

Inês Redondeiro Marques

“Novos Sistemas Terapêuticos Nanotecnológicos”

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde

Porto 2008/2009

Inês Redondeiro Marques

“Novos Sistemas Terapêuticos Nanotecnológicos”

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde

Porto 2008/2009

Inês Redondeiro Marques

“Novos Sistemas Terapêuticos Nanotecnológicos”

“Monografia apresentada à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para
obtenção do grau de licenciatura em Ciências Farmacêuticas”

(Inês Redondeiro Marques)

Porto, 2009

Sumário

A Nanotecnologia é uma nova ciência que emergiu nos últimos anos em vários campos, incluindo também a área de actividade farmacêutica. Esta ciência baseia-se no desenvolvimento, caracterização e aplicação de sistemas terapêuticos em escala nanométrica. Refere-se à utilização de sistemas nanotecnológicos como uma nova forma farmacêutica para a administração parentérica, sendo uma das áreas mais promissoras, a utilização desses sistemas na vectorização de fármacos anticancerígenos e de antibióticos, ambicionando uma distribuição mais selectiva dos mesmos e, assim, um aumento do índice terapêutico.

Dentro da nanotecnologia, a produção de novas formas farmacêuticas constituídas por nanocristais de fármacos tem vindo a adquirir cada vez mais interesse por parte da comunidade científica. As vantagens da utilização de nanocristais de fármacos como forma farmacêutica devem-se à facilidade inerente ao seu processo de produção. Do ponto de vista de fisico-químico é possível a produção de suspensões de nanocristais de fármacos em meio aquoso, uma vez que a interacção entre a superfície do nanocristal e o solvente é suficientemente forte, superando as diferenças de densidade, resultando geralmente num material cristalino de dimensões reduzidas estabilizado por um filme de agente tensioactivo. Para a obtenção destas suspensões de nanocristais, as formulações são sujeitas a um processo de homogeneização por alta pressão.

Os nanocristais apresentam frequentemente propriedades inesperadas porque são bastante pequenos, tendo por isso, uma área de superfície muito elevada proporcionalmente ao volume. É de destacar a importância de desenvolver uma suspensão pura de nanocristais de fármacos sem a presença de microcristais no seio da suspensão de nanocristais. Para beneficiar totalmente das potencialidades desta tecnologia, é importante obter uma suspensão cujos nanocristais apresentassem todos eles dimensões inferiores a 1 μm , bem como o mais homogêneos possível. O objectivo final é produzir uma suspensão físico-quimicamente estável para garantir viabilidade tecnológica para um determinado fármaco.

Abstract

Nanotechnology is a novel science which has emerged in the latest years in several fields, including within the pharmaceutical sciences activities. This scientific field is based on the development, characterization and application of novel therapeutic systems within the nanometre range. It is characterized by the usage of nanotechnological systems as a new drug delivery system for parenteral administration, being one of the most promising areas those related to targeting anticancer and antibiotic drugs. Aim is a more selective drug distribution with additional increasing of the therapeutic index.

Within the field of nanotechnology, production of novel delivery systems composed of drug nanocrystals has been gathering attention. Advantages of drug nanocrystals include production facilities. Furthermore, with regard to their physicochemical characteristics, it is possible to produce suspensions of drug nanocrystals in aqueous media, since the interaction between nanocrystal surface and the solvent is strong enough, overcoming density differences and resulting crystalline material suspended by a surfactant film. In order to produce nanocrystal suspensions, formulations suffer a process of high pressure homogenization.

Drug nanocrystals frequently show unexpected properties since the former are quite small, having a high surface area proportionally to their volume. It is also important to highlight the relevance in developing a pure suspension of drug nanocrystals without the presence of microcrystals among the suspension. All nanocrystals should reveal mean sizes below 1 μm , and as homogeneous as possible. The final aim is to produce a physic-chemically stable suspension to warrantee technological feasibility for a particular drug.

Dedicatórias

É de um modo muito especial, que dedico e presenteio este trabalho aos meus pais e irmã, aos quais agradeço me terem acompanhado e compreendido a necessidade de partilhar comigo esta longa caminhada!

Eles tornaram a minha vida possível, feliz e cheia de alegria e carinho. Sinto-me abençoada e afortunada por vos ter por “perto”, pois apesar de longe, estão sempre no meu coração...

Com todo o meu amor,

Inês

Agradecimentos

Em primeiro lugar, quero agradecer, aos meus pais, Fernando e Lina, à minha irmã, Sara Marques, e à minha família, pelo apoio sempre prestado e pela consciência dos valores essenciais para a minha formação como ser humano e para o exercer da profissão.

Não posso deixar de agradecer ao meu namorado, Carlos Santos, todo o seu inesgotável carinho e apoio, que me dedicou no decorrer do meu curso.

Agradeço à minha amiga e colega de casa, Ana Miranda, pela amizade e apoio incondicional que me deu durante estes anos. A Pedro Estêvão, um amigo que nunca se esquece, pois esteve sempre presente nos bons e maus momentos, por toda a força e boa disposição com que encara a vida e me contagiou e encorajou para que este curso se tornasse realidade.

À minha orientadora, Prof. Dra. Eliana B. Souto, por todos os conhecimentos transmitidos, pela vontade de fazer mais e melhor e pela competência, simpatia e ajuda que sempre demonstrou.

À equipa de professores, por me terem acolhido da melhor forma nesta faculdade, e me terem permitido um óptimo curso cheio de boas aprendizagens, por todos os conhecimentos que me transmitiram, ao longo destes anos, a disponibilidade para esclarecer todas as minhas dúvidas, que prontamente dissipavam, e toda confiança que depositaram em mim.

A todos os colegas de curso e da faculdade por tudo o que vivemos juntos, principalmente à Céline Lopes, Joana Mesquita, Teresa Gonçalves e Rita Coelho, por todos os bons momentos que vivemos juntas e todo o apoio mútuo e carinho demonstrado.

Aos meus amigos que acreditaram e me apoiaram para que fosse possível a concretização do meu curso.

Um especial agradecimento à Universidade Fernando Pessoa por me ter dado a oportunidade de concretizar o que era até agora o meu maior objectivo, terminando aqui, e se tornando realidade – A Licenciatura em Ciências Farmacêuticas.

Índice

Capítulo 1. Introdução	pág. 1
Capítulo 2. Desenvolvimento	pág. 5
2.1. Nanotecnologia	pág. 5
2.1.1. Nanotecnologia no campo farmacêutico	pág. 10
2.2. Abordagem geral da utilização de sistemas nanotecnológicos como uma nova forma farmacêutica para a administração parentérica	pág. 13
2.3. Descrição das vias de administração parentérica	pág. 18
2.4. Definições e propriedades dos nanocristais e das nanoemulsões	pág. 21
2.4.1. Métodos de produção	pág. 22
2.4.1.1. Microfluidificação	pág. 23
2.4.1.2. Homogeneização a alta pressão	pág. 26
2.4.1.2.1. Homogeneização em água (DissoCubes®)	pág. 29
2.4.1.2.2. Homogeneização-precipitação (NanoEdge®)	pág. 31
2.4.2. Propriedades especiais de nanocristais	pág. 33
2.4.3. Transposição de escala (produção em grande escala)	pág. 35
2.5. Formulações farmacêuticas de nanocristais	pág. 37

2.6. Vias de administração _____ pág. 39

Capítulo 3. Conclusão _____ pág. 40

Capítulo 4. Bibliografia _____ pág. 42

Índice de Figuras

Figura 1. Uma visão da Nanotecnologia _____pág. 6

Figura 2. Modelo simplificado de libertação controlada _____pág. 9

Figura 3. Representação esquemática de nanocápsulas e nanoesferas poliméricas
_____pág. 11

Figura 4. Digrama esquemático do sistema experimental usado para microfluidização
_____pág. 24

Figura 5. Geometria das válvulas homogeneizadoras _____pág. 27

Figura 6. Homogeneização por alta pressão para produzir DissoCubes® _____pág. 29

Figura 7. Aparência de nanocristais sólidos PEG após dispersão moagem de um pó branco fino _____pág. 38

Figura 8. Cápsulas directamente preenchidas com nanosuspensão de PEG quente (em cima),
preenchidas com nanosuspensão de PEG granulado e solidificado (em baixo)
_____pág. 38

Capítulo 1. Introdução

A Nanotecnologia foi criada no Japão, e apresenta como filosofia subjacente a procura de invenções, aprimorando-as e proporcionando uma melhor qualidade de vida ao ser humano.

É uma ciência que se encontra associada a diversas áreas, tais como, a medicina, electrónica, informática, física, química, biologia, engenharia dos materiais e também à área farmacêutica, no que respeita ao desenvolvimento, caracterização e aplicação de sistemas terapêuticos em escala nanométrica.

No âmbito do mercado competitivo a Nanotecnologia é igualmente importante para Portugal, uma vez que a indústria portuguesa terá que competir internacionalmente com novos produtos para que a economia do país deste modo recupere e retome o crescimento económico. Esta competição será somente bem sucedida com produtos e processos inovadores, que sejam comparáveis ou superiores aos melhores que a indústria internacional oferece actualmente.

Assim, pretende-se que o conteúdo tecnológico dos produtos oferecidos pela indústria portuguesa deva crescer exponencialmente nos próximos anos.

Pelo exposto acima, sobressai o investimento que está a ser feito em Portugal, na cidade de Braga, com a construção do Laboratório Internacional Ibérico de Nanotecnologia (INL), estrutura que irá dedicar-se à investigação nesta área.

A utilização de sistemas nanotecnológicos como uma nova forma farmacêutica para a administração parentérica, é uma das áreas mais promissoras. Um dos exemplos mais populares actualmente, baseia-se na vectorização de fármacos anticancerígenos e de antibióticos, cujo objectivo é uma distribuição mais selectiva dos mesmos e, assim, um aumento do índice terapêutico.

