração ocular (Wadhwa *et al.*, 2009).

Vantagens	Desvantagens
Solução	<ul style="list-style-type: none"> - Fácil e prática administração; - Forma farmacêutica económica. <ul style="list-style-type: none"> - Eliminação do fármaco através das lágrimas e da drenagem no ducto nasolacrimal; - Eliminação pré-corneal rápida;

		<ul style="list-style-type: none"> - Biodisponibilidade baixa; - Acção farmacológica curta; - Necessária a administração repetida.
Suspensão	<ul style="list-style-type: none"> - Contacto prolongado com a mucosa ocular; - Favorável para a administração de fármacos com baixa solubilidade. 	<ul style="list-style-type: none"> - Causa irritação devido ao tamanho das partículas, que deve ser controlado.
Gel	<ul style="list-style-type: none"> - Visão menos turva quando comparada com as pomadas; - Permite a incorporação de uma vasta variedade de fármacos. 	<ul style="list-style-type: none"> - Aderência das pálpebras após a aplicação.
Pomada	<ul style="list-style-type: none"> - Elevado tempo de contacto com a mucosa ocular; - Não há diluição nem drenagem por parte das lágrimas; - Estabilidade e biodisponibilidade melhoradas. 	<ul style="list-style-type: none"> - Causa turvação da visão; - Pouca adesão por parte do utente; - Causa a aderência das pálpebras.

Tal como referido anteriormente, existem muitos factores que condicionam a acção terapêutica de um fármaco administrado topicamente na forma de gotas oftálmicas, nomeadamente a rápida eliminação da área pré-corneal e a impermeabilidade da córnea (Wadhwa *et al.*, 2009; Fronza *et al.*, 2004). Desta forma, a passagem do fármaco, para a parte posterior do globo ocular é impedida. Logo, mesmo que a aplicação tópica e localizada seja uma maneira aceitável e preferencial para atingir a concentração terapêutica dos fármacos normalmente não é suficiente para que surjam os efeitos desejados (Kaur *et al.*, 2004).

Considerando os problemas referidos das formas farmacêuticas convencionais, houve a necessidade de desenvolver novos sistemas farmacêuticos que permitam que o fármaco atinja o local de acção nas concentrações efectivas (Amo e Urti, 2008). Idealmente, os novos sistemas de veiculação de fármacos devem libertar o fármaco de forma optimizada no local de acção. Este objectivo pode ser alcançado através do aumento da

penetração do fármaco nas várias estruturas anatómicas presentes no globo ocular ou através do aumento do tempo de contacto do fármaco com a superfície ocular. Nestes sistemas, a distribuição do fármaco deixa de ser influenciada pelas propriedades físico-químicas da molécula, estando dependente das características do próprio sistema de veiculação. No entanto, o sistema farmacêutico é seleccionado tendo em consideração as propriedades do fármaco e o objectivo terapêutico (Moutinho *et al.*, 2007). A utilização de vectores coloidais, como por exemplo, as nanopartículas, os lipossomas e os niossomas, é uma das estratégias mais investigadas para administração ocular, os quais permitem melhorar as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas (Kaur *et al.*, 2004).

Os novos sistemas farmacêuticos permitem uma diminuição no número de administrações melhorando a adesão terapêutica (Shell, 1984). Como são direccionados para o local alvo, teoricamente ocorre uma diminuição dos efeitos adversos. Adicionalmente, estes sistemas têm a capacidade de proporcionar uma libertação controlada e, desta forma, é possível a utilizar de fármacos com tempos de semi-vida curtos. Este tipo de libertação permite um aumento do tempo de contacto do fármaco com a superfície ocular e uma diminuição do tempo de eliminação (Bourlais *et al.*, 1998).

3.1. Microemulsão/nanoemulsão

Os sistemas emulsionados são sistemas heterogéneos constituídos por duas fases, nos quais estão incluídos as micro e as nanoemulsões. Estas preparações apresentam vantagens, tais como (Anton e Vandamme, 2009; Anton *et al.*, 2008): (i) o aumento da biodisponibilidade dos fármacos; (ii) permitem a veiculação de fármacos lipófilos e hidrófilos; (iii) não exigem métodos de produção complexa; (iv) não necessitam de elevados níveis de energia, sendo facilmente produzido à escala industrial.

Apesar destes dois sistemas serem frequentemente confundidos, uma vez que o processo de produção e as suas características macroscópicas são semelhantes, apresentam tamanho de gotículas e estabilidade física diferente (Tabela 2).

Tabela 2 - Características mais relevantes das microemulsões e das nanoemulsões (adaptado de Simões *et al.*, 2011).

Característica	Microemulsões	Nanoemulsões
Preparação	Formação espontânea ou através de um processo de agitação com baixa produção energética	Formação espontânea ou através de um processo de agitação com elevada produção energética
Aspecto	Transparente ou com aspecto leitoso (opalescente)	Transparente
Tamanho das gotículas	Inferior a 0,15 μm	Entre 0,02 a 0,2 μm
Estabilidade termodinâmica	Com estabilidade termodinâmica	Com instabilidade termodinâmica
Viscosidade	Normalmente é baixa, mas varia com a proporção entre o volume da fase aquosa e da fase oleosa	Baixa, independentemente do volume das fases que a constituem.

As microemulsões são sistemas termodinamicamente estáveis. As nanoemulsões são sistemas cineticamente estáveis, no entanto, são termodinamicamente instáveis. Desta forma, o comportamento das micro e das nanoemulsões é diferente quando se efectuam diluições ou são submetidos a variações da temperatura (Anton e Vandamme, 2011). As microemulsões, quando submetidas às variações anteriormente referidas, têm a sua estrutura extremamente afectada, podendo mesmo ocorrer a destruição da preparação (Anton e Vandamme, 2011). Pelo contrário, as nanoemulsões permanecem estáveis quando submetidas às mesmas condições. A selecção do veículo é influenciada pelas características do local de acção, tendo em conta as alterações termodinâmicas. No caso da via de administração provocar diluição, alteração de pH ou de temperatura, é mais conveniente efectuar-se a administração de nanoemulsões devido à sua maior estabilidade.

Para a preparação das microemulsões e das nanoemulsões recorre-se à técnica da emulsificação. A emulsificação consiste na divisão de uma das fases, que constitui o

sistema heterogéneo, em pequenas gotículas (Simões *et al.*, 2011). Para promover a emulsificação são utilizados os agentes tensioactivos, permitindo aumentar também a estabilidade deste tipo de preparações. Na auto-emulsificação é necessária uma quantidade de energia baixa, pois há baixa tensão interfacial entre a fase aquosa e a fase oleosa (Wadhwa *et al.*, 2009 e Fanun, 2012).

Segundo Anton e Vandamme (2011), um dos principais aspectos na produção das micro e das nanoemulsões relaciona-se com a ordem de adição dos vários componentes da formulação. No caso das nanoemulsões, quando o processo de preparação é através da auto-emulsificação, é fundamental adicionar-se primeiro o agente tensioactivo com a fase oleosa e não com a fase aquosa para evitar a formação de uma nanoemulsão em que as fases se distingam de forma macroscópica. O tensioactivo hidrófilo é previamente homogeneizado na fase lipófila. Quando ambas as fases se misturam o tensioactivo forma rapidamente as nano-gotículas. No caso das microemulsões, a forma como são adicionados os componentes não afectam o aspecto final.

Os agentes tensioactivos têm um papel fundamental na preparação de sistemas em que há mistura de fases com propriedades distintas (i.e. hidrófilas e lipófilas), possuindo uma parte polar e outra apolar (Maniasso, 2001). Estes agentes possuem a capacidade de se disporem na interface das gotículas, de forma mecânica ou electrostática, e de modificar as características do meio externo (e.g. reologicamente), impedindo a separação das fases. Assim, os agentes tensioactivos são usados de forma a emulsificar o sistema e garantir a sua estabilidade (Simões *et al.*, 2011). Estes causam um abaixamento da tensão interfacial, que devido à sua natureza anfifílica possuem a capacidade de modificar as características físico-químicas da zona interfacial. Contudo, o uso destes agentes em concentrações elevadas pode causar toxicidade aquando da administração ocular e, desta forma, o método de auto-emulsificação pode não ser o melhor processo de preparação destes sistemas (Vandamme, 2002). Pode recorrer-se ao uso de agentes co-tensioactivo, cuja função é auxiliar a diminuição da tensão interfacial para valores abaixo dos limites proporcionados pelo tensioactivo.

3.1.1. Microemulsão

As microemulsões são sistemas de veiculação de fármacos podendo ser administrados por diferentes vias, entre as quais a via ocular.

Estas preparações são sistemas coloidais, constituídas por duas fases dispersas, uma oleosa e outra aquosa. Tal como referido anteriormente, estes sistemas são termodinamicamente estáveis e comportam-se como líquidos Newtonianos, sendo a sua estabilidade conseguida devido à utilização de agentes tensioactivos e, eventualmente, de co-tensioactivos (Santos *et al.*, 2008; Vandamme, 2002). Considerando a sua estrutura interna, as microemulsões podem ser classificadas em diferentes tipos (Figura 5): água em óleo (W/O), de óleo em água (O/W), ou microemulsões múltiplas (O/W/O ou W/O/W), sendo esta estrutura influenciada pelas propriedades físico-químicas e pela proporção dos volumes das duas fases (Fanun, 2012). Apesar da preparação das microemulsões poder ser espontânea, há algumas variáveis que influenciam este processo, como a temperatura e a composição do sistema (Anton e Vandamme, 2011).

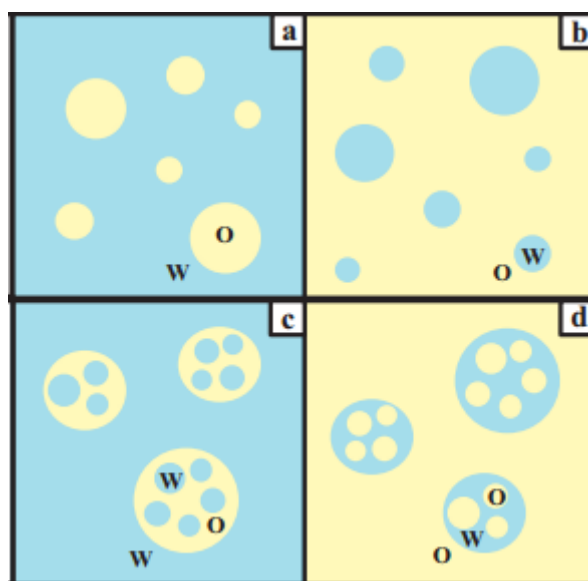


Figura 5 - Representação da estrutura da emulsão: a) O/W, b) W/O, c) W/O/W e d) O/W/O (adaptado de Bouyer *et al.*, 2012).

São várias as características que tornam a microemulsão num veículo de interesse para diversos fármacos, nomeadamente (Jadhav *et al.*, 2006): (i) elevada capacidade de solubilizar fármacos com características de solubilidade distintas, (ii) transparência; (iii) termodinamicamente estáveis; (iv) fácil preparação; (v) apresentam uma difusão e

absorção elevada. Desta forma, estes sistemas de veiculação têm atraído a atenção dos investigadores para o tratamento de várias doenças por permitirem aumentar os efeitos farmacológicos e diminuir os efeitos adversos, pois é possível direccionar os fármacos para o seu local de acção (Fanun, 2012).

Para além disso, as microemulsões são susceptíveis de serem esterilizados por filtração, sendo este um dos requisitos das preparações de aplicação ocular. As reduzidas dimensões das gotículas destes sistemas permitem a sua passagem pelo diâmetro de poro das membranas filtrantes utilizadas na filtração esterilizante, não havendo o risco de ocorrer a separação das fases. Adicionalmente, e em virtude da sua estabilidade termodinâmica, é menos provável ocorrerem fenómenos como a coalescência, formação de creme, separação das fases (Fevrier, 1990 e Simões *et al.*, 2011).

De um modo geral, as microemulsões são preparadas dispersando uma fase oleosa numa solução aquosa de um agente tensioactivo, com eventual adição de um quarto componente, o co-tensioactivo, normalmente um álcool de baixo peso molecular, com o objectivo de formar um sistema transparente (Simões *et al.*, 2011). A selecção da fase oleosa é bastante importante, uma vez que influencia quer a formação da microemulsão, quer a solubilização do fármaco. Normalmente, para a solubilização do fármaco utilizam-se óleos com uma cadeia de hidrocarbonetos que proporcione uma maior solubilidade do fármaco (Vandamme, 2002). Por outro lado, na fase aquosa podem ser adicionados os co-adjuvantes, tais como: tampões, conservantes e agentes isotónicos.

3.1.2. Nanoemulsão

As nanoemulsões são geralmente do tipo O/W (i.e., uma dispersão de gotículas oleosas dispersas numa fase aquosa externa), sendo estabilizadas pela utilização de um ou vários agente(s) tensioactivo(s). Estes sistemas apresentam gotículas uniformes e de dimensões muito reduzidas, com tamanhos compreendidos entre os 20 e os 200 nm (Anton e Vandamme, 2009; Fronza *et al.*, 2004; Simões *et al.* 2011). Como referido anteriormente, as nanoemulsões são consideradas cineticamente estáveis uma vez que o seu processo de destabilização é extremamente lento (Anton *et al.*, 2008). Estes sistemas apresentam ainda uma viscosidade reduzida podendo ser facilmente

administrados na forma de gotas oculares. O fármaco encontra-se principalmente disperso ou adsorvido no núcleo oleoso (Vandamme, 2002; Saettone *et al.*, 2000).

Como as gotículas possuem um tamanho reduzido, os fenómenos de floculação e coalescência raramente ocorrem, havendo a sobreposição do movimento Browniano ao fenómeno de sedimentação (Tadros *et al.*, 2004 e Simões *et al.*, 2011). O envelhecimento de Ostwald, ou de difusão molecular, é o principal factor de instabilidade das nanoemulsões. Este fenómeno é detectado facilmente com a diminuição da transparência do sistema, Figura 6 (Simões *et al.*, 2011). O envelhecimento de Ostwald é atribuído à fase interna do sistema e ocorre devido à polidispersão do tamanho das gotículas e à diferença entre a solubilidade das gotículas de maior e menor dimensões. Neste fenómeno verifica-se uma transferência de matéria da gotícula de menor dimensão para a maior, aumentando o tamanho da última. Segundo Sonneville-Aubrun *et al.* (2004), uma forma de evitar o envelhecimento de Ostwald é adicionar uma pequena quantidade de um óleo com baixa solubilidade em água, ou adicionar um outro agente tensioactivo não iónico ou um agente tensioactivo que possua um maior grau de etoxilação.