Este trabalho visa igualmente uma revisão de literatura das diferentes metodologias habitualmente empregues para caracterizar sistemas nanotecnológicos sob o ponto de vista físico-químico.

Dentro da nanotecnologia, a biotecnologia é uma área igualmente emergente que se ocupa da produção de biofármacos e do desenvolvimento de formulações biofarmacêuticas com o objectivo de ultrapassar muitos problemas associados aos fármacos biotecnológicos, tais como, solubilidade reduzida, tanto em meio aquoso como em meio orgânico, estabilidade química limitada *in vitro* e *in vivo* (ou seja, tempo de semi-vida curto), biodisponibilidade reduzida, bem como efeitos secundários potencialmente resultantes da necessidade de uma elevada concentração de biofármaco no local de acção [1]. O desenvolvimento de sistemas nanotecnológicos contendo biofármacos pode ultrapassar muitos destes inconvenientes, em particular aumentando a biodisponibilidade dos mesmos e, por conseguinte, reduzir os seus efeitos, ao ser reduzida a quantidade de biofármaco necessária para se observar o efeito terapêutico.

No âmbito dos sistemas nanotecnológicos, o presente trabalho foca-se essencialmente no desenvolvimento, caracterização e utilização de nanocristais de fármacos como uma nova forma farmacêutica.

Um nanocristal é uma partícula cristalina de dimensões coloidais uma vez que se encontram na escala nanométrica (diâmetro médio inferior a 1 μm) [2]. Estes materiais são de enorme interesse tecnológico uma vez que muitas das suas propriedades eléctricas e termodinâmicas dependem do seu tamanho podendo, por isso, ser controladas através cuidadosos processos de produção. Os nanocristais são também importantes do ponto de vista de fornecerem informação sobre os sistemas cristalinos de domínio único, explicando assim o comportamento de muitas amostras macroscópicas de materiais de composição química semelhante. Assim, podemos inferir que os nanocristais têm um importante interesse científico, em virtude de funcionarem como uma ponte entre sistemas macroscópicos e aqueles de estruturas atómicas ou moleculares. É certo que as propriedades dos materiais mudam, dependendo do tamanho e de acordo com uma nanoescala, sendo mais significativa a percentagem dos átomos na superfície do material [3].

Para muitas substâncias farmacologicamente activas é possível aumentar a sua solubilidade em meio aquoso e/ou orgânico, através da redução do tamanho da matéria-prima (i.e. dos cristais de fármaco), com conseqüente aumento da sua biodisponibilidade. Este processo de redução das dimensões dos cristais denomina-se por “micronização”, no caso de se obterem dimensões cristalinas à escala micrométrica, e por “nanonização”, no caso de se conseguirem reduzir as dimensões à escala submicrométrica, (nanométrica). Nanocristais de fármacos são suspensões aquosas de cristais nanométricos, os quais se encontram estabilizados por um filme de tensoactivo.

Os fármacos que apresentem baixa solubilidade aquosa são aqueles que podem ser processados para produzir tais suspensões [4]. Não obstante, a literatura científica descreve dois principais métodos para a obtenção de nanocristais [1,5]: (i) tecnologia *bottom up* ou de precipitação, e a (ii) tecnologia *top down* ou de redução particular.

A produção pela tecnologia *bottom up* ou de precipitação realiza-se através da dissolução prévia das moléculas de fármaco num determinado solvente orgânico, e que serão posteriormente precipitadas adicionando um não solvente [1]. A adição do não solvente à solução orgânica de fármaco é necessária para produzir um produto de dimensões particulares muito reduzidas. Os nanocristais de fármacos amorfos são produzidos para melhorar ainda mais a velocidade de dissolução e aumentar a sua solubilidade. A vantagem desta técnica reside na utilização de um equipamento relativamente simples e de baixo preço. A transposição de escala é relativamente simples usando-se misturadores estáticos ou micro-misturadores. O uso de um misturador estático mantém praticamente as condições de precipitação numa proveta em escala laboratorial, mexendo e misturando, para evitar os problemas que ocorrem, potencialmente, quando passamos de uma escala laboratorial para a produção em grande escala. Contudo, existem problemas básicos associados às técnicas de precipitação, por exemplo, a dificuldade de manter as dimensões reduzidas das partículas produzidas aquando da precipitação. De facto, o crescimento desses nanocristais em microcristais precisa de ser evitado, pois os mesmos apresentam a tendência para sofrerem um fenómeno denominado por *Ostwald ripening* que se caracteriza pelo aumento do tamanho dos cristais em meio aquoso.

É de salientar que, para além disso, dependendo das condições de precipitação, os nanocristais podem ser completamente amorfos, parcialmente amorfos, ou completamente cristalinos. Para garantir a estabilidade a longo prazo do estado cristalino, a abordagem mais fácil é obter nanocristais numa conformação de menor energia (i.e. termodinamicamente mais estáveis). Contudo, as partículas amorfas ou parcialmente amorfas apresentam o risco de recristalização desta fracção amorfa, seguida da diminuição da sua biodisponibilidade.

Sumariamente podemos referir que ambos os problemas, designadamente o crescimento dos cristais e a instabilidade do estado cristalino/amorfo são eliminados quer através da combinação da precipitação, quer pela utilização de um processo único designadamente a homogeneização por alta pressão. Neste caso, a suspensão de nanocristais precipitados é subsequentemente homogeneizada, podendo preservar a distribuição homogénea dos tamanhos obtidos depois da precipitação.

A produção pela tecnologia *top down* ou de redução particular baseia-se na homogeneização por alta pressão, preferencialmente em meio aquoso [1]. A homogeneização por alta pressão envolve um fenómeno de cavitação do líquido do meio de suspensão para reduzir as dimensões de partículas suspensas. No homogeneizador, a dispersão aquosa que contém as partículas suspensas é obrigada a passar por uma fenda muito estreita (25 μm), a uma velocidade extremamente elevada. A dispersão é previamente colocada na câmara de alimentação com um diâmetro de aproximadamente de 3 cm sendo seguidamente sujeita a uma pressão elevada com a ajuda de um pistão, obrigando a sua passagem por esta fenda de 25 μm . Segundo a Lei de Bernoulli, o volume do líquido num sistema fechado é sempre constante. Por conseguinte, a redução no diâmetro leva a um extremo aumento da pressão dinâmica e, simultaneamente, a uma diminuição da pressão estática. Esta variação dos valores da pressão leva à ebulição do líquido (designadamente da fase aquosa da dispersão) a uma temperatura muito inferior ao ponto de ebulição da água, provocando assim a cavitação. Müller e colaboradores avaliaram o efeito da tecnologia *top down*, aplicando a homogeneização por alta pressão para avaliar a estabilidade determinados fármacos, tais como, ciclosporina [6], omeprazol [7], buparvacona [8], acetato de hidrocortisona [9], na redução da sua cristalinidade e, por conseguinte, na biodisponibilidade dos mesmos. O desenvolvimento de formas farmacêuticas contendo nanocristais parece ser uma alternativa promissora ao aumento da biodisponibilidade de fármacos de baixa solubilidade aquosa.

Capítulo 2. Desenvolvimento

2.1. Nanotecnologia

A palavra Nanotecnologia, resulta de uma associação de dois termos: (i) o prefixo “nano” está relacionado com uma escala de medida (um nanometro é um bilionésimo do metro ou um milionésimo de milímetros), (ii) o termo “tecnologia” que se refere ao desenvolvimento e à produção de novos materiais e ou sistemas.

O mundo nano está orientado por várias regras que diferem daquelas que afectam nossas vidas ao nível macroscópico. Por essa razão, factores que não têm importância ou que seriam inconcebíveis no mundo macro apresentam um grande significado a nível nanométrico.

A Nanotecnologia refere-se à tecnologia utilizada para manipular estruturas muito pequenas, tornando possível a criação de sistemas nanométricos funcionais, cuja concepção não seria possível utilizando a tecnologia convencional.

Apesar de estar relacionada com estrutura muito pequenas, i.e., à escala submicrométrica, esta ciência traz grandes e importantes benefícios para um vasto número de aplicações desde a Biologia (sistemas imunológicos, interacção celular, etc), à Medicina, Química, passando pela Física, Engenharia e Informática. A Figura 1 apresenta um diagrama das diferentes áreas de aplicação de nanotecnologia.

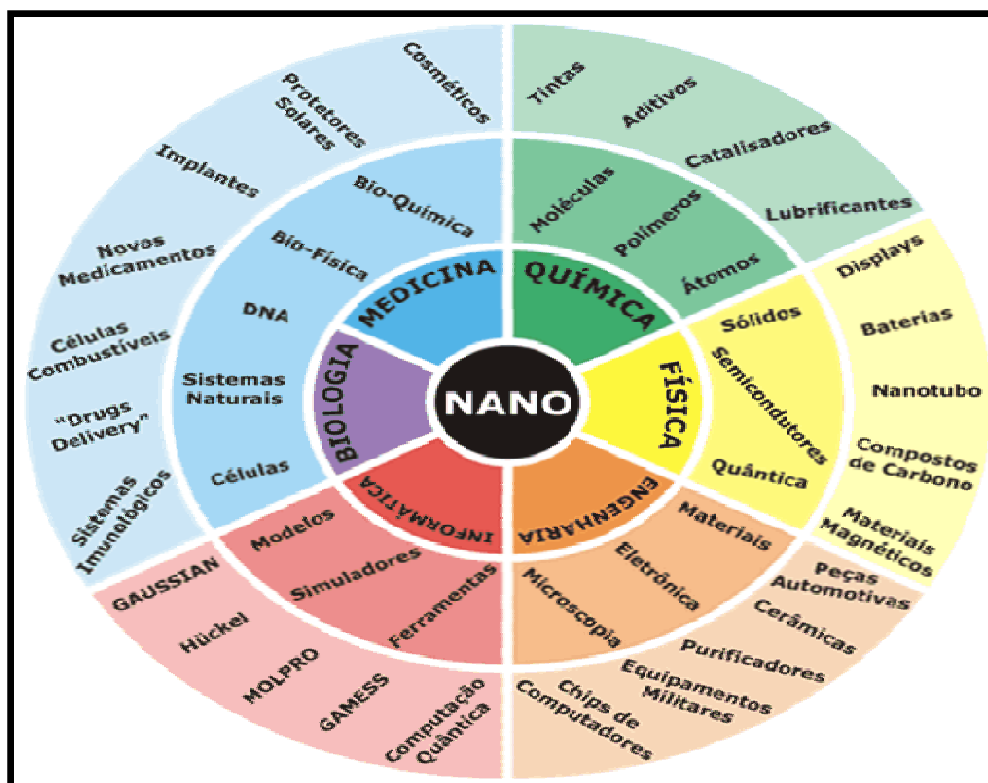


Figura 1. Uma visão da Nanotecnologia

Fonte: <http://nanotecnologiananotecnologia.blogspot.com/>

Como ciência revolucionária, a nanotecnologia controla diversos fenômenos apresentando novas propriedades e funções que actualmente já fazem parte do nosso quotidiano.