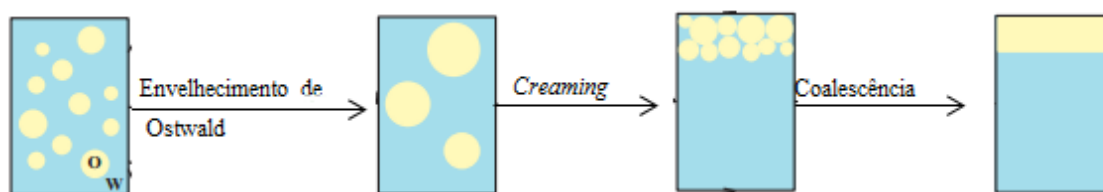


Figura 6 - Representação esquemática do envelhecimento de Ostwald (adaptado de Bouyer *et al.*, 2012).

Apesar de ser uma área controversa, segundo vários autores, a preparação das nanoemulsões utiliza métodos de alta energia, uma vez que estes fornecem a energia necessária para a diminuição da área interfacial entre a fase aquosa e a fase oleosa (Antonietti e Landfester, 2002; Asua, 2002; Anton e Vandamme, 2011). Nestas condições formam-se gotículas de tamanho reduzido. A sonda de ultrassons e o homogeneizador de alta pressão são exemplos de equipamentos utilizados para produzir gotículas de dimensões na escala nanométrica.

As nanoemulsões também podem ser produzidas por processos espontâneos. Nestas situações, ou na utilização de métodos de preparação de baixa energia, a mistura de ambas as fases é feita à temperatura ambiente (Anton e Vandamme, 2009; L'Alloret *et*

al., 2006). Na fase oleosa é solubilizado o agente tensioactivo, obtendo-se uma preparação homogénea, à qual se adiciona a fase aquosa, composta por água ou por uma solução padrão. Quando se adiciona uma fase à outra, a fase aquosa ao entrar em contacto com o agente tensioactivo vai ser rapidamente dispersa, na fase oleosa.

A escolha da fase oleosa e a sua concentração depende da solubilidade do fármaco (Vandamme, 2002). Para além da fase oleosa, da fase aquosa e dos tensioactivos, podem também ser utilizadas substâncias adjuvantes na preparação da nanoemulsão para administração ocular. Como exemplos citam-se substâncias que contribuem para o ajuste da tonicidade (i.e., agentes isotonzantes), característica fundamental nas formulações de uso ocular, e os agentes tampões, pois o pH, por razões fisiológicas, deve ser aproximadamente de 7,0 (Fronza, 2004). Os agentes conservantes (e.g. cloreto de benzalcónio) também são utilizados quando se trata de uma preparação que é acondicionada em recipiente multidose e os agentes antioxidantes que são utilizados quando as formulações contêm compostos susceptíveis de sofrer reacções de oxidação (e.g. fosfolípidos e óleos vegetais) (Abdulrazik *et al.*, 2001; Floyd, 1999).

3.1.3. Aplicação para administração ocular

A Tabela 3 resume os principais estudos descritos na literatura relativos à utilização das microemulsões e das nanoemulsões como sistemas de veiculação de fármacos para administração ocular.

Tabela 3 - Estudo da eficácia das microemulsões e nanoemulsões para administração ocular.

Fármaco (utilização terapêutica)	Sistema de veiculação	Principais resultados	Referência
Timolol (redução da pressão intraocular - tratamento do	Microemulsão O/A	Aumento da biodisponibilidade ocular entre 3,5 a 4,2 vezes comparativamente à administração de timolol isolado.	Gasco <i>et al.</i> , 1989

glaucoma)			
Dexametasona (anti- inflamatório)	Microemulsão	Maior biodisponibilidade e consequentemente maior eficácia comparada com a administração de uma suspensão de fármaco.	Fialho e Silva- Cunha, 2004
Cloranfenicol (antibiótico)	Microemulsão O/A	Aumento da estabilidade do fármaco comparativamente ao colírio comercial, apresentando um menor conteúdo em glicóis.	Lv <i>et al.</i> , 2006
Prednisolona (anti- inflamatório)	Microemulsão A/O	Protecção do fármaco da degradação causada pela radiação ionizante gama.	El Magharby <i>et al.</i> , 2011
Pilocarpina (redução da pressão intraocular, tratamento do glaucoma)	Microemulsão	A instilação em microemulsão duas vezes ao dia causa o mesmo efeito na diminuição da pressão intraocular que a instilação em colírio quatro vezes ao dia.	Garty e Lusky, 1994
Cloridrato de terbinafina (anti-fúngico - tratamento da ceratite fúngica)	Nanoemulsão veiculada em gele	Menor irritação ocular <i>in vivo</i> (coelhos); Maior biodisponibilidade comparativamente à solução oleosa de cloridrato de terbinafina <i>in vivo</i> (coelhos); Aumento da concentração máxima de fármaco <i>in vivo</i> (coelhos);	Tayel <i>et al.</i> , 2013
Pilocarpina (redução da pressão intraocular, tratamento do	Nanoemulsão	Libertação controlada do fármaco <i>in vivo</i> (i.e. coelhos) comparativamente à solução aquosa de pilocarpina; Aumento do efeito terapêutico.	Naveh <i>et al.</i> , 1994

glaucoma)

Dos estudos apresentados, pode concluir-se que as microemulsões e as nanoemulsões são sistemas bastantes promissores para a administração de fármacos por via ocular. A administração dos fármacos veiculados em microemulsões e nanoemulsões permitiu que houvesse um aumento da estabilidade do fármaco e da sua biodisponibilidade, o que leva a uma maior eficácia terapêutica e conseqüentemente a um menor número de administrações por parte do utente.

3.2. Lipossomas

Os primeiros lipossomas foram preparados por Alex Bangham, quando investigava a influência dos fosfolípidos na coagulação sanguínea (Ebrahim *et al.*, 2005). Estas estruturas estão incluídas no grupo dos sistemas vesiculares ou coloidais, sendo considerado um grupo promissor na administração ocular (Ebrahim *et al.*, 2005; Kaur *et al.*, 2004). Os lipossomas possuem a capacidade de, após a administração, manter o fármaco no local de acção de forma prolongada e controlada, permitindo que haja a passagem através das membranas celulares devido ao fármaco estar encapsulado em vesículas lipídicas.

Os lipossomas são vesículas esféricas compostas por uma ou mais bicamadas fosfolipídicas concêntricas, aprisionando no seu interior um ou mais núcleo(s) aquoso(s). Os lipossomas são transportadores de fármacos com características hidrófilas ou lipófilas (Shell, 1985; Meisner e Mezei, 1995). Os fármacos com características hidrófilas ficam retidos no núcleo do lipossoma e os fármacos lipófilos encontram-se dispersos na bicamada de fosfolípidos. A Figura 7 representa a conformação da vesícula lipossomal.

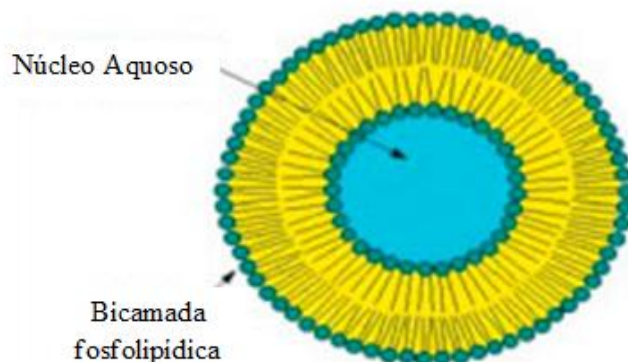


Figura 7 - Conformação da vesícula lipossomal (adaptado de <http://www.surgicalcosmetic.org.br/>).

O diâmetro e o número de camadas das vesículas formadas dependem, principalmente, do método de preparação utilizado (Tabela 4). Estas características influenciam o perfil farmacocinético do fármaco veiculado (Wadhwa *et al.*, 2009, Kaur *et al.*, 2004, Ebrahim *et al.*, 2005; Ludwig, 2005). Muitas vezes, o colesterol é incorporado nos lipossomas para garantir um aumento da sua biodisponibilidade (Ebrahim *et al.*, 2005). Contudo, a inclusão do colesterol afecta as propriedades vesiculares.

Tabela 4 - Caracterização dos lipossomas segundo o diâmetro e o número de camadas (adaptado de Santos e Castanho, 2002; Lasic, 1993).

Designação	Tamanho
MLV - Vesículas Multilamelares	500 a 5000 nm
LUV - Vesículas Unilamelares	100 a 500 nm
SUV - Vesículas Unilamelares Pequenas	20 a 100 nm
GUV - Vesículas Unilamelares Gigantes	Superior a 1 μ m
OLV - Vesículas Oligolamelares	Varia entre os 400 nm
MUV - Vesículas Unilamelares Médias	Entre os SUV e os LUV

Os lipossomas como sistemas de transporte de fármacos apresentam várias vantagens, tais como (Silva, 2004; Bergstrand *et al.*, 2003; Tao e Desai, 2003; Diebold *et al.*, 2007): (i) a protecção do fármaco contra alterações a nível do organismo; (ii) a diminuição da toxicidade e dos efeitos adversos; (iii) a possibilidade de libertação do

fármaco em locais alvo; (iv) a incorporação do fármaco com características hidrófilas ou lipófilas; (v) a diminuição do número de tomas, permitindo uma melhor aceitação por parte do utente.

Os lipossomas são facilmente preparados e apesar da falta de estabilidade a longo prazo, apresentam características físicas únicas que os torna sistemas promissores para a veiculação de fármacos destinados à administração ocular (Bourlais *et al.*, 1998).

Os lipossomas são estruturas versáteis para aplicação terapêutica, uma vez que são biocompatíveis, biodegradáveis e não imunogénicos, sendo constituídos por componentes semelhantes aos fisiológicos (Ludwig, 2005; Bourlais *et al.*, 1998).

A utilização dos lipossomas, como veículo para a administração ocular, está relacionada com a capacidade de interagirem com os tecidos oculares, nomeadamente com a córnea e a conjuntiva (Wadhwa *et al.*, 2009; Ludwig, 2005). Desta interacção resulta um aumento da absorção dos fármacos, pois estes sistemas apresentam a capacidade de efectuar a alteração da superfície ocular, devido à interacção entre a carga do tecido e do lipossoma, no caso de os lipossomas apresentarem carga na sua superfície que interaja com a carga dos tecidos oculares. Estas estruturas também permitem uma protecção dos fármacos de forma a impedirem a sua degradação por parte das enzimas metabólicas presentes nas lágrimas e no epitélio ocular. No entanto, a libertação do fármaco é condicionada pela rápida clearance na área pré-corneal. A eliminação rápida ocorre no caso de os lipossomas serem neutros ou apresentarem carga negativa (Nagarsenker *et al.*, 1999; Ludwig, 2005). Uma vez que o epitélio corneal apresenta carga negativa, os lipossomas carregados positivamente, apesar de poderem causar alguma irritação ocular, apresentam um aumento do tempo de contacto devido a interacções electrostáticas (Le Bourlais *et al.*, 1995). A carga dos lipossomas influencia a capacidade de aprisionarem o fármaco no seu interior (Hathout *et al.*, 2007). Adicionalmente, pode ocorrer uma acumulação de fármaco a nível da córnea devido à endocitose dos lipossomas, seguindo-se a transferência de fármaco para as membranas das células epiteliais. Tal ocorre quando os lipossomas são carregados positivamente e são capturados pelo epitélio da córnea, que possui carga negativa. Após este processo o fármaco é transferido do lipossoma para a membrana das células epiteliais (Lin *et al.*, 1996; Matos e Moutinho, 2011). Por outro lado, os lipossomas com carga positiva diminuem a eliminação dos fármacos através das lágrimas, por aumentarem a

viscosidade das lágrimas através da interação com a mucina que possui carga negativa (Sahoo *et al.*, 2008). Meisner e Mezei (1995) demonstraram que há um aumento da adesão dos lipossomas à superfície da córnea e da conjuntiva quando os lipossomas se encontram dispersos em hidrogéis ou quando são revestidos por polímeros mucoadesivos (e.g. Carbopol[®]).

Os lipossomas permitem obter uma libertação controlada do fármaco e protegem os fármacos da possível degradação e depuração (Ebrahim *et al.*, 2005). Em conclusão, estes sistemas permitem atingir uma maior eficácia clínica, pois é possível a manutenção da concentração do fármaco na janela terapêutica durante um longo período de tempo e sem qualquer interrupção (Peyman *et al.*, 1988). Adicionalmente, estes sistemas permitem proteger os oligonucleótidos da degradação das nucleases, aumentando o tempo de retenção de diversos fármacos no humor vítreo (Bochot *et al.*, 2000 e Bochot *et al.*, 2002).

Segundo Ebrahim *et al.* (2005), os lipossomas em oftalmologia são usados no tratamento de várias perturbações no segmento anterior e posterior, tais como: olhos secos, ceratite, rejeição de transplante de córnea, endoftalmite e vitreorretinopatia. Por outro lado, estas preparações são promissoras como vectores para transfecção génica e veiculação de anticorpos monoclonais. Para a administração oftálmica no segmento anterior requer-se que o fármaco alcance a zona corneal superior. Quando a administração é no segmento posterior o fármaco é entregue no seu local de acção, i.e. o epitélio pigmentar da retina.

Alguns investigadores experimentaram a instilação tópica e a injeção intravítrea e subconjuntival utilizando lipossomas. Estes estudos demonstraram uma melhoria ao nível da absorção dos fármacos.

Na Tabela 5 estão compiladas as principais vantagens e desvantagens da utilização de lipossomas para a administração intravítrea.

Tabela 5 - Vantagens e desvantagens da utilização dos lipossomas para a administração intravítrea (adaptado de Bochot e Fatta, 2012).