Quando abordamos a escala nanométrica, encontramos-nos a reflectir sobre a escala atómica e molecular. É certo que os tamanhos dos átomos diferem de acordo com os elementos químicos presentes, enquanto que os tamanhos das moléculas dependem do número de átomos e da maneira como estes se ligam. Contudo uma das grandes vantagens da nanotecnologia é o aumento da área de superfície dos materiais na escala nano, o que torna estes materiais muito mais reactivos.

O objectivo da nanotecnologia apresenta subjacentes estas novas propriedades, como o aumento da área de superfície para preparar novos materiais denominados nanomateriais. Estes materiais não possuem, preferencialmente tamanho nanométrico, mas têm de possuir na sua composição estruturas nanométricas que geram novas propriedades e aplicações.

Alguns benefícios da nanotecnologia incluem:

1. A redução do tamanho por aplicação de técnicas conhecidas (*bottom up* versus *top down*);
2. Obtenção de materiais (nanomateriais) com novas propriedades reactivas;
3. Aumento de sensibilidade dos materiais desenvolvidos (i.e. nanomateriais) em comparação com os da escala micrométrica.

A nanobiotecnologia refere-se à fusão de duas abordagens de tecnologias recentes, a biotecnologia e a nanotecnologia, apresentando igualmente enormes inovações e potencialidades.

A nanobiotecnologia pode ser definida como o estudo, o processamento, o desenvolvimento e a produção de dispositivos orgânicos (nanomateriais) utilizados para finalidades biológicas ou biomateriais, nos quais pelo menos um componente funcional possui tamanho nanométrico.

Áreas relevantes da nanobiotecnologia incluem a nanomedicina (biologia molecular e genética), a física-médica (diagnóstico), o desenvolvimento de nanofármacos (fármacos encapsulados), e a nanocosmética (ingredientes activos com finalidades dermocosméticas). Outras abordagens da nanobiotecnologia envolvem o uso de sistemas biológicos como modelos no desenvolvimento de novos produtos na no âmbito da nanoescala.

A abordagem da nanotecnologia para fins de vectorização e veiculação inclui aplicações importantes na ciência de colóides nas suas mais variadas formas, como emulsões simples ou múltiplas, emulsões inversas, micro e nanogeles, lipossomas, micro e nanopartículas poliméricas biodegradáveis, nanopartículas lipídicas sólidas, etc, servindo também como sistemas de libertação controlada.

A utilização destes sistemas na libertação controlada de fármacos envolve um amplo campo de estudos e tem reunido muitos esforços, actualmente, na área de nanopartículas. As novas estratégias incluem a vectorização activa de fármacos para atingir um determinado alvo terapêutico, manipulando as propriedades dos materiais usadas na preparação dos colóides, designadamente polímeros sintéticos biodegradáveis, lípidos, bem como modificando as características de superfície dos colóides.

A tecnologia de libertação controlada é caracterizada por um sistema capaz de promover algum controlo terapêutico, seja de natureza temporal (i.e. em função do momento de libertação) espacial (uma função do local de libertação) ou de ambos. Os sistemas de libertação oferecem inúmeras vantagens quando comparados a outros de dosagem convencionais, tais como:

- I. Maior eficácia terapêutica, com libertação progressiva e controlada do fármaco.
- II. Diminuição significativa da toxicidade e maior tempo de permanência na circulação.
- III. Natureza e composição dos veículos, além de protecção contra mecanismos de instabilidade e decomposição do fármaco (inactivação precoce).
- IV. Administração segura, sem reacções inflamatórias locais.
- V. Possibilidade de redução do número de doses devido a uma libertação progressiva,
- VI. Possibilidade de direccionamento activo para alvos específicos.

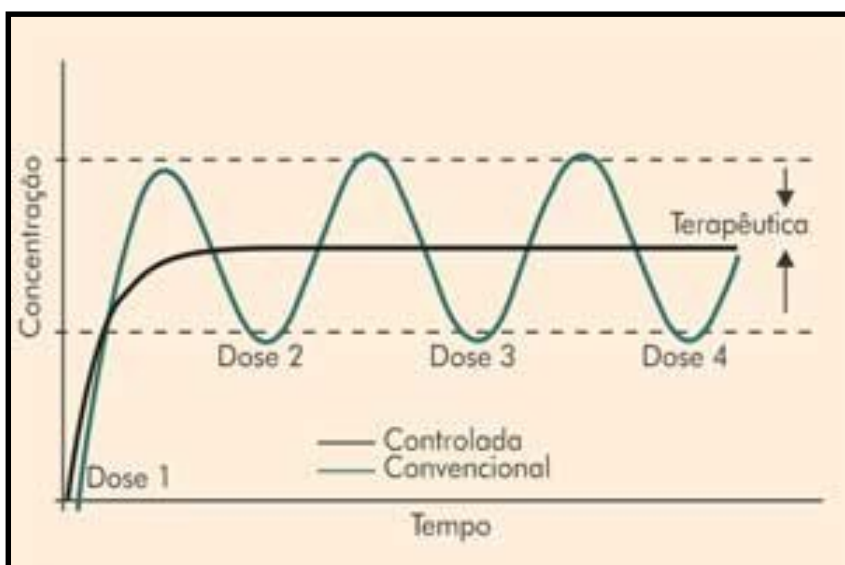


Figura 2. Modelo simplificado de liberação controlada

Fonte: http://www.gerbras.com.br/produtos/vitaline_e.asp

Em suma, a nanotecnologia encontra-se actualmente presente em vários aspectos de nossas vidas, pelo que não há mais como ignorar ou rejeitar esta nova tecnologia. A investigação e o aprofundamento do nosso conhecimento actual sobre estes novos produtos será a forma mais eficiente de obter óptimos benefícios para a sociedade [10].

2.1.1. Nanotecnologia no campo farmacêutico

A Nanotecnologia farmacêutica é a área das ciências farmacêuticas que está envolvida no desenvolvimento, caracterização e aplicação de sistemas terapêuticos em escala nanométrica ou micrométrica (no caso de não ultrapassar os poucos micrómetros, em regra, inferior a 3 μm). O estudo destes sistemas têm sido realizados com o objectivo de direccionar e controlar a libertação de fármacos [11].

A aplicação da nanotecnologia para o tratamento, diagnóstico, monitorização e controlo de sistemas biológicos foi recentemente denominada “Nanomedicina” pelo *National Institute of Health* nos Estados Unidos [12]. Esta tecnologia surgiu nos anos 1960 com o desenvolvimento inicialmente da microencapsulação, técnica de transformação de líquidos (polímeros e outras substâncias) em pós com tamanho de partículas micrométricas. A microencapsulação é bastante utilizada nas indústrias alimentar, têxtil, farmacêutica e dermocosmética, pela protecção que esta tecnologia auferê às substâncias lábeis e voláteis.

A libertação controlada do fármaco tem contribuído para a melhoria da sua biodisponibilidade, para a redução da dose terapêutica e da toxicidade. A microencapsulação serviu de modelo para técnicas mais sofisticadas, actualmente em escala nanométrica, permitindo o desenvolvimento de nanopartículas.

A descoberta dos lipossomas nos anos 1960 veio aumentar a variedade de ferramentas disponíveis para o desenvolvimento da nanotecnologia farmacêutica com sistemas lipídicos para vectorização de fármacos [13]. Hoje em dia são desenvolvidos sistemas de escala nanométrica, tais como, lipossomas e nanopartículas, e sistemas de escala micrométrica, como micropartículas, emulsões múltiplas e microemulsões [14]. Os lipossomas são vesículas aquosas revestidos por uma bicamada lipídica e podem servir como veículo de fármacos hidrossolúveis e lipossolúveis para serem encapsulados na cavidade aquosa da vesícula ou na bicamada lipídica, respectivamente [13].

Nos anos 1990 surgiram sistemas nanométricos mais sofisticados revestidos por polímeros hidrofílicos, denominados por tecnologia *Stealth*, que permitem um tempo de circulação maior no organismo. Além dos sistemas *Stealth*, existem outros que contêm moléculas sinalizadoras

na superfície, denominados sítios específicos com a finalidade do direcionamento específico de fármacos para células alvo [15]. Entre as vantagens que os nanossistemas podem oferecer destacam-se: a protecção do fármaco no sistema terapêutico contra possíveis instabilidades no organismo, promovendo manutenção de níveis plasmáticos numa concentração constante; o aumento da eficácia terapêutica; a libertação progressiva e controlada do fármaco mediante a resposta a estímulos do meio em que se encontram (sensíveis a variação de pH ou de temperatura); a diminuição da toxicidade pela redução de picos plasmáticos de concentração máxima; a diminuição da instabilidade e decomposição de fármacos sensíveis; a possibilidade de direcionamento a alvos específicos (local, especificidade); a possibilidade de incorporação tanto de substâncias hidrofílicas como lipofílicas nos dispositivos; a diminuição da dose terapêutica e do número de administrações e aumento da adesão do doente à terapêutica, evitando abandonos do processo terapêutico.

O termo “nanopartícula” inclui as nanocápsulas e as nanoesferas, as quais diferem entre si segundo a composição e a organização estrutural. As nanocápsulas são constituídas por um invólucro polimérico disposto ao redor de um núcleo oleoso, pelo que o fármaco pode estar dissolvido neste núcleo e/ou adsorvido na parede polimérica. Por outro lado, as nanoesferas, que não apresentam óleo na sua composição e são formadas por uma matriz polimérica, no qual o fármaco pode encontrar-se retido na matriz, solubilizado ou adsorvido à superfície de nanoesfera.

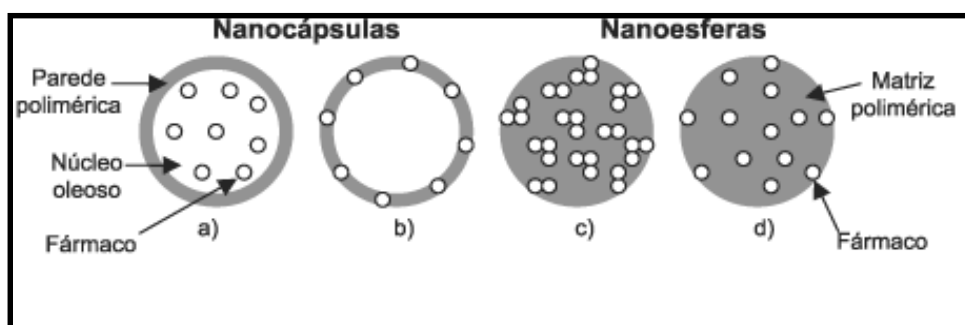


Figura 3. Representação esquemática de nanocápsulas e nanoesferas poliméricas: a) fármaco dissolvido no núcleo oleoso das nanocápsulas; b) fármaco adsorvido na parede polimérica das nanocápsulas; c) fármaco retido na matriz polimérica das nanoesferas; d) fármaco adsorvido ou disperso molecularmente na matriz polimérica das nanoesferas)

Fonte: Schaffazick S. R. *et al* (2003) [76].

O desenvolvimento da nanotecnologia depende fundamentalmente do tipo de material, bem como na caracterização das suas propriedades.

A caracterização das suspensões engloba a avaliação morfológica, a distribuição de tamanho de partícula, da massa molar do polímero, a determinação do potencial zeta, do pH, e da quantidade de fármaco associado às nanopartículas, a cinética de libertação do fármaco e, ainda, a avaliação da estabilidade em função do tempo de armazenamento. O conjunto de informações obtidas pela caracterização destes sistemas pode conduzir à elaboração de modelos que descrevam a organização das nanopartículas em nível molecular, dependendo da composição qualitativa e quantitativa das formulações [16].

2.2. Abordagem geral da utilização de sistemas nanotecnológicos como uma nova forma farmacêutica para a administração parentérica

Uma das áreas mais promissoras da utilização das nanopartículas é a vectorização de fármacos anti-cancerígenos e de antibióticos, principalmente através de administração parentérica, cujo objectivo é uma distribuição mais selectiva dos mesmos e, assim, um aumento do índice terapêutico.

Tem sido motivador e crescente o interesse em nanopartículas, como uma abordagem para a formulação de fármacos pouco solúveis, para além de ser possível aumentar a capacidade de carga do sistema, na dissolução e na melhoria da biodisponibilidade, as nanopartículas podem igualmente fornecer capacidades de diagnóstico (designadamente, radiodiagnóstico) quando injectada por via intravenosa.

A biodisponibilidade foi uma das propriedades que levou ao aumento da investigação e do desenvolvimento nas nanosuspensões para administração intravenosa. O primeiro produto obtido através da nanotecnologia administrado por via intravenosa, Abraxane[®] (uma reformulação de paclitaxel), foi aprovado pelo FDA em 2006.

Nos últimos anos, verificou-se que a maioria dos medicamentos insolúveis em água são maioritariamente os anti-cancerígenos, os anti-infecciosos, os que se destinam a exercerem efeitos no sistema nervoso central (SNC) e, os anti-virais. Com o aumento da prevalência da população doente nestas áreas, tem havido um forte investimento no desenvolvimento de novas formas farmacêuticas para aplicação injectável, as nanosuspensões.

Na sequência da recente aprovação de uma forma farmacêutica nanoparticulada intravenosa, Abraxane[®], tem havido um aumento exponencial de ensaios clínicos para formulações de fármacos nanoparticulados.

Quanto às vias de administração de fármacos, das vias de administração parentérica, a intravenosa é a que propicia o efeito do fármaco mais rápido. Para outras vias de administração parentérica, como por exemplo, a via intramuscular e a via subcutânea, verifica-se uma absorção do fármaco mais lenta, podendo levar semanas e ou até meses [17].

A variabilidade na absorção do fármaco da injeção intramuscular está associada à profundidade de injeção, lipofilia do fármaco, às diferenças na camada adiposa, à espessura, à extensão de tecido de perfusão, bem como dependente da temperatura local, ocorrência de edema, etc.

O processo conducente à libertação do fármaco a partir de uma suspensão aquosa de administração intramuscular inclui a difusão da água para o interior do sistema, que é afectada pelo fluxo sanguíneo, a dissolução de suspensão, e a difusão de dissolução do fármaco na circulação sanguínea.

Os principais benefícios clínicos da dosagem da suspensão estão directamente relacionados com elevada capacidade de carga de fármacos, conduzindo a menor volume de injeção, redução da toxicidade substituindo agentes solubilizantes. Um exemplo é Cremophor® (óleo de rícino polioxetilado), que conduz a uma suspensão com baixa quantidade de agentes tensoactivos, possibilitando a alteração da farmacocinética do fármaco, proporcionando uma maior dosagem e uma administração menos frequente, bem como, mais passiva ou mesmo activa na libertação controlada do fármaco.

Diversas investigações têm demonstrado o grande potencial da nanotecnologia farmacêutica no tratamento, prevenção e diagnóstico de inúmeras patologias, entre elas as parasitárias.

As técnicas inovadoras têm-se aplicado para a obtenção de novas formas farmacêuticas de libertação controlada de fármacos capazes de manter ou ampliar a acção desses agentes promissores e utilizados no combate e no controlo de determinadas doenças crónicas.

A título de exemplo pode referir-se a abordagem terapêutica da “ Malária”, cujo objectivo é avaliar o efeito da terapêutica antimalária e demonstrar o respectivo potencial da nanotecnologia farmacêutica. Contudo existem questões relevantes sobre a doença, tais como, medidas de prevenção, diagnóstico, terapêutica convencional e as alternativas nanotecnológicas para novas formas farmacêuticas, com antimaláricos e vacinas, facto relevante neste capítulo.

A malária ocorre com maior frequência nos países tropicais, onde quatro espécies são susceptíveis a infectar o Homem: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* e *P. ovale* [18, 19].

Sucintamente pode referir-se que a Malária é uma doença infecciosa causada por um protozoário unicelular do género *Plasmodium*, que pode ser transmitida para o ser humano através da picada do mosquito do género *Anopheles*, por transfusão de sangue ou partilha de agulhas e seringas infectadas com o parasita [19].

A quimioterapia é o factor mais importante para diminuir as taxas de morbidade e mortalidade relacionadas com Malária, segundo Kremsner e Krishna [20].

O tratamento adequado para um paciente com malária deve ser antecedido de informações sobre a gravidade da doença, a espécie de plasmódio, a idade do paciente, o histórico de exposição anterior à infecção e a susceptibilidade dos parasitas aos antimaláricos convencionais. Actualmente, o único tratamento igualmente efectivo contra ambas as espécies de plasmódios prevalentes em Portugal (*P. vivax* e *P. falciparum*) ainda não foi estabelecido.

A toxicidade induzida pelo uso da maioria dos antimaláricos utilizados no tratamento e na profilaxia da doença é outro problema que deve ser minimizado de forma a que se possa garantir o controlo adequado da doença, sem nunca subestimar a supervisão do paciente. Os antimaláricos causam efeitos secundários, tais como distúrbios gastrointestinais, náuseas e vômitos, causados pelo uso de mefloquina ou o prurido causado pelo uso de cloroquina, situações que podem conduzir à não adesão do doente ao processo terapêutico. No entanto, podem ser verificados efeitos mais graves quando o tratamento ocorre em dose única [21].

O desenvolvimento de novos regimes de utilização combinada de antimaláricos e o uso de informações moleculares, obtidas dos estudos do genoma de plasmódios, são de importância vital para a identificação de alvos para o futuro desenvolvimento de novas formas farmacêuticas.

Entre as vantagens que os sistemas nanométricos podem oferecer destacam-se a protecção do fármaco no sistema terapêutico contra possíveis instabilidades no organismo, garantindo a manutenção dos níveis plasmáticos numa concentração constante. Embora estas vantagens

sejam significativas, alguns inconvenientes não podem ser esquecidos, como por exemplo, a toxicidade, ausência de biocompatibilidade dos materiais utilizados e, sem dúvida, o elevado custo de obtenção dos nanossistemas comparados com as formulações farmacêuticas convencionais [22, 23, 24].