Vantagens	Desvantagens
Aumento da estabilidade dos fármacos	Visão turva

Aumento do tempo de semivida	Lipossomas catiónicos induzem a inflamação
Diminuição da toxicidade causada pelas sucessivas doses	Possibilidade de ocorrer a agregação aquando da administração <i>in vivo</i> , verifica-se quando a estabilidade em colóide já é diminuída.
Redução do número de administrações	
Protecção do fármaco da degradação	

Vários estudos realizados em animais demonstraram que os fármacos veiculados em lipossomas, administrados por injeção intravítrea, apresentam uma concentração terapêutica durante um tempo mais prolongado e são menos tóxicos do que os fármacos aplicados nas formas farmacêuticas convencionais (Peyman *et al.*, 1988). Nestes últimos sistemas, os fármacos são facilmente eliminados pelo humor vítreo, necessitando de administrações repetidas, responsáveis por uma maior toxicidade.

3.2.1. Aplicação para administração ocular

A Tabela 6 apresenta vários estudos que demonstram a vantagem da utilização de lipossomas a nível da administração ocular. Exemplos de fármacos usados em oftalmologia que têm sido veiculados em lipossomas são: a pilocarpina (Durrani *et al.*, 1992), a ofloxacina (Wiechens *et al.*, 1999), o cloranfenicol (Mahmoud *et al.*, 2008). Shen e Tu (2007) demonstraram que o ganciclovir veiculado num lipossoma catiónico apresentava uma absorção superior quando comparada com os lipossomas neutros ou aniónicos.

Tabela 6 - Estudo da eficácia dos lipossomas para a administração ocular.

Fármaco (utilização terapêutica)	Sistema de veiculação	Principais resultados	Referência
Fluconazol (anti-fúngico - tratamento da ceratite)	Lipossomas	Comparação do efeito do fluconazol veiculado em lipossomas e em solução no tratamento da ceratite	Habib <i>et al.</i> , 2010

		(por <i>C. albicans</i>) em coelhos; Quando veiculado em lipossomas, o fluconazol é mais eficaz na eliminação do fungo.	
Diclofenac de sódio (anti-inflamatório)	Lipossomas catiónicos	Aumento da biodisponibilidade e do tempo de contacto com a córnea.	Sun <i>et al.</i> , 2006
Pilocarpina (redução da pressão intraocular - tratamento do glaucoma)	Lipossomas revestidos com polímero mucoadesivo (Carbopol [®] 1342)	Libertação controlada <i>in vitro</i> ; Prolongamento da acção terapêutica <i>in vivo</i> (coelhos).	Durrani <i>et al.</i> , 1992
Acetazolamida (redução da pressão intraocular - tratamento do glaucoma)	Lipossomas carregados Lipossomas neutros	Diminuição das reacções adversas; Lipossomas catiónicos possuem uma capacidade de encapsulação superior pelo facto da acetazolamida ser um ácido fraco, ocorrendo uma atracção electrostática quando em contacto com a esterilamina, que possui carga positiva; Lipossomas catiónicos apresentam uma maior afinidade para a	El-Gazayerly e Hikal, 1997

		superfície da córnea do que os neutros ou os de carga negativa, pois interagem com moléculas da superfície da córnea que possuem carga negativa; Os lipossomas neutros permitem uma libertação prolongada.	
Ganciclovir (antiviral)	Lipossomas	Aumento da acção farmacológica; Ausência de toxicidade.	Peyman <i>et al.</i> , 1988

3.3. Nanopartículas

Quando se utilizam nanopartículas como sistemas de transporte de fármacos, estas devem ser biocompatíveis com o local da aplicação (Diebold e Calonge, 2010). Segundo McNeil (2005) são as características físico-químicas (e.g. tamanho, forma, carga, solubilidade) que influenciam a biocompatibilidade das nanopartículas. Desta forma, Kipen e Laskin (2005) alertam para o facto de que as características que lhes conferem capacidade para serem utilizados como veículos de fármacos podem causar reacções de toxicidade. Por exemplo, quanto mais pequena for a nanopartícula melhor actua a nível celular. Por sua vez, quanto menor é o tamanho maior é a sua reactividade, logo podem causar toxicidade celular.

Os principais riscos da administração de nanopartículas estão relacionados com a probabilidade de agregação, a acumulação nos tecidos alvo e a adsorção de proteínas do sangue (Diebold e Calonge, 2010). Relativamente ao fenómeno de agregação, se este ocorrer após uma administração ocular tópica, pode causar um bloqueio no metabolismo celular, ou seja, bloquear a drenagem lacrimal. Quando ocorre a acumulação do fármaco no tecido ocular pode haver a alteração da função dos tecidos e a da adsorção. Numa administração intraocular pode comprometer a barreira hemato-retiniana.

As nanopartículas são frequentemente absorvidas pelos nódulos linfáticos e distribuídas pelo sistema linfático (Diebold e Calonge, 2010). Prow (2010) publicou um artigo em que resumiu a toxicidade (*in vivo* e *in vitro*) dos materiais usados para a preparação de nanopartículas para administração ocular. Os tipos de toxicidade causada estão relacionados com alterações na morfologia e na viabilidade das células, avaliação dos sinais clínicos, teste de irritação e avaliação histológica.

A nanotecnologia quando aplicada no tratamento de patologias oculares pode melhorar a actividade terapêutica do fármaco quando comparado com os sistemas convencionais (Wadhwa *et al.*, 2009). Com a utilização da nanotecnologia é possível dirigir o fármaco para um determinado local do olho, garantindo que se alcança a dose terapêutica e ocorra uma diminuição dos efeitos adversos.

A distribuição dos fármacos no tratamento de patologias oculares é influenciada por diversos factores, nomeadamente (Guinedi *et al.*, 2005): (i) dimensão da nanopartícula; (ii) a baixa irritação; (iii) a biodisponibilidade do fármaco e (iv) a biocompatibilidade. Estas são características fundamentais que se devem ter em consideração no momento da escolha dos componentes da nanopartícula que vai veicular o fármaco. Desta forma, a formulação com nanopartículas desenvolvida não deve causar visão turva ou qualquer tipo de irritação (Bourlais *et al.*, 1998).

Quando se trata de sistemas de veiculação de fármacos, o tratamento tecnológico é um aspecto importante, pois idealmente o sistema deve ser capaz de controlar a libertação do fármaco (Diebold e Calonge, 2010; Vanderwoot e Ludwig, 2007; Sahoo *et al.*, 2008). O controlo da libertação pode ser temporal ou espacial. O tratamento tecnológico tem como principal objectivo manipular parâmetros como a farmacocinética, a farmacodinâmica, a redução dos efeitos secundários e a melhoria da eficácia terapêutica. Por conseguinte, estes sistemas são desenvolvidos para promover uma retenção do fármaco e, conseqüentemente, permitir um aumento do tempo de contacto com o globo ocular, prolongando a duração de acção e a biodisponibilidade (Araújo *et al.*, 2009). Desta forma, devido ao reduzido tamanho das nanopartículas, estes vectores coloidais são geralmente bem toleradas e podem possuir propriedades adesivas (e.g. uso de polímeros mucoadesivos) que permitem um aumento do tempo de residência do medicamento no local de acção. Segundo estes autores, as nanopartículas quando usadas como sistemas de transporte do fármaco a nível ocular apresentam ainda outras

vantagens, tais como (Araújo *et al.*, 2009): a administração pelo próprio utente, não causa a turvação da visão pois são partículas de dimensões muito reduzidas, protecção contra as enzimas metabólicas, melhora a penetração nas células da córnea e, caso seja direccionada para o local alvo, há redução dos efeitos secundários.

3.3.1. Nanopartículas lipídicas

As nanopartículas lipídicas são partículas sólidas cujo diâmetro se encontra compreendido entre os 50 a 1000 nm (Muller *et al.*, 2000). Este tipo de nanopartículas são constituídas por uma matriz sólida contendo um núcleo lipídico, apresentando uma elevada capacidade de incorporar fármacos com características lipófilas, estabilizadas por agentes tensioactivos (Muller *et al.*, 2000; Muller *et al.*, 2002; Araújo *et al.*, 2009). Os agentes tensioactivos utilizados na preparação das nanopartículas lipídicas podem ser de diferentes tipos, entre os quais: a lecitina, os fosfolípidos, os sais biliares, os ácidos gordos e os éteres de sorbitano etoxilados (Araújo *et al.*, 2009).

As nanopartículas lipídicas apresentam várias vantagens, tais como (Araújo *et al.*, 2009; Mehnert e Mader 2001): (i) elevada estabilidade física; (ii) ausência de problemas relacionados com os métodos de esterilização; (iii) suposta baixa toxicidade, aguda ou crónica, pois os excipientes utilizados na preparação são consideradas “Generally Regarded as Safe” (i.e. possuem o “GRAS status”; (iv) protecção dos fármacos contra a degradação enzimática; (v) possibilidade de modelar a libertação do fármaco através da matriz sólida; (vi) bem tolerados *in vivo*; (vii) baixo custo de produção; (viii) facilidade na transposição para a produção em larga escala; (ix) não é necessário recorrer à utilização de solventes orgânicos; (x) possibilidade de direccionar o fármaco para o local alvo.

A esterilização das nanopartículas é efectuada recorrendo a vários métodos, tais como (Mehnert e Mader, 2001): (i) produção asséptica; (ii) filtração esterilizante, quando o tamanho das nanopartículas lipídicas é inferior a 0,2 μm ; (iii) irradiação γ . Quando efectuada, a esterilização, não pode alterar as propriedades da formulação nem a farmacocinética do fármaco.

As nanopartículas lipídicas dividem-se em dois tipos: as nanopartículas de lípidos sólidos (SLN) e os vectores lipídicos nanoestruturados (NLC). As primeiras a serem

desenvolvidas foram as SLN na década de 50 (Müller *et al.*, 1995), sendo constituídas por uma matriz sólida à temperatura ambiente e corporal. A matriz sólida é formada por lípidos semelhantes aos fisiológicos. As nanopartículas lipídicas encontram-se revestidas por agentes tensioactivos. A forma e a estrutura deste tipo de nanopartículas variam mediante diversos factores, tais como: o(s) lípido(s) usado(s), o fármaco a encapsular, o agente tensioactivo e o método de produção. As SLN apresentam uma baixa capacidade de carga podendo ocorrer a expulsão do fármaco encapsulado, uma vez que, com o armazenamento, os lípidos tendem a tornar a sua matriz lipídica numa matriz mais organizada, o que leva à expulsão do fármaco (Souto *et al.*, 2006). Na tentativa de ultrapassar esta desvantagem foram desenvolvidos os NLC. Os NLC são constituídos por uma mistura de lípidos sólidos e lípidos líquidos à temperatura ambiente e corporal. Desta forma, a matriz formada possui uma elevada imperfeição, aumentando a capacidade de carga quando comparada com as SLN (Wissing e Müller, 2002; Jennings *et al.*, 2000 (a) e Müller *et al.*, 2004). A Figura 8 ilustra as diferenças na matriz das SLN e dos NLC.

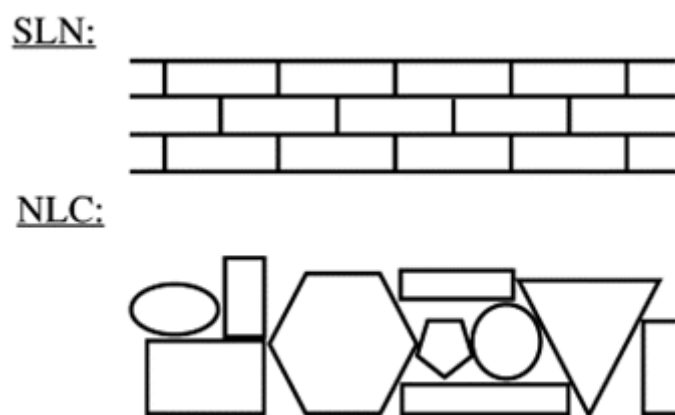


Figura 8 - Representação esquemática da estrutura perfeita das SLN e da estrutura imperfeita dos NLC (adaptado de Müller *et al.*, 2002).

O modelo de incorporação do fármaco varia de acordo com a nanopartícula lipídica (Cavalli *et al.*, 2002). No caso das SLN, existem descritos na literatura três modelos de incorporação do fármaco: o modelo da matriz homogénea, o modelo de parede de fármaco e o modelo de núcleo de fármaco (Figura 9).



Figura 9 - Modelos representativos da incorporação do fármaco nas SLN (adaptado de Müller *et al.*, 2002).

No modelo de matriz homogênea, o fármaco encontra-se molecularmente disperso de uma forma uniforme no núcleo lipídico da partícula ou está presente na forma de aglomerados amorfos (Müller *et al.*, 2000). Este modelo é usado quando se pretende uma libertação modificada do fármaco. Quando a SLN apresenta uma parede externa rica em fármaco e um núcleo lipídico com ausência de fármaco representam o modelo de parede de fármaco (Wissing e Müller, 2002). Este modelo não permite que haja uma libertação modificada do fármaco, pois o fármaco está na superfície da nanopartícula. No modelo de núcleo de fármaco ocorre a situação inversa, isto é, apresenta um núcleo de fármaco e uma parede de lipídio, permitindo uma libertação modificada do fármaco.

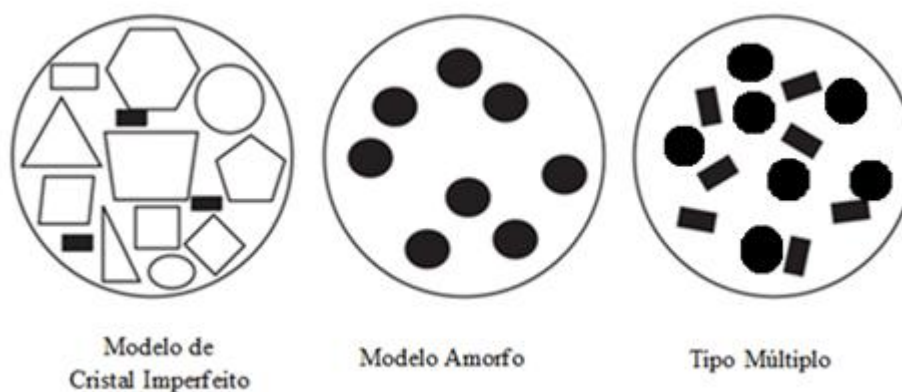


Figura 10 - Modelos representativos da incorporação do fármaco nos NLC (adaptado de Souto *et al.*, 2007).

A literatura também refere três modelos de incorporação de fármaco nos NLC, designadamente: o modelo de cristal imperfeito, o modelo amorfo e o modelo múltiplo (Figura 10). No modelo de cristal imperfeito, a matriz possui muitas imperfeições

devido à mistura dos lípidos sólidos com os lípidos líquidos, permitindo a acomodação de uma elevada quantidade de fármaco (Wissing e Müller, 2002). O modelo amorfo é obtido utilizando lípidos que não cristalizam após a homogeneização (e.g. hidroxi-octacosanil-estearato, miristato de isopropilo e adipato de dibutilo). Desta forma, não correm o risco de recrystalizar durante o armazenamento e efectuar a expulsão do fármaco da sua matriz. O modelo múltiplo é comparado a uma emulsão do tipo óleo em lípido sólido em água. Como a maioria dos fármacos com característica lipófila possui maior solubilidade em óleos do que em lípidos sólidos, este tipo de NLC permite um aumento da capacidade de carga quando comparado com os outros modelos (Wissing e Müller, 2002; Jennings *et al.* 2000 (b)).

As nanopartículas lipídicas são utilizadas como sistemas de veiculação de fármacos devido à elevada capacidade de entrega (Attama *et al.*, 2008). Tal fenómeno ocorre devido ao tamanho reduzido das nanopartículas, o que lhes garante uma elevada estabilidade quando em contacto com a mucosa ocular. Segundo Attama *et al.* (2008), a toxicidade causada por uma nanopartícula lipídica quando comparada com a nanopartícula polimérica é praticamente nula, pelo que estes sistemas são uma alternativa atractiva para o futuro.

3.3.2. Nanopartículas poliméricas

As nanopartículas são sistemas extremamente versáteis e possuem um tamanho de partícula compreendido entre 10 a 1000 nm (Diebold e Calonge, 2010). As nanopartículas poliméricas dividem-se de acordo com o método de preparação em nanoesferas e em nanocápsulas. As nanoesferas são nanoestruturas matriciais, formadas por polímeros biodegradáveis. Este tipo de nanopartícula evita a acumulação dos fármacos nos tecidos oculares, podendo o fármaco ser adsorvido à superfície da nanopartícula. As nanocápsulas possuem um reservatório onde o fármaco é dissolvido, com uma parede circundante formada por um material polimérico (Diebold e Calonge, 2010; Réus *et al.*, 2009; Mainardes e Silva, 2004). A Figura 11 apresenta uma representação das nanopartículas poliméricas.

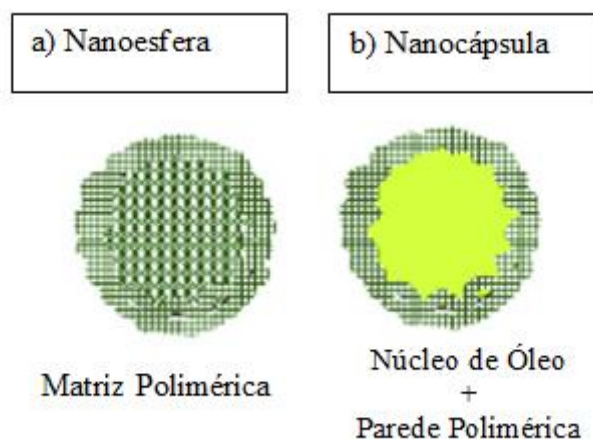


Figura 11 - Representação esquemática das nanopartículas polimérica a) nanoesfera e b) nanocápsula (adaptado de Diebold e Calonge, 2010).

O material usado na preparação das nanopartículas poliméricas pode ser orgânico, sendo à base de carbono, e os biopolímeros, nos quais se incluem os materiais inorgânicos, metálicos e semicondutores (Diebold e Calonge, 2010). Os materiais mais frequentemente utilizados são os poliacrilatos, os polialquilcianoacrilatos, o poliláctido, as policaprolactonas, o dextrano, a albumina, o alginato, a gelatina, o colagénio, o ácido hialurónico, e o quitosano. O material utilizado na preparação das nanopartículas poliméricas é seleccionado mediante a fixação do fármaco, isto é, por encapsulação, aprisionamento, adsorção ou ligação.

Os materiais utilizados vão influenciar a interacção das nanopartículas poliméricas com as proteínas plasmáticas e com as células imunitárias. Por exemplo, se a nanopartícula for revestida por cadeias de polietilenoglicol (PEG), a fagocitose das nanopartículas pelas células é impedida (Diebold e Calonge, 2010; Dobrovolskaia *et al.*, 2008; Dobrovolskaia e McNeil, 2007). As características das nanopartículas poliméricas, nomeadamente, tamanho, carga e características físico-químicas, podem ser influenciadas tendo em conta os materiais utilizados e o método de preparação (Diebold e Calonge, 2010).

Segundo Fuente *et al.* (2010), a toxicidade dos materiais é fundamental, uma vez que a maioria dos sistemas é destinada à aplicação crónica. Caso o material cause danos a nível das células da mucosa ocular pode afectar seriamente a visão dos utentes. Relativamente à toxicidade dos materiais usados na preparação das nanopartículas

poliméricas importa considerar os produtos resultantes da sua biodegradação (Zimmer e Kreuter, 1995). Estudos realizados em nanopartículas de albumina, sistemas biodegradáveis e bem tolerados, demonstraram que estas não causam efeitos adversos e que a biodegradação *in vivo* das nanopartículas não depende da actividade enzimática (Zimmer *et al.*, 1994). Um material bastante utilizado é o ácido poliláctico pela sua elevada biocompatibilidade e biodegradabilidade (Zimmer e Kreuter, 1995). Diversos estudos têm sido realizados para verificar a toxicidade das nanopartículas revestidas por quitosano na mucosa ocular (Felt *et al.*, 1999). Estudos realizados *in vivo* demonstram que a aplicação tópica a nível ocular causa vários sinais de desconforto e irritação ocular (Felt *et al.*, 1999). O polímero de quitosano é um material bastante usado nas formulações de administração ocular, por ser considerado um material seguro (Felt *et al.*, 1999; He *et al.*, 1998). O quitosano é mucoadesivo, biodegradável, possui propriedades antimicrobiana e cicatrizantes e não apresenta toxicidade. A capacidade de mucoadesão deste polímero está relacionada com a formação de ligações químicas secundárias, por exemplo, pontes de hidrogénio e interacções iónicas, entre as cargas positivas do grupo amina do quitosano e as cargas negativas presentes dos resíduos do ácido siálico presente nas mucinas (Ludwing, 2005; Felt, *et al.*, 1999; Boonsorgrint *et al.*, 2005).

Com o objectivo de aumentar a permeabilidade das nanopartículas poliméricas utilizam-se polímeros catiónicos devido às forças de atracção molecular (Réus *et al.*, 2009).

3.3.3. Aplicação para administração ocular

Na Tabela 7 são apresentados diversos estudos realizados recorrendo à utilização das nanopartículas para administração ocular. De uma maneira geral, os estudos demonstram como estes sistemas melhoram a acção dos fármacos neles administrados.

Tabela 7 - Estudo da eficácia das nanopartículas lipídicas e poliméricas para administração ocular.

Fármaco (utilização terapêutica)	Sistema de veiculação	Principais resultados	Referência
Diclofenac de sódio (anti- inflamatório)	SLN	A presença de fosfolípidos nas SLN permite uma libertação controlada e um aumento da penetração <i>in vitro</i> (córnea humana artificial).	Attama <i>et al.</i> , 2008
Ibuprofeno (anti- inflamatório)	NLC	Ausência de irritação ocular significativa (teste em coelhos); A presença de Gelucire 44/14 e Transcutol P (i.e. adjuvantes de permeação) permitiu aumentar a permeabilidade do fármaco na córnea; A presença de estearilamina permitiu aumentar o tempo de retenção pré-ocular do fármaco na córnea.	Li <i>et al.</i> , 2008
Flurbiprofeno (anti- inflamatório)	NLC revestidos com quitosano	Elevada eficácia de libertação do fármaco, capacidade mucoadesiva e velocidade de penetração.	Luo <i>et al.</i> , 2011
Corante Hidrolisável	Nanopartículas poliméricas hidrolisáveis administradas na forma de gotas	A natureza físico-química das nanopartículas com compostos hidrolisáveis aumenta a penetração do fármaco.	Baba <i>et al.</i> , 2011

Composto Florescente	Nanopartículas de quitosano	Libertação controlada; Ausência de toxicidade <i>in vitro</i> (epitélio da córnea e da conjuntiva).	Campos <i>et al.</i> , 2004
Ciclosporina A (imunomodulador - tratamento da ceratoconjuntivite sicca)	Nanopartículas poliméricas de PLGA (polilactídeo-co-glicólido) ou mistura de PLGA com Eudragit [®] revetidas por Carbopol [®]	Elevada capacidade de encapsulação do fármaco (83 a 95%); Libertação bifásica, libertação rápida inicialmente seguida de uma libertação lenta durante 24 horas; Melhoria da retenção e da biodisponibilidade do fármaco a nível ocular.	Aksungur <i>et al.</i> , 2011
Natamicina (antimicótico)	Nanopartículas mucoadesivas de lecitina e quitosano	Libertação bifásica; Aumento da permanência ocular; Redução da frequência da administração.	Bhatta <i>et al.</i> , 2012

O polihexilcianoacrilato permite o aumento da capacidade de adesão das nanopartículas à superfície da córnea e da conjuntiva, e da biodegradabilidade no fluido lacrimal. Assim, é possível concluir que o polímero apresenta propriedades mucoadesivas, uma vez que possui a capacidade de interagir com a mucina através de pontes de hidrogénio, interações electrostáticas e interações hidrofóbicas (Vasir *et al.*, 2003).

3.4. Hidrogel

Os hidrogeles são estruturas tridimensionais que formam redes poliméricas (Figura 12), com características hidrófilas e, assim, conseguem absorver uma elevada quantidade de água (Gaudana *et al.*, 2008). A sua capacidade de absorção de água, ou mesmo fluídos biológicos, está relacionada com os grupos hidrófilos presentes nos materiais usados na preparação destes sistemas (Peppas e Khare, 1993). Segundo Lin e Metters (2006), os

hidrogeles com características hidrófilas possuem uma estrutura simples e apenas ocasionalmente necessitam de solventes orgânicos para a sua preparação. Para a preparação do hidrogel, ou aumento da sua viscosidade, são várias as metodologias utilizadas, tais como a variação da temperatura, do pH ou da força iónica (Gaudana *et al.*, 2008; Wadhwa *et al.*, 2009).

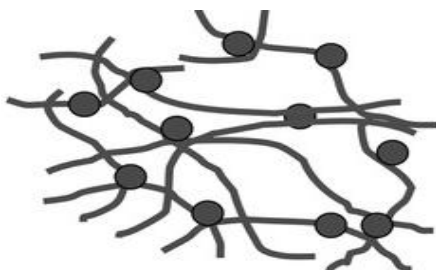


Figura 12 - Representação esquemática do hidrogel (adaptado de http://www.springerimages.com/Images/RSS/1-10.1007_s10439-010-0135-y-1).

O facto de o hidrogel poder absorver quantidades de água elevadas faz com que algumas das suas propriedades físicas sejam semelhantes à dos tecidos do organismo, possuindo uma consistência macia e uma baixa tensão interfacial quando em contacto com os fluídos biológicos (Blanco *et al.*, 1996).

Os hidrogeles podem sofrer a gelificação após a administração ou estar previamente formados. Os que se encontram previamente formados são definidos como preparações com elevada viscosidade. Os que se formam no momento da administração, gelificação *in situ*, são líquidos viscosos que quando expostos a dadas condições passam à fase de gel, assim apresentam como vantagem a possibilidade de administração de quantidades precisas e reprodutíveis (Kumar *et al.*, 1994; Mazuel e Friteyre, 1989).

A utilização de hidrogeles como sistemas para administração ocular permite aumentar o tempo de contacto do fármaco devido à viscosidade e às propriedades mucoadesivas apresentadas por estes sistemas (Bourlais *et al.*, 1998). Os polímeros bioadesivos podem ser utilizados para a formulação dos hidrogeles.

Normalmente, os polímeros usados para a preparação destes sistemas com aplicação farmacológica podem ter origem natural ou sinética, podendo ser formados exclusivamente por um tipo de material ou uma mistura de ambos (Hoffman, 2002). Estes polímeros permitem uma melhor acção dos fármacos, pois aumentam o tempo de

contacto da preparação como local de administração, reduzindo a frequência de administração. Este fenómeno ocorre devido às ligações não covalentes formadas com a mucina presente nas membranas de revestimento. Os hidrogéis formados por polímeros de origem natural, apesar da probabilidade de ocorrer reacções imunológicas e consequentemente inflamações, possuem várias vantagens, tais como: (i) reduzida toxicidade; (ii) biocompatibilidade; e (iii) porções biológicas que são reconhecidas na actividade celular (Coviello *et al.*, 2007; Lin e Metters, 2006). Contudo, os hidrogéis formados com polímeros sintéticos possuem uma cinética de degradação com uma melhor definição (Hamidi *et al.*, 2008).

Um dos polímeros mais utilizados para a produção do hidrogel é o poloxâmero, uma vez que possui uma zona central lipófila que se encontra rodeada por cadeias hidrófilas (El-Kamel, 2002). Este polímero aumenta o tempo de residência dos fármacos apesar de sofrer rapidamente erosão e ser facilmente biodegradável. Várias investigações têm demonstrado que o ácido hialurónico, um potente polímero pseudoplástico mucoadesivo, melhora a protecção da córnea. O ácido hialurónico está presente em diversas estruturas do olho como no humor vítreo e no humor aquoso (Liesang, 1990; Saettone *et al.*, 1989; Marriott e Gregory, 1990).

Outro material usado na preparação de hidrogéis de administração ocular é a goma gelana, ocorrendo a gelificação *in situ*. Esta é um polissacárido aniónico formulado na forma de solução aquosa, em que a transição para gel ocorre com o aumento da força iónica (Mazuel e Friteyre, 1989). Segundo Greaves e os seus colaboradores (1990) a gelificação deste polímero é proporcional aos catiões monovalentes ou bivalentes presentes no fluido lacrimal, ao contrário do que ocorre com outros sistemas de administração (e.g. colírio, pomada oftálmica).