Lipossomas são vesículas aquosas formadas por bicamadas concêntricas de fosfolipídios, uma ótima forma de sistema de liberação controlada de fármacos devido à sua flexibilidade estrutural e capacidade de incorporar uma variedade de compostos hidrofílicos [25] e hidrofóbicos [26], sendo os sistemas nanométricos mais estabelecidos clinicamente para a liberação e liberação de fármacos citotóxicos, genes e vacinas [27].

Bayomi e colaboradores [28], desenvolveram formulações lipossômicas contendo artemeter, uma substância semi-sintética, derivada de artemisinina, efectivo contra as condições eritrocíticas de *P. falciparum* resistente à cloroquina e à mefloquina [29].

O artemeter em lipossomas administrados por via intravenosa resultou no aumento no tempo de semi-vida, quando comparado com fármacos de outros derivados da artemisinina, como a própria artemisinina e o artemeter em solução.

Mosqueira e colaboradores [30, 31] desenvolveram formulações de nanocápsulas contendo halofantrina para a avaliação da eficiência e farmacocinética em estudos infectados pelo *P. berghei*. Os resultados mostraram que a nanoencapsulação da halofantrina promoveu perfil farmacocinético mais favorável e reduziu a cardiotoxicidade [32], sugerindo o uso de halofantrina nanoencapsulada, por via parentérica, para o tratamento da malária grave com menores efeitos adversos.

Bhadra e colaboradores [33] desenvolveram nanopartículas baseadas em dendrímeros de PEG-poli-Lisina recobertas por sulfato de condroitina.

Pelo exposto anteriormente, o tratamento da malária pode ser beneficiado através de técnicas de encapsulação de fármacos. As estratégias de combate à malária utilizando técnicas de nanotecnologia farmacêutica, com o desenvolvimento de uma vacina é a alternativa que tem

recebido maior atenção da investigação científica, com a crescente divulgação de artigos publicados nesta área.

Alguns investigadores já comprovaram a possibilidade de encapsulação de antimaláricos em lipossomas, nanocápsulas e micropartículas, demonstrando a sua eficiência e utilidade na terapêutica antimalárica.

2.3. Descrição das vias de administração parentérica

A administração de medicamentos deve ser realizada com eficiência, segurança e responsabilidade, a fim de que sejam alcançados os objectivos da terapêutica implementada e, dessa forma, uma melhoria do quadro clínico do paciente. Para essa finalidade, deve ter-se conhecimento de alguns dados quanto ao processo de administração, designadamente das informações farmacológicas do medicamento (farmacocinética, farmacodinâmica, dose máxima e efectiva, além do intervalo entre as doses etc.), bem como os métodos, as vias e as técnicas de administração.

O método de administração dos medicamentos depende da rapidez com que se deseja a acção do fármaco, da natureza e quantidade de fármacos a ser administrado e das condições do paciente. As condições do paciente determinam, muitas vezes, a via de administração de certos fármacos.

Todavia, inúmeros problemas limitam a administração de fármacos, por isso as vias utilizadas para administração de fármacos apresentam contra-indicações em alguns casos específicos.

A administração parentérica de fármacos apresenta algumas vantagens nítidas em relação à via oral. A biodisponibilidade é mais rápida e mais previsível. Além disso, a dose eficaz pode ser escolhida de forma mais precisa. No tratamento de emergências, esse tipo de administração é extensamente valioso.

Contudo, a injeção do fármaco também tem suas desvantagens. Pode ocorrer uma injeção intravascular acidental, a injeção pode vir acompanhada de forte dor e, às vezes, é difícil para um paciente injectar o fármaco em si mesmo, se for necessária a automedicação. Os custos desse tipo de intervenção são outra consideração importante. Muitas vezes, o fármaco é impedido de ser administrado pela via parentérica, por razões relacionadas com nas suas próprias características, ou pelas condições apresentadas pelo paciente.

As 3 principais vias parentéricas são a intravascular (intravenosa e intra-arterial), intramuscular e subcutânea. Cada uma delas tem suas vantagens e desvantagens.

Na via intravascular, a injeção intravenosa é a via parentérica mais comum. Para fármacos não absorvidos por via oral, usualmente não há alternativa. Na administração intravenosa, o fármaco não tem contacto com o tracto gastrointestinal, e portanto, não sofre o efeito de primeira passagem pelo fígado. Esta via permite um efeito e um elevado grau de controlo quanto aos níveis circulantes de fármaco. A injeção intravenosa pode introduzir bactérias por contaminação do material, causar hemólise ou outras reacções adversas em função da ocorrência de altas concentrações do fármaco no plasma e no tecido. Por conseguinte, a velocidade de infusão deve ser cuidadosamente controlada. Cuidados semelhantes aplicam-se aos medicamentos injectados por via intra-arterial.

A via intra-arterial é raramente utilizada, quer seja pelas dificuldades técnicas em aplicá-la, quer seja pelos riscos que oferece. A justificação do seu uso tem sido relacionada com a necessidade de se obterem altas concentrações locais dos fármacos, antes de ocorrer sua diluição por toda circulação.

Os fármacos administrados intramuscularmente podem ser soluções aquosas ou preparações de depósito especiais - em geral uma suspensão do fármaco em veículo não aquoso, tal como etilenoglicol ou óleo de amendoim. A absorção do fármaco em solução aquosa é mais rápida, enquanto que as soluções destinadas a formarem um depósito originam uma absorção mais lenta. À medida que o veículo se difunde, deixando o músculo, o fármaco, pode precipitar no local da injeção. O fármaco pode dissolver-se lentamente, fornecendo uma dose mais ou menos constante por um período de tempo prolongado.

As injeções intramusculares depositam o fármaco profundamente no tecido muscular, o qual, por ser bastante vascularizado pode absorvê-la rapidamente. Esta via de administração fornece uma acção sistémica rápida e absorção de doses relativamente grandes (até 5 ml em locais adequados).

Pelo facto de possuir uma acção rápida, a via de administração intramuscular é utilizada em quadros de reacção anafilática, através da administração intramuscular de betametazona ou dexametazona, em casos de emergência.

As injeções intramusculares são recomendadas para os pacientes não cooperativos ou aqueles que não podem tomar a medicação por via oral e para as medicações que são alteradas pelo suco digestivo. Os tecidos musculares possuem poucos nervos sensoriais, permitindo na injeção uma administração menos dolorosa. O local de uma injeção intramuscular deve ser escolhido cuidadosamente, levando em consideração o estado físico geral do paciente e a proposta da injeção. As injeções intramusculares são contra-indicadas em pacientes com mecanismo de coagulação prejudicados, em pacientes com doença vascular periférica oclusiva, edema e choque, uma vez que estas condições prejudicam a absorção periférica. Para além disso não devem ser administradas em locais inflamados, irritados ou ainda em locais com manchas de nascença, tecido cicatrizado ou outras lesões.

A via subcutânea é uma via que só pode ser utilizada para fármacos que não irritam o tecido. Caso contrário, pode sobrevir dor intensa, necrose e descamação.

A via subcutânea, assim como a injeção intramuscular, requerem absorção e é algo mais lenta do que a via intravenosa. A injeção subcutânea minimiza os riscos associados com a injeção intravascular. Pequenas quantidades de adrenalina são, às vezes, associadas com um fármaco de modo a restringi-lo a sua área de actuação. A adrenalina actua como vasoconstritor local e diminui a remoção de fármaco, como a lidocaína, do seu local de administração.

Os medicamentos podem ser preparados em suspensões ou em complexos relativamente insolúveis, de modo que sua absorção se prolongue por horas, dias ou, durante mais tempo, não precisando ser administrados com tanta frequência.

A via intramuscular é preferível à via subcutânea quando há necessidade de maiores volumes do medicamento. Tendo em consideração que os músculos estão situados mais profundamente sob a pele, é utilizada uma agulha mais comprida. No caso da via intravenosa, a agulha é inserida directamente numa veia.

A aplicação intravenosa pode ser mais difícil que as demais parentéricas, especialmente em pessoas obesas. A administração intravenosa, seja em dose única ou em infusão contínua, é o melhor modo de administrar medicamentos com rapidez e precisão.

2.4. Definições e propriedades dos nanocristais e das nanoemulsões

Cerca de 40% dos novos medicamentos formulados nos laboratórios do mundo não são aprovados nos testes clínicos por não serem absorvidos adequadamente pelo organismo humano. Para reduzir esse problema, uma alternativa é o desenvolvimento dos nanocristais de uso farmacêutico.

Um nanocristal é uma partícula pequena com pelo menos uma dimensão 100 nm. Estes materiais são de enorme interesse tecnológico, desde que muitas das suas propriedades eléctricas e termodinâmicas mostrem uma forte dependência para o tamanho, podendo ser controladas com os cuidadosos processos de produção. Os nanocristais são também importantes visto que fornecem os sistemas cristalinos de domínio único a informação que pode ajudar a explicar o comportamento de amostras de materiais semelhantes que existem à escala macroscópica.

Os nanocristais têm um importante interesse científico porque funcionam como uma ponte entre materiais maiores e estruturas atômicas ou moleculares. As propriedades dos materiais mudam, dependendo do tamanho, de acordo com uma nanoescala, sendo a percentagem dos átomos, na superfície de um material, mais significativa.

As suspensões das nanopartículas são possíveis porque a interação entre a superfície da partícula e o solvente é bastante forte, superando as diferenças na densidade, que resultam geralmente num material que se afunda ou que flutua num líquido. As nanopartículas têm, frequentemente, propriedades visíveis inesperadas porque são bastante pequenas, mas têm uma área de superfície muito elevada proporcionalmente ao volume dos átomos.

2.4.1. Métodos de produção

Os métodos de produção de nanocristais são muito semelhantes à produção de nanoemulsões. Esta reacção descreve os métodos de produção dos dois tipos de formulações.