São vários os processos que influenciam a libertação do fármaco da matriz do hidrogel, tais como: as características físico-químicas do hidrogel e o método de incorporação do fármaco (Lin e Metters, 2006). Segundo estes autores, os principais mecanismos de libertação descritos na literatura são a difusão, o intumescimento, as reacções químicas e a gelificação *in situ*.

Os hidrogéis apresentam características físico-químicas e biológicas que os tornam num sistema atractivo para a veiculação de fármacos (Pluta e Karolewicz, 2004; St'astný *et al.*, 2002). Os hidrogéis apresentam várias vantagens, quando comparado

com os sistemas convencionais, para a administração ocular, tais como (Santos e Almeida, 2011): (i) propriedades que impedem a sua drenagem; (ii) facilidade de administração; e (iii) possibilidade de administração na forma líquida e, posterior, gelificação. As desvantagens dos hidrogéis estão associadas à sua viscosidade, uma vez que a elevada viscosidade provoca no utente um desconforto, devido à dificuldade de movimentar as pálpebras e à visão turva (Zignani *et al.*, 1995).

Considerando as propriedades dos hidrogéis, estes sistemas são utilizados como sistemas de veiculação de fármaco e substitutos lacrimais (Chrai e Robinson, 1974). A viscosidade dos hidrogéis proporciona um aumento da biodisponibilidade do fármaco, quer por aumento do tempo de contacto, quer por evitar a drenagem da preparação.

3.4.1. Aplicação para administração ocular

Tabela 8 - Estudo da eficácia de hidrogéis para administração ocular.

Fármaco (utilização terapêutica)	Sistemas de veiculação	Principais resultados	Referência
Gatifloxacina (antibiótico)	Hidrogel de alginato e hidroxipropilmetilcelulose (gelificação <i>in situ</i>)	Maior retenção no local de administração.	Liu <i>et al.</i> , 2006
Brimonidina e Maleato de timolol (redução da pressão intraocular - tratamento do glaucoma)	Hidrogel de dendrímero de poliamidoamina	Melhor entrega dos fármacos comparativamente à administração sob a forma de colírio (solução); O maleato de timolol possui uma maior captação no epitélio da córnea bovina.	Holden <i>et al.</i> , 2012
Fluconazol (antifúngico)	Hidrogel de poloxâmero/quitosano	Libertação sustentada do	Gratieri <i>et al.</i> , 2011

	(gelificação <i>in situ</i>)	fluconazol <i>in vitro</i> ; <i>In vivo</i> há um aumento da permeação do fármaco.	
Pilocarpina (redução da pressão intraocular - tratamento do glaucoma)	Hidrogel de alginato (gelificação <i>in situ</i>)	Aumento da duração do efeito.	Cohen <i>et al.</i> , 1997

3.5. Implantes

O uso de implantes para a aplicação ocular requer que estes sejam biocompatíveis, inertes, não carcinogénicos, hipoalergénicos, estáveis, isentos de resposta inflamatória, que se ajustem e que não sofram modificação das características físicas e químicas por contacto com o local de aplicação (Fialho *et al.*, 2003, Wadhwa *et al.*, 2009; Athanasiou *et al.*, 1996).

Os implantes podem ser classificados, considerando o material da sua preparação, como: biodegradáveis ou não biodegradáveis. Relativamente ao tipo de sistema são classificados como matriciais ou reservatórios (Kimura e Ogura, 2001; Dash e Cudworth, 1998). No sistema matricial, o fármaco encontra-se disperso de forma homogénea na matriz ou adsorvido à superfície, sendo a libertação feita por difusão ou degradação do polímero (Fialho *et al.*, 2003). No caso de o implante ser formado por polímeros não biodegradáveis, a libertação do fármaco ocorre apenas por difusão. No sistema reservatório, o fármaco encontra-se numa cavidade revestida por uma membrana polimérica, responsável pelo controlo da libertação. Desta forma, o perfil de libertação do fármaco depende das características da membrana (e.g. espessura). O mecanismo de libertação é igual ao que ocorre nos sistemas matriciais.

Os polímeros não biodegradáveis necessitam de ser removidos cirurgicamente após a sua utilização (Kimura e Ogura, 2001). Os mais utilizados em aplicação ocular são os silicões, os polímeros acrílicos, a polivinilfinolidona e os co polímeros dos óxidos de

etileno e propileno. Os polímeros biodegradáveis são absorvidos pelo organismo, não necessitando de remoção cirúrgica, o que aumenta a aceitação por parte do utente. Apesar das vantagens referidas, o implante biodegradável pode sofrer alterações durante a biodegradação, o que pode levar a uma alteração da libertação do fármaco (Dash e Cudworth, 1998). A biodegradação do polímero deve ser controlada para garantir que a libertação do fármaco é constante. Desta forma, factores como: alterações no pH, na temperatura e a presença dos sistemas enzimáticos devem ser considerados durante os estudos de formulação do sistema. Os polímeros podem ser naturais (e.g. albumina, gelatina e colagénio) ou sintéticos (e.g. poliamidas, poliaminoácidos, poliésteres e poliacrilamidas) (Fialho *et al.*, 2003). Os polímeros de origem natural podem causar reacções imunológicas, devido à actividade antigénica.

Os implantes podem ser utilizados em várias regiões do globo ocular, tais como: região subconjuntival, esclerótica, câmara anterior e humor vítreo. À medida que a profundidade da zona é cada vez maior, mais difícil o procedimento de administração, mas mais eficaz é o sistema (Kimura e Ogura, 2001). São potencialmente utilizados como sistemas de administração de fármacos para doentes crónicos (Wadhwa *et al.*, 2009).

Para a aplicação tópica de fármacos a nível ocular podem também ser utilizadas lentes de contacto carregadas com nanopartículas. Vários estudos demonstraram que o tempo de permanência do fármaco a nível do fluido lacrimal aumenta quando utilizadas as lentes de contacto em comparação com as gotas convencionais (Bourlais *et al.*, 1998; McNamara *et al.*, 1999). A administração dos fármacos através dos implantes permite a diminuição da absorção do fármaco a nível da corrente sanguínea, quer a absorção ocorra a nível da conjuntiva ou do ducto nasolacrimal. Para além desta vantagem, este sistema permite uma libertação contínua dos fármacos, pois a difusão das nanopartículas na matriz da lente ocorre de forma lenta (Sahoo *et al.*, 2008).

Apesar das vantagens da utilização das lentes de contacto, estas também apresentam várias limitações, tais como: (i) a quantidade de fármaco incorporado depende do equilíbrio de solubilidade do fármaco na matriz da lente; (ii) quando a lente é carregada por imersão, o processo de difusão dura poucas horas (Sahoo *et al.*, 2008).

Várias experiências, realizadas por Gulsen e Chauhan (2004 e 2005), demonstraram que o tempo de contacto do fármaco com o local de administração aumentou

significativamente quando incorporado num hidrogel. Nesta formulação, o fármaco estava adsorvido às nanopartículas que se encontravam dispersas no hidrogel. A libertação inicial correspondeu ao fármaco que se encontrava adsorvido nas nanopartículas. A libertação mais lenta correspondeu ao fármaco que se encontrava aprisionado nas gotículas de óleo que fazem parte da constituição do hidrogel. Apesar da utilização destes sistemas, parte do fármaco alojado no implante passa para o fluido lacrimal.

3.5.1. Aplicação para administração ocular

Na Tabela 9 são apresentados estudos e os respectivos resultados da utilização dos implantes como sistema de veiculação para o tratamento de patologias a nível do globo ocular.

Tabela 9 - Estudo da eficácia de implantes para administração ocular.

Fármaco (utilização terapêutica)	Sistemas de veiculação	Principais resultados	Referência
Triancinolona (anti- inflamatório)	Implantes preparados com Simulsol [®] ou oligómeros de malonato de metilideno.	Libertação do fármaco durante 5 semanas; Biocompatibilidade, bem tolerados e ausência de inflamação <i>in vivo</i> (coelhos).	Felt-Baeyens <i>et al.</i> , 2006
Ciprofloxacina (antibiótico)	Implantes preparados com álcool polivinílico e carboximetilcelulose sódica.	Apresenta um ângulo de contacto 45° que permite ser molhado pelo fluido lacrimal, resistir à tracção e à pressão; Libertação modificada do fármaco durante 48	Jain <i>et al.</i> , 2010

horas;
Aumento da
penetração do fármaco
in vivo (cabras);
Ausência de toxicidade
nas células epiteliais
corneanas *in vivo*
(cabras) e toxicidade
aguda *in vivo*
(coelhos).

A primeira formulação comercializada, nos Estados Unidos, na forma de implante ocular foi o Ocusert de pilocarpina (Ali e Lehmuusaari, 2006). Neste sistema, a concentração de fármaco pode variar, sendo especificado segundo a biodisponibilidade de pilocarpina *in vivo*. Este implante possui uma forma elíptica, é flexível e macio de forma a poder ser colocado sem causar incómodo para o utente. A libertação do fármaco mantém-se constante durante uma semana. O sistema é formado pelo fármaco, o reservatório e a plataforma, sendo o material de suporte constituído por ácido algínico. Tendo em conta que a plataforma é formada pelo material de suporte e é nela que se encontra o reservatório com o fármaco. O seu uso é limitado, pois a maioria dos utentes com glaucoma são idosos, e torna-se difícil a remoção do implante todas as semanas.

3.6. Ciclodextrinas

As ciclodextrinas, quando se encontram na forma natural, estão na forma de pó cristalino branco, possuindo uma elevada estabilidade. Estes compostos representam estruturas rígidas, sendo estabilizados por ligações de hidrogénio (Loftsson e Brewster, 1996). Desta forma, as ciclodextrinas são oligossacáridos macrocíclicos que formam um complexo que permite o alojamento de vários fármacos. Apresentam uma estrutura tronco-cónica, podendo melhorar a solubilidade em água de alguns fármacos lipófilos, sem que haja modificação da sua estrutura molecular e das suas capacidades intrínsecas para permear as membranas biológicas (Loftssona e Järvinen, 1999). Tal ocorre por

possuírem uma superfície exterior hidrófila, devido aos grupos hidróxilo dos resíduos da glucose, e o interior lipófilo, pela presença de átomos de carbono com os de hidrogénio e o anel de átomos de oxigénio glucosídeos (Cal e Centkowka, 2008). Os electrões livres dos átomos de oxigénio, virados para o interior da estrutura, conferem-lhe uma elevada densidade electrónica (Griffiths e Bender, 1973; Szejtli, 1985). A Figura 14 mostra uma representação da estrutura atómica e molecular das ciclodextrinas.

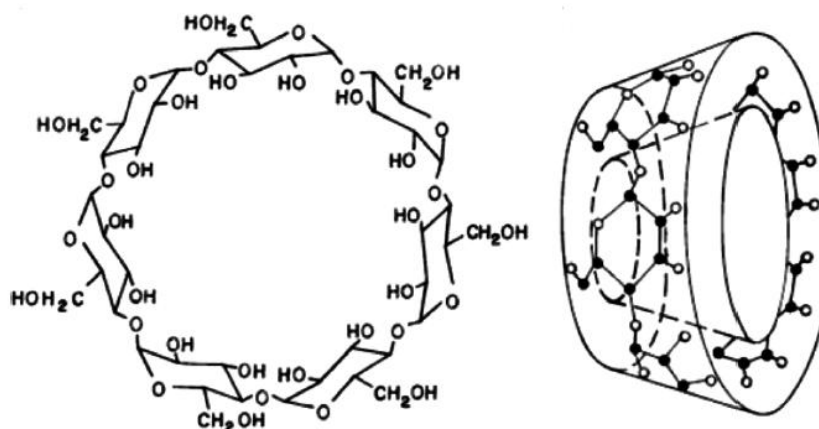


Figura 14 - Representação da ciclodextrina: a) estrutura atómica, b) estrutura molecular (adaptado de Cal e Centkowka, 2008).

Quando consultada a legislação, o uso das ciclodextrinas não se encontra bem definido, o que causa dificuldades na utilização destes compostos como excipientes na formulação dos medicamentos (Cal e Centkowka, 2008).

São diversas as vantagens da utilização das ciclodextrinas, uma vez que estas permitem efectuar alterações das propriedades físicas, químicas e biofarmacêuticas dos fármacos de uma forma menos dispendiosa do que outras técnicas (Fromming e Szejtli, 1994). A encapsulação dos fármacos nas ciclodextrinas permite (Fromming e Szejtli, 1994): (i) melhorar a solubilidade, dissolução e biodisponibilidade dos fármacos; (ii) diminuição dos efeitos secundários; (iii) diminuição das interações farmacológicas, quando se recorre à administração de fármacos incompatíveis; (iv) incremento da estabilidade dos fármacos em solução; (v) aumento da estabilidade dos fármacos, encapsulados nas ciclodextrinas, em suspensões e emulsões; e (vi) redução da volatilidade de substâncias voláteis. As ciclodextrinas permitem que um fármaco líquido, que seja convertido a pó, seja incorporado numa forma sólida de forma a permitir um manuseamento facilitado na

preparação (Veiga e Figueiras, 2011). Apesar de referido que as ciclodextrinas aumentam a estabilidade física e química dos fármacos, estudos demonstraram que esta também pode ser reduzida quando os fármacos sofrem hidrólise devido aos grupos hidróxilo presentes na ciclodextrina (Loftsson e Brewster, 1996).

Quando incorporados fármacos com características hidrófilas na ciclodextrina ocorre uma diminuição da biodisponibilidade e da permeabilidade ocular (Loftsson e Stefánsson, 1997). Este fenómeno é diminuído, se não mesmo eliminado, quando adicionadas pequenas quantidades de polímeros hidrossolúveis que incrementam a viscosidade da preparação, aumentando a permeabilidade e a eficácia da encapsulação (Loftsson *et al.*, 1994; Sigurdardóttir e Loftsson, 1995).

A administração de ciclodextrinas em preparações oftálmicas está associada ao aumento da permeabilidade dos fármacos na córnea (Sahoo, *et al.* 2008). As ciclodextrinas actuam por interacção com as membranas biológicas permitindo a absorção ocular.

Uma diluição reduzida, através das lágrimas, do complexo de inclusão e o reduzido tempo de contacto na área pré-corneal limitam a aplicação destas estruturas na administração ocular (Loftsson e Jarvinen, 1999). Uma possível citotoxicidade causada pela ciclodextrina a nível das membranas presentes na córnea pode estar relacionada com a interacção com componentes da membrana, colesterol, fosfolípidos e proteínas (Saarinen-Savolainen *et al.*, 1998).