Actualmente, existem vários métodos de produção de nanoemulsões, entre eles, os mais utilizados são a homogeneização a alta pressão e a microfluidização. Nestes métodos, a preparação de nanoemulsões ocorre geralmente em duas etapas. Primeiramente, as fases aquosas e oleosas são aquecidas separadamente (a aproximadamente 70 °C) e emulsionadas através do uso de homogeneizadores de alta velocidade (Ultraturrax® e Politron®), ou outro equipamento similar.

Assim, uma emulsão primária é obtida, apresentando uma partícula de tamanho micrométrico, sendo este, ser influenciado pelo equipamento utilizado e pelas condições operacionais (pressão, temperatura, número de ciclos, tempo de homogeneização). Após o arrefecimento, uma segunda etapa, o diâmetro de partícula é progressivamente reduzido até valores submicrométricos, compreendidos entre 100 e 300 nm, através da utilização de homogeneizadores à alta pressão ou outros equipamentos, como o microfluidizador ou ultrassom [34-38].

Outros métodos não utilizam energia elevada, como os métodos físicos supracitados, pelo que são designados por métodos de emulsificação de baixa energia, pois utilizam a energia química armazenada nos componentes [39]. Dentro desta classe estão incluídos métodos como a emulsificação espontânea [40], que se baseia na dispersão de uma solução orgânica de um solvente lipossolúvel na fase aquosa, com subsequente evaporação do solvente e redução do volume sob pressão reduzida. Outros incluem os métodos que fazem uso da transição de fases produzida durante o processo de emulsificação, que ocorre: (i) geralmente à temperatura constante, mudando-se a composição do sistema [41]; ou, (ii) mantendo-se a composição do sistema constante, mas alterando-se a temperatura [42], como é o caso do método da temperatura de inversão de fases.

2.4.1.1. Microfluidização

A microfluidização é outra tecnologia relatada em diversos estudos [43-50], e que foi patenteada em 1985 [50]. Este método utiliza alta pressão para direccionar o fluxo de uma pré-emulsão para uma área de choque. A área/câmara de choque/interacção consiste num sistema de canais em bloco de cerâmica que divide a pré-mistura em dois fluxos, que são a seguir recombinados, ocorrendo cavitação, sonicação e impacto, o que provoca redução do tamanho de gotícula da emulsão [43,51]. A eficiência de emulsificação por este método é determinada pelo desenho dos micro-canais dentro da câmara de interacção, pela pressão libertada, e pelo tempo de processamento (número de ciclos de passagem pela câmara) [51]. De forma semelhante à homogeneização à alta pressão, quanto maior o número de ciclos aos quais a emulsão é submetida, maior será a redução do tamanho de gotícula, até um determinado limite. Além disso, o aumento da pressão de operação do equipamento, assim como um aumento de temperatura, proveniente da energia dissipada na forma de calor, e que pode ser observado com o passar do tempo durante a microfluidização, também levam a uma redução no tamanho de gotícula da nanoemulsão [43, 51]. A *Microfluidics Corporation* [52] produz equipamentos com diferentes capacidades de produção e que operam sob diferentes pressões. Num estudo elaborado por Washington & Davis [43] os autores observaram que o microfluidizador possui vantagens significativas sobre a sonda ultra-sónica para produzir pequenas quantidades de emulsões. Durante o processo, o aumento de temperatura foi muito baixo, nenhuma partícula de óleo não emulsificada pode ser observada na superfície da amostra e o processamento das amostras foi rápido.

Também no estudo de Imbert *et al.* [45], os autores prepararam emulsões óleo em água (O/A) utilizando dextrans hidrofobicamente modificados com grupos fenoxi, por microfluidização e por sonicação. Com o processo de microfluidização foi possível obter emulsões mais finas do que por sonicação, resultado que foi explicado pelo maior fornecimento de energia e melhor controlo do processo. Adicionalmente, em um estudo feito por Pinnamaneni *et al.* [46] foram comparadas emulsões óleo em água produzidas por um microfluidizador (Microfluidics, modelo 110L) e homogeneizador do tipo rotor-estator (Silverson, modelo SL2T). Este último difere dos homogeneizadores citados anteriormente, porque é formado por um sistema de pás que gira dentro de um cilindro perfurado, contra o qual o material é projectado. Observou-se que o microfluidizador mostrou-se mais efectivo do que o

homogeneizador na produção de emulsões submicrométricas O/A estáveis, usando triglicerídeos de ácido caprílico/cáprico como fase oleosa e uma combinação de polissorbato 80 e monooleato de sorbitano como sistema emulsionante. A concentração mínima necessária de emulsionante, para formar uma emulsão, por homogeneização, foi de 10 % (tamanho médio da partículas de aproximadamente 262 nm), e todas as emulsões com menos que 17,5% apresentaram-se instáveis. Em contrapartida, por microfluidização, emulsões submicrométricas (< 120 nm) foram obtidas com concentrações baixas de emulsionante (2,5%).

Conforme pode ser observado na Figura 5, no caso da microfluidização, uma pré-emulsão foi preparada num recipiente com agitação e introduzida dentro de uma válvula de homogeneização, utilizando uma pressão entre 5 e 110 MPa. Dentro da válvula, a pré-mistura foi dividida em duas correntes, as quais se uniram mais tarde numa só corrente.

A microfluidização foi mais eficiente que os outros métodos para produzir emulsões O/A com tamanho de gotícula muito pequeno (85-300 nm). Muito embora a microfluidização seja uma técnica adequada para a obtenção de emulsões monodispersas de tamanho nanométrico, segundo Maa e Hsu [51], há algumas desvantagens no seu uso, como dificuldades na manipulação, limpeza (é difícil detectar quando a câmara de interação está contaminada ou deteriorada) e dificuldade de transposição de escala (devido ao alto custo de um equipamento para grande escala).

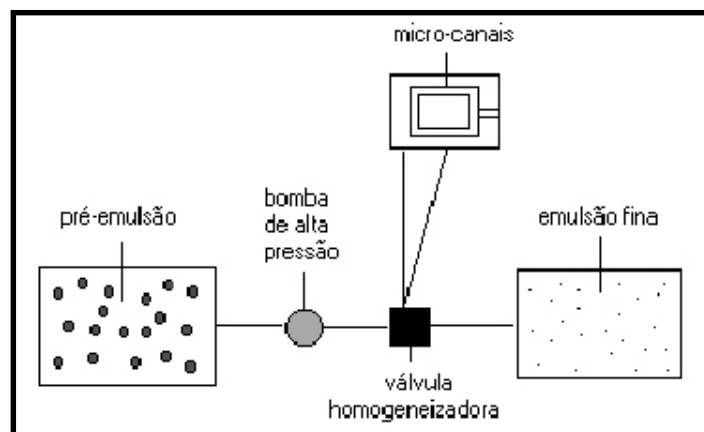


Figura 4. Digrma esquemático do sistema experimental usado para microfluidização
Fonte: Modificado de Vladisavljevic' *et al* [48].

A microfluidização é um princípio de corrente em jacto, ou seja, a suspensão é acelerada, e passa com uma alta velocidade numa câmara de homogeneização específica. Esta câmara pode ser de dois tipos: câmaras tipo “Z”, em que a suspensão muda, por minutos, a direcção do seu fluxo, levando a colisão entre partículas e forças; no segundo tipo de câmara, o tipo “Y”, a corrente da suspensão é dividida em duas correntes que colidem frontalmente.

A técnica de microfluidificação para a produção de nanocristais de fármacos tem sido seguida pela companhia canadiana de *Research Triangle Pharmaceuticals*.

Uma desvantagem desta tecnologia é, por vezes, o elevado número de passagens através do microfluidificador, levando a um tipo de produção não muito favorável. O produto obtido por microfluidização pode conter uma fracção relativamente grande de micropartículas - especialmente no caso de fármacos duros, perde, portanto, os benefícios especiais de uma suspensão homogénea de nanocristais de fármaco.

2.4.1.2. Homogeneização a alta pressão

A utilização deste método tem sido descrita por diversos autores [54-61]. Conforme mencionado, uma emulsão submicrométrica pode ser preparada através de um homogeneizador à alta pressão, no qual uma pré-emulsão é forçada, sob alta pressão, através de um espaço anular entre uma válvula de ajuste (móvel) e o suporte da válvula (fixo), denominado por fenda homogeneizadora.

Quando o produto entra na área entre a válvula e o suporte, há um rápido aumento na velocidade e uma correspondente diminuição na pressão. A energia libertada causa turbulência e as diferenças de pressão localizadas, causam rompimento das partículas. O produto homogeneizado choca com anel de impacto e há uma pressão suficiente para se mover até à próxima etapa do processamento (Figura 6A). Com o aumento da área superficial da emulsão, pela deformação e rompimento das partículas, torna-se importante utilizar sistemas emulsionantes adequados, que estabilizem a nova interface formada. [59] De acordo com Brösel e Schubert [59], para conseguir pequenas gotículas (submicrométricas) num equipamento destinado à emulsificação, há necessidade de grande quantidade de energia. Tadros *et al.* [60] descrevem que a energia mecânica requerida para emulsificação excede a energia das interfaces por várias ordens de magnitude. Devido ao grande gasto energético, os processos executados em etapas são geralmente menos eficientes do que processos contínuos. Geralmente, o diâmetro das partículas produzidas por homogeneização a alta pressão é afectado pela pressão, temperatura e número de ciclos de homogeneização [61]. Tem-se observado que um aumento no número de ciclos leva a uma redução do tamanho de partícula, sendo que após o segundo ciclo de passagem, ocorre uma redução significativa neste. Passagens repetidas podem ocasionar reduções progressivas, porém não tão acentuadas, até um limite no qual essa diminuição não se torna mais relevante [61,62]. O aumento da pressão de homogeneização, assim como da temperatura, também leva à diminuição do tamanho de gotícula formada [62]. Por outro lado, uma alta pressão conduz a um gasto grande de energia, sendo mais vantajosa a realização de mais ciclos de homogeneização a uma pressão moderada [62]. Da mesma forma, a geometria da válvula influencia significativamente o rompimento das gotas [59], e no estudo de Flourey *et al.* [57,58], a tecnologia da válvula Stansted foi comparada com a da válvula do homogeneizador APV-Gaulin, a qual é considerada padrão (Figura 6). Na válvula APV-Gaulin (Figura 6A) o fluido é inserido axialmente dentro do

suporte da válvula, sendo em seguida acelerado radialmente em um espaço entre a válvula e o seu suporte. Ao sair desse espaço, o fluido se torna um jacto radial que estagna com um anel de impacto e, após sair da câmara de homogeneização, fica à pressão atmosférica. Já no caso da válvula Stansted (Figura 6B), a direcção do fluxo através da mesma é reversa, sendo inserido axialmente, porém ao longo da parte móvel, e então acelerado radialmente através da abertura estreita entre a válvula e o suporte desta. O jacto radial sai da válvula sem chocar-se com qualquer ponto da mesma, sendo apenas recirculado ao longo desta antes de fluir para fora do suporte da válvula. A tecnologia da válvula homogeneizadora Stansted emprega material cerâmico, resistente aos altos níveis de pressão (350 MPa), superiores ao do homogeneizador mais convencionalmente utilizado, o APV-Gaulin (70-110 MPa).

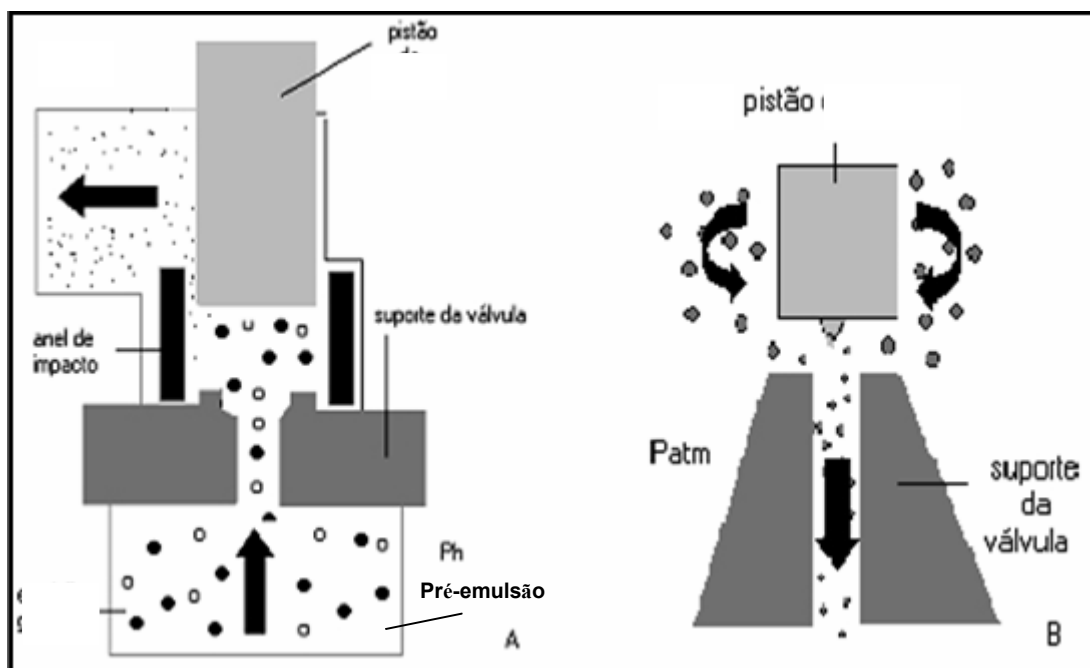


Figura 5. Geometria das válvulas homogeneizadoras

Fonte: Modificado de Flourey *et al* [60].

Entretanto, os autores observaram que a alta pressão do homogeneizador Stansted (350 MPa) não pareceu ter benefícios na eficiência da emulsificação, devido à ocorrência de coalescência das partículas observadas. Ainda, o desgaste do material cerâmico foi observado aquando da manutenção do equipamento. Entretanto, essa pressão possibilitou a obtenção de emulsões com tamanho de gotícula inferior a 300 nm. Actualmente, estão disponíveis homogeneizadores de diferentes escalas de produção. De acordo com Jahnke [65] os

homogeneizadores para pequena escala são destinados ao processamento de pequenas quantidades de amostras, geralmente sua capacidade é em torno de 6 a 20 litros/hora, enquanto que homogeneizadores para escala laboratorial possuem capacidade entre 20 a 500 litros/hora. Já os homogeneizadores de grande escala possuem capacidade entre 500 e 60.000 litros/hora, sendo definidos para operarem continuamente.

As linhas da homogeneização a alta pressão são aceites pelas autoridades reguladoras para a produção de emulsões para nutrição parentérica (e.g. Intralipid, Lipofudin). Basicamente, isto é uma posição muito favorável para começar a estabelecer uma nova tecnologia. Em particular, as técnicas de produção de nanocristais por homogeneização são aqui descritas, designadamente a homogeneização em água (origina DissoCubes®) e em meio pouco aquoso (origina NanoEdge®). Para os DissoCubes® produzidos em água e os nanocristais NanoEdge® produzidos noutros meios de dispersão, pode ser usado o mesmo equipamento. O princípio da homogeneização a alta pressão é usado em diferentes áreas que vão desde os alimentos até aos fármacos.

2.4.1.2.1. Homogeneização em água (DissoCubes®)

Esta tecnologia é baseada em partículas de homogeneização em água pura, sendo o produto comercial denominado de DissoCubes®.

Durante muitos anos, a cavitação foi considerada como o efeito mais importante para diminuir partículas num homogeneizador de alta pressão. Como referido anteriormente, neste tipo de homogeneizador, a dispersão (emulsão ou suspensão) passa por uma junção muito estreita, com uma velocidade extremamente elevada. Antes de entrar nesta junção, a suspensão está contida num cilindro com um diâmetro relativamente grande em comparação com a largura do fosso seguinte. Em APV LAB 40 o diâmetro do cilindro é aproximadamente de 3 cm, mais ou menos 25 μm (varia com a pressão aplicada).

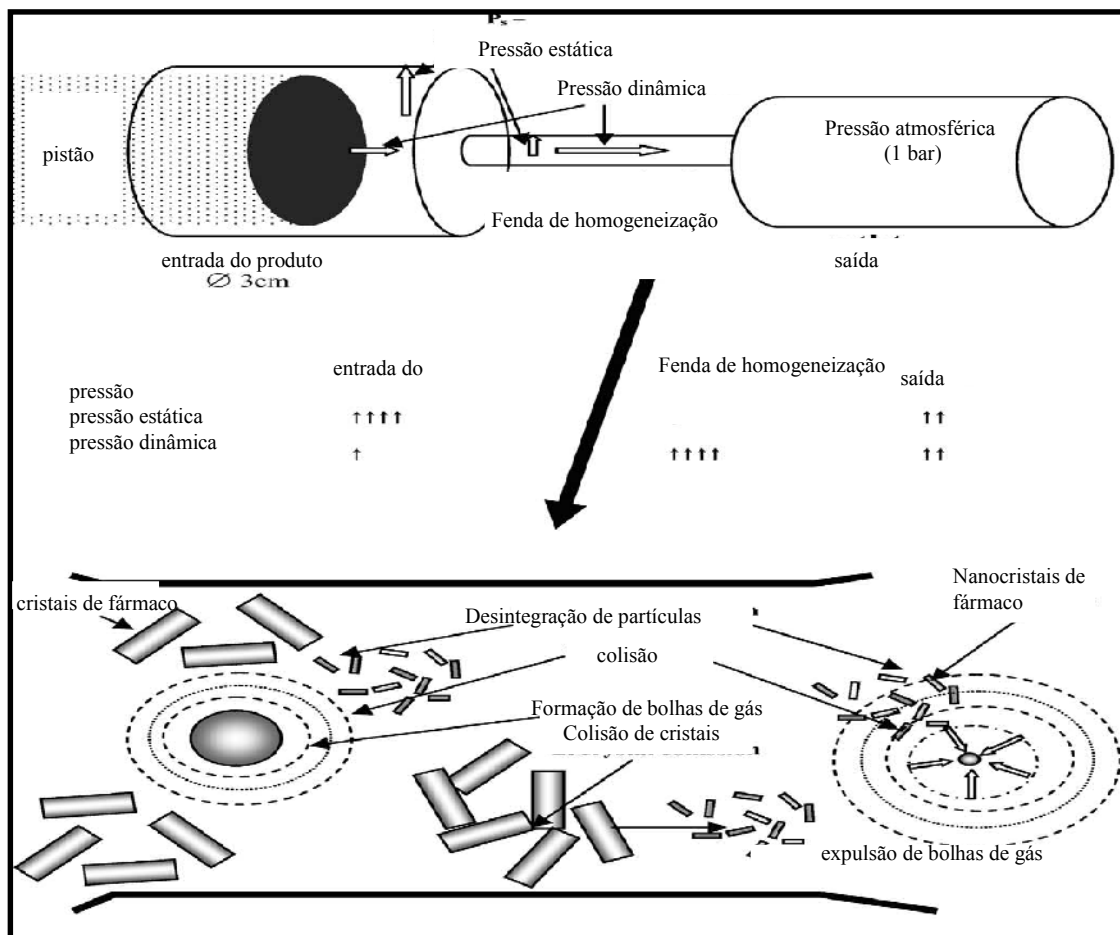


Figura 6. Homogeneização por alta pressão para produzir DissoCubes®

Fonte: Muller RH, Keck CM. (2004) [1]

De acordo com a Lei de Bernoulli, o volume do líquido num sistema fechado por amostra representativa é constante. Isto significa que a redução do diâmetro leva a um aumento extremo na pressão dinâmica e, simultaneamente, uma diminuição da pressão estática, quando o líquido está na fenda de homogeneização.