As ciclodextrinas formam complexos de inclusão que diminuem a irritação das substâncias de administração ocular, pelo que podem ainda ser substitutos de aditivos irritantes (Loftsson e Jarvinen, 1999). No caso das ciclodextrinas metiladas pode ocorrer irritação e até mesmo serem corrosivas (Fromming e Szejtli, 1994). Assim, vários estudos realizados *in vitro*, utilizando uma linha celular do epitélio da córnea humana, demonstraram que os efeitos tóxicos da ciclodextrina dimetilada pode ocorrer 5 minutos após a sua administração (Saarinen-Savolainen *et al.*, 1998). Apesar disso, está disponível no mercado uma formulação, Clorocil[®], que possui na sua constituição a ciclodextrina metilada e o clorofenicol (Cal e Centkowska, 2008).

Caso a formulação seja acondicionada num recipiente multidose o agente conservante deve possuir características hidrófilas, no sentido de evitar a formação de complexos

com as ciclodextrinas como ocorre nos que possuem características lipófilas (Veiga e Figueiras, 2011).

3.6.1. Aplicação para administração ocular

A Tabela 10 resume vários estudos que apresentam a vantagem da utilização das ciclodextrinas na administração de fármacos no globo ocular.

Tabela 10 - Estudo da eficácia de ciclodextrinas para administração ocular.

Fármaco (utilização terapêutica)	Sistema de veiculação	Principais resultados	Referência
Pilocarpina (redução da pressão intraocular - tratamento do glaucoma)	Hidroxipropil- β - ciclodextrina.	Aumento da biodisponibilidade da pilocarpina numa solução com 25% de hidroxipropil- β -ciclodextrina comparativamente às formas de administração convencionais.	Freedman <i>et al.</i> , 1993
-	β -ciclodextrina- dimetilada; Hidroxipropil- β - ciclodextrina.	A β -ciclodextrina- dimetilada causa toxicidade, enquanto a hidroxipropil- β - ciclodextrina é bem tolerada no epitélio da córnea de coelhos albinos.	Jansen <i>et al.</i> , 1990
Pró-fármaco de pilocarpina (redução da pressão intraocular - tratamento	Hidroxipropil- β - ciclodextrina	Quando o pró-fármaco é diluído em 5 a 15% de hidroxipropil- β - ciclodextrina a irritação causada pelo fármaco é igual aos colírios comerciais;	Suhonen <i>et al.</i> , 1995

do glaucoma)

Se o pró-fármaco for complexado à hidroxipropil- β -ciclodextrina numa solução salina, há uma diminuição da irritação causada.

IV. Conclusão

A complexa anatomia e as diversas barreiras presentes no globo ocular contribuem para a ineficácia de um elevado número de formulações convencionais de aplicação ocular.

Ao longo do trabalho de revisão bibliográfica foram referidas várias desvantagens das formas farmacêuticas convencionais utilizadas na administração ocular, tais como: má drenagem das substâncias administradas; lavagem das substâncias pelo líquido lacrimal; baixa permeabilidade nos tecidos do globo ocular; e principalmente no que diz respeito à biodisponibilidade e à estabilidade dos fármacos. Por conseguinte, é evidente a necessidade de desenvolver novos sistemas farmacêuticos, consequentemente, a necessidade da evolução tecnológica. Devido às limitações na actuação farmacológica a nível ocular, a investigação encontra-se direccionada na aplicação dos novos sistemas farmacêuticos.

Os novos sistemas formados para a via de administração ocular apresentam várias vantagens, incluindo: (i) uma melhor eficácia na terapêutica, devido a uma maior biodisponibilidade do fármaco administrado; (ii) um maior tempo de contacto com os tecidos; (iii) protecção contra diversos factores, tais como: enzimas presentes no fluido lacrimal, que levavam à diminuição da sua concentração; (iv) possibilidade de a libertação do fármaco ocorrer no local de acção mas também de forma modificada. Uma das principais vantagens destes sistemas está relacionada com o facto de as propriedades físico-químicas estarem o mais possível adaptadas à administração ocular sem que haja modificação nas propriedades do fármaco. Uma das limitações relaciona-se com a introdução dos sistemas no mercado farmacêutico, pois há escassez ao nível da toxicidade.

As nanopartículas e os lipossomas são os sistemas mais estudados na administração ocular, pois estes permitem uma elevada melhoria da farmacocinética e da farmacodinâmica. Os restantes sistemas estudados ao longo da dissertação também apresentam várias vantagens relativamente às formas convencionais de administração ocular, principalmente aos colírios (i.e. soluções e suspensões com o fármaco). Desta forma torna-se fundamental a apresentação de um resumo com as vantagens dos vários sistemas a nível da administração ocular.

A utilização das micro- e nanoemulsões permite, de forma geral, um aumento da biodisponibilidade, da estabilidade e do efeito terapêutico dos fármacos, mas também a diminuição da irritação causada por estes.

Os lipossomas promovem a absorção e a biodisponibilidade, permitindo a manutenção da concentração dos fármacos por um longo período de tempo.

As nanopartículas possuem o risco de agregação e acumulação no tecido alvo. Como vantagens permitem: uma libertação controlada; um aumento da penetração; uma diminuição da irritação ocular; um aumento da permeabilidade do fármaco.

A administração ocular recorrendo ao hidrogel permite um aumento da retenção, melhor entrega (i.e. no caso em que os sistemas de veiculação são direccionados para os locais alvo) e aumento da duração do efeito terapêutico.

Com a utilização dos implantes é possível obter uma libertação prolongada e aumento da permeação do fármaco. Este sistema é bem tolerado e biocompatível.

Com a investigação e com os novos sistemas de administração ocular é possível uma melhoria significativa na qualidade de vida dos utentes.

V. Referências Bibliográficas

- Abdulrazik, M., Tamilvanan, S., Khoury, K. *et al.* (2001). Ocular delivery of ciclosporin A. II. Effect of submicron emulsion's surface charge on ocular distribution of topical cyclosporine. *Science Technique Practical Pharmaceutical Science*, 11, pp. 427-432.
- Ahmed, I. (2003). The noncorneal route in ocular drug delivery. *In*: Mitra, A.K. (Ed.). *Ophthalmic Drug Delivery Systems*, New York, Marcel Dekker, pp. 335-363.
- Aksungur, P., Demirbilek, M., Benkbaş, E. B. *et al.* (2011). Development and characterization of cyclosporine A loaded nanoparticles for ocular drug delivery: cellular toxicity, uptake, and kinetic studies. *Journal of Controlled Release*, 151, pp. 286-294.
- Ali, Y. e Lehmussaari, K. (2006). Industrial perspective in ocular drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58, pp. 1258-1268.
- Ambati, J., Canakis, C. S., Miller, J. W. *et al.* (2000). Diffusion of high molecular weight compounds through sclera. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 41, pp. 1181-1185.
- Amo, E. M. e Urti, A. (2008). Current and future ophthalmic drug delivery systems: a shift to the posterior segment. *Drug Discovery Today*, 13, pp. 135-143.
- Anton, N., Benoit, J. e Saulnier, P. (2008). Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates - a review. *Journal of Controlled Release*, 128, pp. 185-199.
- Anton, N. e Vandamme, T. F. (2011). Nano-emulsions and micro-emulsions: Clarifications of the critical differences. *Pharmaceutical Research*, 28, pp. 978-985.
- Anton, N. e Vandamme, T. F. (2009). The universal of low-energy nano-emulsification. *International Journal of Pharmaceutics*, 377, pp. 142-147.
- Antonietti, M. e Landfester, K. (2002). Polyreactions in miniemulsions. *Progress in Polymer Science*, 27, pp. 185-199.

Araújo, J., Gonzalez, E., Egea, M. A. *et al.* (2009). Nanomedicines for ocular NSAIDS: safety on drug delivery. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 5, pp. 394-401.

Asua, J. M. (2002). Miniemulsions polymerization. *Progress in Polymer Science*, 27, pp. 1283-1346.

Athanasίου, K. A., Niederauer, G. G., Agrawal, C. M. *et al.* (1996). Sterilization, toxicity, biocompatibility and clinical applications of polylactic acid/polyglycolic acid copolymers. *Biomaterials*, 17, pp. 93-102.

Attama, A. A., Reichl, S. e Muller-Goymann, C. C. (2008). Diclofenac sodium delivery to the eye: in vitro evaluation of novel solid lipid nanoparticle formulation using human cornea construct. *Internacional Journal of Pharmaceutics*, 355, pp. 377-388.

Baba, K., Tanaka, Y., Kubota, A. *et al.* (2011). A method for enhancing the ocular penetration of eye drops using nanoparticles of hydrolysable dye. *Journal of Controlled Release*, 153, pp. 278-287.

Bayens, V. e Gurny, R. (1997). Chemical and physical parameters of tear relevant for the design of ocular drug delivery formulations. *Pharmaceutics Acta Helvetiae*, 72, pp. 191-202.

Bergstrand, N., Arfvidsson, M. C., Kim, J. M. *et al.* (2003). Interaction between pH-sensitive liposomes and model membrans. *Biophysical Chemistry*, 104, pp. 361-379.

Bernstein, D. I. e Stanberry, L. R. (1999). Herpes simplex virux vaccines. *Vaccine*, 17, pp. 1681-1689.

Bhatta, R. S., Chandasana, H., Chhonker, Y. S. *et al.* (2012). Mucoadhesive nanoparticles for prolonged ocular delivery of natamycin: *in vitro* and pharmacokinetics studies. *Internacional Journal of Pharmaceutics*, 432, pp. 105-112.

Bicas, H. E. A. (1997). Morfologia do sistema visual. *Medicina*, 30, pp. 7-15.

Blanco, M. D., Garcia, O., Trigo, R. M. *et al.* (1996). 5-Fluorouracil release from copolymeric hydrogels of itaconic acid monoester: I. Acrylamide-co-monomethyl itaconate. *Biomaterials*, 17, pp. 1061-1067.

Bochot, A., Couvreur, E. e Fattal, E. (2000). Intravitreal administration of antisense oligonucleotides: potential of liposomal delivery. *Progress in Retinal Eye Research*, 19 (2), pp. 131-147.

Bochot, A. e Fattal, E. (2012). Liposomes for intravitreal drug delivery: A state of the art. *Journal of Controlled Release*, 161, pp. 628-634.

Bochot, A., Fattal, E., Boutet, V. *et al.* (2002). Intravitreal delivery of oligonucleotides by sterically stabilized liposomes. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 43, pp. 253-259.

Boonsongrit, Y., Mitrevej, J. A. e Mueller, B. (2005). Characterization of drug-chitosan interaction by ¹H NMR, FTIR and isothermal titration calorimetry. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 62, pp. 267-274.

Bourlais, C. L., Acar, L., Zia, H. *et al.* (1998). Ophthalmic drug delivery systems - recent advances. *Progress in Retinal Eye Research*, 17, pp. 33-58.

Bouyer, E., Mekhloufi, G., Rosilio, V. *et al.* (2012). Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field?. *International Journal of Pharmaceutics*, 436, pp. 359-378.

Bringmann, A., Skatchkov, S. N., Pannicke, T. *et al.* (2000). A Muller glial cells in anuran retina. *Microscopy Research and Technique*, 50, pp. 384-393.

Cal, K. e Centkowska, K. (2008). Use of cyclodextrins in topical formulations: Practical aspects. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 68, pp. 467-478.

Campos, A. M., Diebold, Y., Carvalho, E. L. S. *et al.* (2004). Chitosan nanoparticles as new ocular drug delivery systems: *in vitro* stability, *in vivo* fate and cellular toxicity. *Pharmaceutical Research*, 21, pp. 803-810.

Candeillo, J., Balasubramani, M., Schreiber, E. M. *et al.* (2007). Biomechanical properties of native basement membranes. *FEBS Journal*, 274, pp. 2897-2908.

Cavalli, R., Gasco, M. R., Chetoni, P. *et al.* (2002). Solid lipid nanoparticles (SLN) as ocular delivery system for tobramycin. *International Journal of Pharmaceutics*, 238, pp. 241-245.

- Chastain, J. E. (2003). General considerations in ocular drug delivery. *In: Mitra, A. K. (Ed.). Ophthalmic Drug Delivery Systems*, New York, Marcel Dekker, pp. 59-107.
- Chrai, S. S. e Robinson, J. R. (1974). Ocular evaluation of methylcellulose vehicle in albino rabbits. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 63, pp. 1218-1223.
- Cohena, S., Lobel, E., Trevgoda, A. et al. (1997). A novel in situ-forming ophthalmic drug delivery system from alginates undergoing gelation in the eye. *Journal of Controlled Release*, 44, pp. 201-208.
- Coviello, T., Matricardi, P., Marianecci, C. et al. (2007). Polysaccharide hydrogels for modified release formulations. *Journal of Controlled Release*, 119, pp. 5-24.
- Creech, J. L., Do, L. T., Fatt, I. et al. (1998). *In vivo* tear-film thickness determination and implications for tear-film stability. *Current Eye Research*, 17, pp. 1058-1066.
- Cruysberg, L. P., Nuijts, R. M., Geroski, D. H. et al. (2002). *In vitro* human sclera permeability of fluorescein, dexamethasone-fluorescein, methotrexate-fluorescein and rhodamine 6G and the use of a coated coil as a new drug delivery system. *Journal of Ocular Pharmacology Therapeutics*, 18, pp. 559-569.
- Dash, A. K. e Cudworth, G. C. (1998). Therapeutic applications of implantable drug delivery systems. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 40, pp. 1-12.
- Diebold, Y. e Calonge, M. (2010). Applications of nanoparticles in ophthalmology. *Progress in Retinal and Eye Research*, 29, pp. 596-609.
- Diebold, Y., Jarrin, M., Saez, V. et al. (2007). Ocular drug delivery by liposome-chitosan nanoparticle complexes (LCS-NP). *Biomaterials*, 28, pp. 1553-1564.
- Ding, S. (1998). Recent developments in ophthalmic drug delivery. *Pharmaceutical Science & Technology Today*, 1, 8, pp.328-335.
- Dobrovolskaia, M. A., Aggarwal, P., Hall, J. B. et al. (2008). Preclinical studies to understand nanoparticles interaction with the immune system and its potential effects on nanoparticles biodistribution. *Molecular Pharmacology*, 5, pp. 487-495.
- Dobrovolskaia, M. A. e McNeil, S. E. (2007). Immunological properties of engineered nanomaterials. *Nature Nanotechnology*, 2, pp. 469-478.

- Durrani, A. M., Davies, N. M., Thomas, M. *et al.* (1992). Pilocarpine bioavailability from a mucoadhesive liposomal ophthalmic drug delivery system. *International Journal of Pharmaceutics*, 88, pp. 409-415.
- Duvvuri, S., Majumbar, S. e Mitra, A. K. (2003). Drug delivery to the retina: challenges and opportunities. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 3, 1, pp. 45-46.
- Ebrahim, S. M. D., Gholam, A., Peyman, M. D. *et al.* (2005). Applications of liposomes in ophthalmology. *Survey of Ophthalmology*, 50(2) pp. 167-182.
- El-Gazayerly, O. N. e Hikal, A. H. (1997). Preparation and evaluation of acetazolamide liposomes as ocular delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*, 158, pp. 121-127.
- El-Kamel, A. H. (2002). *In vitro* and *in vivo* evaluation of Pluronic F127-based ocular delivery systems for timol maleate. *International Journal of Pharmaceutics*, 241, pp. 47-55.
- El-Magharby, G. M., Bengani, L. C., Jung, H. J. *et al.* (2011). Investigation of self-microemulsions and microemulsion systems protection of prednisolone from gamma radiation. *Pharmaceutical Development and Technology*, 16, pp. 237-242.
- Fanun, M. (2012). Microemulsions as delivery systems. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 17 pp. 306-313.
- Farmacopeia Portuguesa 9.0 (2008). Lisboa. Infarmed - Ministério da Saúde. Lisboa.
- Felt, O., Furrer, P., Mayer, J. M. *et al.* (1999). Topical use of chitosan in ophthalmology: tolerance assessment and evaluation of precorneal retention. *International Journal of Pharmaceutics*, 180, pp. 185-193.
- Felt-Baeyens, O., Eperon, S., Mora, P. *et al.* (2006). Biodegradable scleral implants as new triamcinolone acetonide delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*, 322, pp. 6-12.
- Fevrier, F. (1990). Microemulsions for topical application. *Bulletin Technique Gatefossé*, 83, pp. 23-31.

Fialho, S. L., Rego, M. G. B., Cardillo, J. A. *et al.* (2003). Biodegradable implants for intraocular drug delivery. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*, 66, pp. 891-896.

Fialho, S. L. e Silva-Cunha, A. Da (2004). New vehicle based on a microemulsion for topical ocular administration of dexamethasone. *Clinical and Experimental Ophthalmology*, 32, pp. 626-632.

Fischbarg, J. (2006). The corneal endothelium. *In: Fischbarg, J. (Ed.). The Biology of Eye*. New York, Academic Press: New York, pp. 113-125.

Floyd, A. G. (1999). Top ten considerations in the development of parenteral emulsions. *Pharmaceutical Science Technology Today*, 2, pp. 134-143.

Freedman, K. A., Klein, J. W. e Crosson, C. E. (1993). Beta-cyclodextrins enhance bioavailability of pilocarpine. *Current Eye Research*, 12, pp. 641-647.

Fromming, K. H. e Szejtli, J. (1994). Topics in inclusion science. *In: Cyclodextrins in Pharmacy*. Dordrecht, Boston, London, Kluwer Academic Publishers.

Fronza, T., Campos, A. e Teixeira, H. (2004). Nanoemulsões como sistemas de libertação para fármacos oftálmicos. *Acta Farmacêutica Bonaerense*, 23, pp. 558-566.

Fuente, M., Raviña, M., Paolicelli, P. *et al.* (2010). Chitosan-based nanostructures: A delivery platform for ocular therapeutics. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62, pp.100-117.

Gasco, M. R., Gallarate, M., Trotta, M. *et al.* (1989). Microemulsions as topical delivery vehicles: Ocular administration of timolol. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 7, pp. 433-439.

Garty, N. e Lusky, M. (1994). Pilocarpine un submicron emulsion formulation for treatment of ocular hypertension: a phase II clinical trial. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 35, p. 2175.

Gaudana, R., Jwala, J., Sai, H. S. *et al.* (2008). Recent prespectives in ocular drug delivery. *Pharmaceutical Research*, 26, pp. 1197-1216.

Gratieri, T., Gelfuso, G. M., Freitas, O. *et al.* (2011). Enhancing and sustaining the topical ocular delivery of fluconazole using chitosan solution and poloxamer/chitosan *in*

situ forming gel. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 79, pp. 320-327.

Greaves, J. L., Wilson, C. G., Rozier, A. *et al.* (1990). Scintigraphic assessment of an ophthalmic gelling vehicles in man and rabbit. *Current Eye Research*, 9, pp. 415-420.

Griffiths, D. e Bender, M. (1973). Cycloamyloses as catalysts. *In: Eley, D., Pines, H. e Weisz, P. (Ed.). Advances in catalysis*. London, Academic Press, pp. 209-261.

Guinedi, A. S., Mortada, N. D., Mansour, S. *et al.* (2005). Preparations and evaluation of reverse-phase evaporation and multilamellar niosomes as ophthalmic carries of acetazolamide. *Internacional Journal of Pharmaceutics*, 306, pp. 71-82.

Gulsen, D. e Chauhan, A. (2004). Ophthalmic drug delivery through contact lenses. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 45, pp. 2342-2347.

Gulsen, D. e Chauhan, A. (2005). Dispersion of microemulsion drops in HEMA hydrogel: a potential ophthalmic drug delivery vehicle. *Internacional Journal of Pharmaceutics*, 292, pp. 95-117.

Habib, F. S., Fouad, E. A., Abdel-Rhman, M. S., *et al.* (2010). Liposomes as an ocular delivery system of fluconazole: *in vitro* studies. *Acta Ophthalmologica*, 88, pp. 901-904.

Haeringen, N. J. V. (1981). Clinical biochemistry of tears. *Survey of Ophthalmology*, 5, pp.84-96.

Hamidi, M., Azadi, A. e Rafiei, P. (2008). Hydrogel nanoparticles in drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60, pp. 1638-1649.

Hathout, R. M., Mansour, S., Mortada, N. D. *et al.* (2007). Liposomes as an ocular delivery system for acetazolamide: *in vitro* and *in vivo* studies. *AAPS Pharmaceutical Science Technology*, 8, p.1.

He, P., Davis, S. S. e Illum, L. (1998). *In vitro* evaluation of the mucoadhesive properties of chitosan microspheres. *International Journal of Pharmaceutics*, 166, pp. 68-75.

Hoffman, A. S. (2002). Hydrogels for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 43, pp. 3-12.

Holden, C. A., Tyagi, P., Thakur, A. et al. (2012). Polyamidoamine dendrimer hydrogel for enhanced delivery of antiglaucoma drugs. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 8, pp. 776-783.

Hornof, M., Toropainen, E. e Urtti, A. (2005). Cell culture models of ocular barriers. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 60, pp. 207-225.

Jadhav, K. R., Shaikh, I. M., Ambade, K. W. et al. (2006). Application of microemulsions based drug delivery system. *Current Drug Delivery*, 3, pp. 267-273.

Jain, D., Carvalho, E. e Banerjee, R. (2010). Biodegradable hybrid polymeric membrans for ocular drug delivery. *Acta Biomaterialia*, 6, pp. 1370-1379.

Jansen, T., Xhonneux, B., Mesens, J. et al. (1990). Beta-cyclodextrins as veicles in eye-drop formulations: an evaluation of their effects on rabbit corneal epithelium. *Lens and Eye Toxicity Research*, 7, pp. 459-468.

Järvinen, K., Järvinen, T. e Urtti, A. (1995). Ocular absorption following topical delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 16, pp. 3-19.

Jenning, V., Schafer-Korting, M. e Gohla, S. (2000). Vitamin A - loaded solid lipid nanoparticles for topical use: drug release properties. *Journal of Controlled Release*, 66, pp. 115-126. a)

Jenning, V., Thunemann, A. F. e Gohla, S. H. (2000). Characterisation of a novel solid lipid nanoparticle carrier system based on binary mixtures of liquid and solid lipids. *International Journal of Pharmaceutics*, 199, pp. 167-177. b)

Jumbe, N. L. e Miller, M. H. (2003). Ocular drug transfer following systemic drug administration. In: Mitra, A. K. (Ed.). *Ophthalmic Drug Delivery Systems*, New York, Marcel Dekker, pp. 109-133.

Júnior, A. S. C., Fialho, S. L., Carneiro, L. B. et al. (2003). Microemulsões como veículo de drogas para administração ocular tópica. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*, 66, pp. 385-391.

Kaur, I. P., Garg, A., Singla, A. K. *et al.* (2004). Vesicular systems in ocular drug delivery: an overview. *International Journal of Pharmaceutics*, 209, pp. 1-14.

Kimura, H., Ogura, Y. (2001). Biodegradable polymers for ocular drug delivery. *Ophthalmologica*, 215, pp. 143-155.

Kipen, H. M. e Laskin, D. I. (2005). Smaller is not always better: nanotechnology yields nanotoxicology. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, 289, pp. L696-L697.

Kumar, A., Malviya, R. e Sharma, P. K. (2011). Recent trends in ocular delivery: a short review. *European Journal of Applied Sciences*, 3 (3), pp. 86-92.

Kumar, K. P. S., Bhowmik, D., Paswan, S. *et al.* (2012). Recent challenges and advances in ophthalmic drug delivery system. *The Pharma Innovation*, 1(4), pp. 1-15.

Kumar, S., Haglund, B. O. e Himmelstein, K. J. (1994). In situ-forming gels of ophthalmic drug delivery. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 10, pp. 47-56.

Kuno, N. e Fujii, S. (2011). Recent advances in ocular drug delivery systems. *Polymers*, 3, pp. 193-221.

L'Alloret, F., Sonnevile, O. A. e Simonnet, J. T. (2006). Nanoemulsion containing nonionic polymers, and its uses. U.S. Patente 6998426.

Lasic, D. D. (1993). *Liposomes-from physics to application*. Amsterdam, Elsevier.

Le Boultais, C. A., Treupel-Acar, L., Rhodes, C.T. *et al.* (1995). New ophthalmic drug delivery systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 21, pp. 19-59.

Li, X., Nie, S. F., Kong, J. *et al.* (2008). A controlled-release ocular delivery system for ibuprofen based on nanostructured lipid carriers. *International Journal of Pharmaceutics*, 363, pp.177-182.

Liesang, T. J. (1990). Viscoelastic substances in ophthalmology. *Survey of Ophthalmology*, 34, pp. 268-293.

Lin, C. C. e Metters, A. T. (2006). Hydrogels in controlled release formulations: network design and mathematical modeling. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58, pp. 1379-1408.

Lin, H. H., Ko, S. M., Hsu, L. R. *et al.* (1996). The preparation of norfloxacin-loaded liposomes and their in-vitro evaluation in pig's eye. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 48, pp.801-805.

Liu, Z., Li, J., Nie, S. *et al.* (2006). Study of an alginate/HPMC-based in situ gelling ophthalmic delivery systems for gatifloxacin. *International Journal of Pharmaceutics*, 315, pp. 12-17.

Loftsson, T. e Brewster, M. E. (1996). Pharmaceutical applications of cyclodextrines. I. Drug solubilization and stabilization. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 85, pp. 1017-1025.

Loftsson, T., Friourisdóttir, H., Siguroardóttir, A. M. *et al.* (1994). The effect of water-soluble polymers on drug-cyclodextrin complexation. *International Journal of Pharmaceutics*, 110, pp. 169-177.

Loftsson, T. e Stefánsson, E. (1997). Effect of cyclodextrins on topical drug delivery to the eye. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 23, pp. 473-481.

Loftssona, T. e Järvinen, T. (1999). Cyclodextrins in ophthalmic drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* , 36, pp. 59-79.

Lv, F. F., Zheng, L. Q. e Tung, C. H. (2006). Studies on the stability of the chloramphenicol in the microemulsion free of alcohols. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 62, pp. 288-294.

Ludwig, A. (2005). The use of mucoadhesive polymers in ocular drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57, pp. 1595-1639.

Luo, Q., Zhao, J., Xiangrong, Z. *et al.* (2011). Nanostructured lipid carrier (NLC) coated with chitosan oligosaccharides and its potencial use in ocular drug delivery system. *International Journal of Pharmaceutics*, 403, pp. 185-191.

- Mahmoud, S. S., Gehman, J. D., Azzopardi, K. *et al.* (2008). Liposomal phospholipid preparations of chloramphenicol for ophthalmic applications. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97, pp. 2691-2701.
- Mainardes, R. M. e Silva, L. P. (2004). Drug delivery systems: past, present, and future. *Current Drug Targets*, 5, pp. 449-455.
- Maniasso, N. (2001). Ambientes micelares em química analítica. *Química Nova*, 24, pp. 87-93.
- Marmor, M. F. (1998). Structure function and disease of the retinal pigment epithelium. *In: Marmor, M. F. (Ed.). The Retinal Pigment Epithelium*, New York, Oxford University Press, pp. 3-9.
- Marriott, C. e Gregory, N. P. (1990). Mucus physiology and pathology. *In: Lenearts, V. e Gurny, R. (Ed.). Bioadhesive Drug Delivery Systems*, Florida, CRC Press, Boca Raton, pp. 2-24.
- Matos, C. e Moutinho, C. (2011). Lipossomas. *In: Souto, E. B. e Lopes, C. M. (Coords.). Novas Formas Farmacêuticas para Administração de Fármacos*. Porto, Edições Universidade Fernando Pessoa, pp. 237-271.
- Maurice, D. M. e Mishima, S. (1983). Ocular pharmacokinetics. *In: Sears, M. L. (Ed.). Handbook of Experimental Pharmacology*. Berlin, Springer: Berlin-Heidelberg, pp. 16-119.
- Mazuel, C. e Friteyre, M. C. (1989). Ophthalmological composition of the type which undergoes liquid-gel phase transition. *U.S. Patent 4861760*.
- McNeil, S. E. (2005). Nanotechnology for the biologist. *Journal of Leukocyte Biology*, 78, pp. 585-594.
- McNamara, N.A., Polse, K. A., Brand, R. J. *et al.* (1999). Tear mixing under a soft contact lens: effects of lens diameter. *American Journal of Ophthalmology*, 127, pp. 659-665.
- Mehnert, W. e Mader, K. (2001). Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 25, 47, pp. 255-233.

Meisner, D. e Mezei, M. (1995). Liposome ocular delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 16, pp. 75-93.

Milder, B. (1987). The lacrimal apparatus. In: Moses, R. A.; Hart, W. M. J. (1987). *Adler's Physiology of the Eye, Clinical Application*. St. Louis, The C.V. Mosby Company, pp. 15-35.

Moutinho, C., Matos, C. e Balcão, V. (2007). Development of innovative nanotechnology-based drug delivery systems for cancer therapy. *Revista da Faculdade Ciências da Saúde*, 4, pp. 94-104.

Müller, R. H., Mader, K. e Gohla, S. (2000). Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery - a review of the state of the art. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50, pp. 161-177.

Müller, R. H., Mehnert, W., Lucks, J. S. *et al.* (1995). Solid lipid nanoparticles (SLN) - An alternative colloidal carrier systems for controlled drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 41, pp. 62-69.

Müller, R. H., Radtke, M. e Wissing, S. A. (2002). Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carries (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54, pp. 131-155.

Müller, R. H., Radtke, M. e Wissing, S. A. (2004). Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carries. In: Nalwa, H. S. (Ed.). *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*. American Scientific Publishers, pp. 43-56.

Murube, J., Murube, A. e Murube, L. (1999). Origin and types of emotional tearing. *European Journal of Ophthalmology*, 9(2), pp.77-84.

Nagarsenker, M. S., Londhe, V. Y. e Nadkarni, G. D. (1999). Preparation of liposomal formulation of tropicamide for ocular delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 190, pp.63-71.

Naveh, N., Muchtar, S. e Benita, S. (1994). Pilocarpine incorporated into a submicron emulsion vehicle causes an unexpectedly prolonged ocular hypotensive effect in rabbits. *Journal of Ocular Pharmacology*, 10, pp. 509-520.

Oyter, C. W. (1999). The cornea and sclera. *In: Oyter, C. W. (1999). The Human Eye.* Sunderland, Sinauer Associates, pp. 325-378.

Paulsen, F. P., Föge, A. B., Thale, B. N. *et al.* (2002). Animal model for the absorption of lipophilic substances from tear fluid by the epithelium of the nasolacrimal ducts. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 43, 10, pp. 3137-3143.

Pederson, J. E. (2006). Fluid physiology of the subretinal space. *In: Ryan, S.J. (Ed.). Retina.* 4.^a Edição. Philadelphia, Elsevier, pp. 1909-1920.

Peng, C. C., Bengani, I. C., Jung, H. J. *et al.* (2011). Emulsions and microemulsions for ocular drug. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 21, pp. 111-121.

Peppas, N.A. e Khare, A.R. (1993). Preparation, structure and diffusional behavior of hydrogels in controlled release. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 11, pp.1-35.

Peyman, G. A., Charles, H. C., Liu, K. R. *et al.* (1988). Intravitreal liposome encapsulated drugs: a preliminary human report. *International Ophthalmology*, 12, pp. 175-182.

Pluta, J. e Karolewicz, B. (2004). Hydrogels: properties and application in the technology of drug from. II. Possibilities of use of hydrogels as active substance carries. *Polimery w Medycynie*, 34, pp. 63-81.

Prista, L. N., Alves, A. C., Morgado, R. *et al.* (2008). Administração de Medicamentos. *In: Prista, L. N., Alves, A. C., Morgado, R. et al. (Ed.). Tecnologia Farmacêutica II Volume.* 6.^a Edição. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, pp. 138-149.

Prista, L. N., Alves, A. C. e Morgado, R. (2009). Preparações para aplicação oftálmica. *In: Prista, L. N., Alves, A. C. e Morgado, R. (Ed.). Tecnologia Farmacêutica III Volume.* 6.^a Edição. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, pp. 1596-1628.

Prow, T. W. (2010). Toxicity of nanomaterials to the eye. *Wiley Interdisciplinary Reviews Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 2, pp. 317-333.

Reichenbach, A., Wurm, A., Pannicke, T. *et al.* (2007). Muller cells as players in retinal degeneration and edema. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 245, pp. 627-636.

- Réus, M., Carmagnan, F., Senna, E. L. *et al.* (2009). Nanopartículas poliméricas na administração tópica ocular de fármacos. *Latin American Journal of Pharmacy*, 28, pp. 125-132.
- Rojanasakul, Y., Wang, L. Y., Bhat, M. *et al.* (1992). The transport barrier of epithelia: a comparative study on membrane permeability and charge selectivity in the rabbit. *Pharmaceutical Research*, 9, pp. 1029-1034.
- Saarinen-Savolainen, P., Jarvinen, T., Araki-Sasaki, K. *et al.* (1998). Evaluation of cytotoxicity of various ophthalmic drugs, eye drop excipients and cyclodextrins in an immortalized human corneal epithelial cell line. *Pharmaceutical Research*, 15, pp-1275-1280.
- Saettone, M. F., Chetoni, P., Torraca, M. T. *et al.* (1989). Evaluation of mucoadhesive properties and in vivo activity of ophthalmic vehicles based on hyaluronic acid. *International Journal of Pharmaceutics*, 51, pp. 203-212.
- Saettone, M. F., Giannaccini, B. e Monti, D. (2000). Ophthalmic emulsions and suspensions. In: Nielloud, F. e Marti-Mestres, G. (Ed.) *Pharmaceutical Emulsions and Suspensions*, Marcel Dekker, Inc., pp. 303-322.
- Sahoo, S. K., Dilnawaz, F. e Krishnakumar, S. (2008). Nanotechnology in ocular drug delivery. *Drug Discovery Today*, 13, pp. 144-151.
- Santos, D. e Almeida, I. (2011). Hidrogeles e oleogeles. In: Souto, E. B. e Lopes, C. M. (Coords.). *Novas Formas Farmacêuticas para Administração de Fármacos*. Porto, Edições Universidade Fernando Pessoa, pp. 171-197.
- Santos, N. C. e Castanho, M. B. (2002). Lipossomas; A bala mágica acertou?. *Química Nova*, 25, pp. 1181-1185.
- Santos, P., Watkinson, A. C., Hadgraft, J. *et al.* (2008). Application of microemulsions in dermal and transdermal drug delivery. *Skin Pharmacology and Physiology*, 21, pp. 246-259.
- Schoenwald, R. D. e Huang, S. H. (1983). Corneal penetration behavior of beta-blocking agents I: physicochemical factors. *Journal of Pharmaceutical Science*, 72, pp. 1266-1272.

Seeley, R. R., Stephens, T. D. e Tate, P. (2003). Os sentidos especiais. *In*: Seeley, R. R., Stephens, T. D. e Tate, P. (Ed.) *Anatomia e Fisiologia*, 6^{ed.}. 6.^a Edição. Loures, Lusociência - Edições Técnicas e Científicas, Lda., pp. 514-558.

Shell, J. W. (1984). Ophthalmic drug delivery systems. *Survey of Ophthalmology*, 29, pp. 117-128.

Shell, J. W. (1985). Ophthalmic drug delivery systems. *Drug Development Research*, 6, pp. 245-261.

Shen, Y. e Tu, J. (2007). Preparation and ocular pharmacokinetics of ganciclovir liposomes. *The AAPS Journal*, 9, pp. 371-377.

Sigurðardóttir, A. M. e Loftsson, T. (1995). The effect of polyvinylpyrrolidone on cyclodextrin complexation of hydrocortisone and its diffusion through hairless mouse skin. *International Journal of Pharmaceutics*, 126, pp.73-78.

Silva, G. A. (2004). Introduction to nanotechnology and its applications to medicine. *Surgical Neurology*, 61, pp. 216-220.

Simões, S., Ribeiro, H. M. e Almeida, A. J. (2011). Micro e nanoemulsões. *In*: Souto, E. B. e Lopes, C. M. (Coords.). *Novas Formas Farmacêuticas para Administração de Fármacos*. Porto, Edições Universidade Fernando Pessoa, pp. 271-295.

Singh, D. (2003). Conjunctival lymphatic system. *Journal of Cataract Refractive Surgery*, 29 (4), pp. 632-633.

Sireesha, D. S., Prabha, K. S. e Prasanna, P. M. (2011). Advanced approaches and evaluation of ocular drug delivery system. *American Journal of Pharmatech Research*, 1, pp. 72-92.

Sonneville-Aubrun, O., Simonnet, J. T. e L'Alloret, F. (2004). Nanoemulsions: a new vehicle for skincare products. *Advances in Colloid and Interface Science*, 108-109, pp. 145-149.

Souto, E. B., Almeida, A. J. e Müller, R. H. (2007). Lipid nanoparticles (SLN[®], NLC[®]) for cutaneous drug delivery: structure, protection and skin effects. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 41, pp. 62-69.

Souto, E. B., Mehnert, W. e Müller, R. H. (2006). Polymorphic behavior of compritol888 ATO as bulk lipid as SLN and NLC. *Journal of Microencapsulation*, 23, pp. 417-433.

Souto, E. B. e Müller, R. H. (2006). Investigation of the factors influencing the incorporation of clotrimazole in SLN and NLC prepared by hot high pressure homogenization. *Journal of Microencapsulation*, 23, pp. 377-388.

St'astný, M., Plocová, D., Etrych, T. *et al.* (2002). HEMA-hydrogels containing cytostatic drugs. Kinetics of the drug release and in vivo efficacy. *Journal of Controlled Release*, 81, pp. 101-111.

Suhonen, P., Järvinen, T., Lehmussaari, K. *et al.* (1995). Ocular absorption and irritation of pilocarpine prodrug is modified with buffer, polymer, and cyclodextrin in the eyedrop. *Pharmaceutical Research*, 12, pp. 529-533.

Sun, K. X, Wang, A. P., Huang, L. J. *et al.* (2006). Preparation of diclofenac sodium liposomes and its ocular pharmacokinetics. *Yao Xue Xue Bao*, 41 (11), pp. 1094-1098.

Sunkara, G. e Kompella, U. B. (2003). Membrane transport processes in the eye. *In: Mitra, A.K. (Ed.). Ophthalmic Drug Delivery Systems*, New York, Marcel Dekker, pp. 17-58.

Szejtli, J. (1985). Molecular entrapment and release properties of drugs by cyclodextrins. *In: Smolen, V. e Ball, L. (Ed.). Controlled Drug Bioavailability*. New York, John Wiley, pp. 365-420

Tadros, T. F., Izquierdo, P., Esquena, J. *et al.* (2004). Formation and stability of nanoemulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, 108-109, pp. 303-318.

Tao, S. L. e Desai, T. A. (2003). Microfabricated drug delivery systems: from particles to pores. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 55, pp. 315-328.

Tayel, S. A.; Nabarawi, M. A.; Tadros, M. I. *et al.* (2013). Promising ion-sensitive in situ ocular nanoemulsion gels of terbinafine hydrochloride: design, in vitro characterization and in vivo estimation of ocular irritation and drug pharmacokinetics in the aqueous humor of rabbits. *International Journal of Pharmaceutics*, 443, pp. 293-305.

- Tiffany, J. M. (2003). Tears in health and disease. *Eye*, 17, pp. 923-926.
- Tretiach, M., Madigan, M. C., Wen, L. *et al.* (2005). Effect of Muller cell co-culture on *in vitro* permeability of bovine retinal vascular endothelium in normoxic and hypoxic conditions. *Neuroscience Letters*, 378, pp. 160-165.
- Tutt, R., Bradley, A., Begley, C. *et al.* (2000). Optical and visual impact of tear break-up in human eyes. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 41, pp. 4117-4123.
- Urtti, A. e Salminen, L. (1993). Minimizing systemic absorption of topically administered ophthalmic drugs. *Survey of Ophthalmology*, 37, pp. 435-456. a)
- Urtti, A. e Salminen, L. (1993). Animal pharmacokinetic studies. In: Mitra, A.K (Ed.). *Ophthalmic Drug Delivery Systems*, New York, Marcel Dekker, pp. 121-136. b)
- Vandamme, T. F. (2002). Microemulsions as ocular drug delivery systems: recent developments and future challenges. *Progress in Retinal and Eye Research*, 21, pp. 15-34.
- Vanderwoot, J. e Ludwih, A. (2007). Ocular drug delivery: nanomedicines application. *Nanomedicine*, 2, pp. 11-21.
- Vasir, K. J., Tambwekar, K. e Garg, S. (2003). Bioadhesive microspheres as a controlled drug delivery system. *International Journal of Pharmaceutics*, 255, pp. 13-32.
- Vaz-Cunha, J. G. (1997). The blood-ocular barriers: past, present, and future. *Documenta Ophthalmologica. Advances in Ophthalmology*, 93, pp. 149-157.
- Veiga, F. e Figueiras, A. R. (2011). Liberação modificada por inclusão do fármaco em ciclodextrinas. In: Souto, E. B. e Lopes, C. M. (Coords.). *Novas Formas Farmacêuticas para Administração de Fármacos*. Porto, Edições Universidade Fernando Pessoa, pp. 335-375.
- Wadhwa, S., Paliwal, R., Paliwal, S. R. *et al.* (2009). Nanocarriers in ocular drug delivery: An update review. *Current Pharmaceutical Design*, 15, pp. 2724-2750.

Wiechens, B., Neumann, D., Grammer, J. B. *et al.* (1999). Retinal toxicity of liposome-incorporated and free ofloxacin after intravitreal injection in the rabbit eyes. *International Ophthalmology*, 22, pp. 133-143.

Wissing, S. A. e Müller, R. H. (2002). Solid lipid nanoparticles as carrier for sunscreens: in vitro release and in vivo skin penetration. *Journal of Controlled Release*, 8, pp. 225-233.

Zignani, M., Tabatabay, C. e Gurny, R. (1995). Topical semi-solid drug delivery: kinetics and tolerance of ophthalmic hydrogels. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 16, pp- 51-60.

Zimmer, A. e Kreuter, J. (1995). Microspheres and nanoparticles used in ocular delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 16, pp. 61-73.

Zimmer, A. K., Zerbe, H. e Kreuter, J. (1994). Evaluation of pilocarpine-loaded albumin particles as drug delivery systems for controlled delivery in the eye, I. *Journal of Controlled Release*, 32, pp. 57-70.