Um líquido entra em ebulição, quando a sua pressão de vaporização é equivalente à pressão estática no meio ambiente. Na junção, a pressão estática diminui, pelo que, diminui a pressão de vaporização do líquido à temperatura do meio. Em consequência, o líquido ao ferver, forma bolhas de gás que implodem e depois de deixarem a junção, as condições de pressão normais do ar são alteradas, voltando a baixar. Para este tipo de produção, DissoCubes®, a cavitação é considerada um factor determinante [63].

É de evidenciar a importância de ter uma suspensão pura de nanocristais de fármacos com a presença de micropartículas de fármacos baixa ou muito pequena. Para beneficiar, totalmente, do aumento do tamanho das partículas pela diminuição a nanocristais, é também importante um diâmetro principal abaixo de 1 μm . Independentemente do tamanho actual dos nanocristais de fármacos, pelo menos o seu tamanho deve ser homogéneo (como é alcançado pelos homogeneizadores) para evitar destabilização física.

2.4.1.2.2. Homogeneização-precipitação (NanoEdge®)

Este tipo de produção é feito através de moléculas que são dissolvidas e se precipitam, adicionando um solvente a um não-solvente. Basicamente, o fármaco é dissolvido num solvente e esta solução é adicionada a um não-solvente. A adição do solvente ao não-solvente é necessária para produzir um produto muito fino. Os nanocristais de fármacos amorfos são produzidos para melhorar ainda mais a velocidade de dissolução e solubilidade.

A vantagem desta técnica é o facto de se socorrer de um equipamento relativamente simples e de baixo preço. A produção em grande escala é fácil de se conseguir usando misturadores estáticos ou micro-misturadores. O uso de um misturador estático mantém praticamente as condições de precipitação numa proveta em escala laboratorial, mexendo e misturando, para evitar os problemas que ocorrem, potencialmente, quando passamos de uma escala laboratorial para grande escala.

Contudo, existem problemas básicos associados às técnicas de precipitação. As partículas produzidas precisam de manter o seu tamanho depois da precipitação, ou seja, o crescimento da partícula para microcristais precisa de ser evitado, pois as nanopartículas de fármacos têm tendência para continuar o crescimento do cristal. Para além disto, dependendo das condições de precipitação, as partículas são completamente amorfas, parcialmente amorfas ou completamente cristalinas.

Para garantir a estabilidade a longo prazo do estado cristalino, a abordagem mais fácil é ter partículas na menor energia de modificação cristalina. Partículas amorfas ou parcialmente amorfas têm o risco de re-cristalização desta fracção amorfa seguida pela diminuição da biodisponibilidade. Ambos os problemas, designadamente, o crescimento dos cristais e a instabilidade do estado cristalino/amorfo - são eliminados através da combinação da precipitação e da adição de um passo de alta energia.

Em geral, a suspensão de partículas precipitadas é subsequentemente homogeneizada, podendo preservar o intervalo de tamanhos das partículas obtidas depois da precipitação. Além disso, este processo transforma todas as partículas precipitadas para material cristalino,

eliminando todas as preocupações sobre estabilidade física de material amorfo, obtendo-se, assim, nanocristais de fármacos no estado cristalino definido.

Todos os princípios básicos definidos para a precipitação e para a homogeneização a alta pressão são também válidos para esta tecnologia de combinação. Isto significa que esta tecnologia só pode ser aplicada a fármacos que são, no mínimo, solúveis num solvente, onde um segundo não-solvente miscível está disponível para o processo de precipitação. Adicionalmente, solventes de baixa toxicidade devem ser utilizados para evitar qualquer tipo de problema de regulação com resíduos de solventes.

Normalmente, a precipitação ocorre em água, usando solventes hidromiscíveis tais como o metanol, o etanol ou o isopropanol. Apesar de solventes como o etanol serem tolerados até uma certa extensão em formulações orais ou parentéricas líquidas, é desejável removê-los. A tendência básica, é ter disponíveis formulações livres de etanol (e.g. extractos de plantas etanólicas estão a ser continuamente substituídas por extractos baseados em água). A remoção do solvente é relativamente fácil à escala laboratorial (e.g. através de um contador do fluxo de corrente), mas é mais problemático na produção de grandes quantidades. Para a produção de formulações orais secas, os solventes vão evaporar-se com a água, por exemplo como durante o processo de secagem dos comprimidos. Esta tecnologia de combinação parece excluir alguns problemas do processo de precipitação, mas outros como o solvente mantêm-se. Acresce ainda que, processos de combinação são mais caros do que os processos de um só passo, especialmente na produção de produtos parentéricos estéreis.

2.4.2. Propriedades especiais dos nanocristais

Os nanocristais de fármacos têm propriedades especiais que estão relacionadas com a absorção oral, melhorando a sua biodisponibilidade.

O passo limitante da absorção oral é a velocidade de dissolução, pois no caso de fármacos micronizados, esta característica é otimizada pela sua grande área de superfície. Contudo, no caso de fármacos à escala nanométrica temos um efeito menos pronunciado, pois a superfície é aumentada; logo, a velocidade de dissolução é também maior. Em contraste com um pó micronizado, os nanocristais de fármacos podem ser administrados usando diferentes vias de administração. Administração oral é possível com uma suspensão. Formas de dosagens mais convenientes aos pacientes podem ser produzidas transferindo as nanosuspensões líquida para formas de dosagem sólidas, como e.g. comprimidos, granulados ou cápsulas. Como complemento, devido ao seu pequeno tamanho, as nanosuspensões podem ser injectadas parentericamente, de preferência intravenosamente. A injeção intravenosa é responsável por uma biodisponibilidade de 100%.

Outro aspecto importante contudo muitas vezes negligenciado, é o aumento da solubilidade de saturação. É do conhecimento geral que a solubilidade de saturação é um factor específico constante que depende da temperatura e das propriedades do meio de dissolução. Contudo, abaixo de um tamanho próximo dos 1-2 μm , a solubilidade de saturação é também função do tamanho de partícula, tal como se explica pelas equações de Kelvin [64], de Ostwald-Freudlich e de Prandtl [65].

A solubilidade de saturação é uma propriedade de equilíbrio entre moléculas. Aumentando a pressão de dissolução, altera o equilíbrio, e a solubilidade de saturação aumenta. A dependência da solubilidade de saturação do tamanho das partículas é também demonstrada através da equação Ostwald-Freudlich [65].

O aumento da solubilidade de saturação tem dois efeitos principais, designadamente:

1. De acordo com a equação de Noyes-Whitney, $dw/dt = k(c_s - c)$, onde $k = DA/\delta$, o aumento da solubilidade de saturação leva ao aumento da velocidade de saturação.
2. O aumento da solubilidade de saturação do fármaco no lúmen do intestino aumenta o gradiente de concentração entre o lúmen e o sangue, acelerando a difusão do fármaco, e a sua absorção.

Há uma terceira característica especial dos nanocristais de fármacos, designadamente, as propriedades de adesão à superfície, característica geral das nanopartículas. Devido à sua grande área de superfície, as nanopartículas tendem a aderir às superfícies. Este efeito pode ser facilmente demonstrado no dia-a-dia, por exemplo, os cristais de açúcar grandes não aderem tão bem ao pão, quando comparados com o açúcar em pó, pois este é composto por partículas muito finas, tendo, por isso, facilidade em revestir o pão numa camada muito adesiva. A adesividade das partículas à parede intestinal, depois da administração oral, melhora a biodisponibilidade. Como consequência, o fármaco dissolve-se exactamente no local onde ocorre a absorção.

Em suma, as características especiais de nanocristais de fármacos são: (i) o aumento da área de superfície por uma dimensão comparado com pós micronizados, (ii) o aumento da solubilidade de saturação, levando ambas a uma velocidade de dissolução distintamente aumentada e (iii) a adesividade, devido ao seu carácter ultrafino, melhorando a biodisponibilidade oral dos fármacos.

2.4.3. Transposição de escala

Em geral, a produção em grande escala depara-se com muitos problemas, uma vez que os parâmetros e dimensões do processo são alterados significativamente durante esta transposição de escala.

Ao produzir-se nanocristais no laboratório, o volume de produção dos nanocristais de fármacos é, em regra, muito pequeno, sendo de aproximadamente 3 a 40 ml, dependendo do aparelho. Porém, ao passar-se para a grande escala, adquire-se um volume muito superior podendo haver alterações. Para isso, deve obedecer-se a um pré requisito fundamental, ou seja, ter disponível material apropriado para uma produção qualificada de grandes quantidades.

Uma vantagem da utilização do processo de homogeneização de alta pressão, reside no facto deste apresentar uma válvula de homogeneização muito idêntica, pelo menos no que se refere à geometria, às máquinas de produção de grande escala. Ao usar-se máquinas de maiores volumes, obtém-se uma produção benéfica, com mais qualidade. Diminuem-se os ciclos de homogeneização e a pressão utilizada, conseguindo-se um produto, com um tamanho cada vez menor e mais homogêneo. Assim, ao usar-se máquinas de grandes volumes, pode controlar-se melhor os parâmetros de produção como, por exemplo, a temperatura.

Ao comparar estas máquinas com as utilizadas à escala laboratorial, há ainda vantagens adicionais, pois não são máquinas que perfuram isoladamente. Pelo contrário, realizam uma perfuração múltipla e, para além disso, ainda estão equipadas com duas válvulas de homogeneização em série, havendo menos flutuações na sua pressão.

As linhas de produção em grande escala descritas para homogeneização aquosa e não aquosa podem também ser aplicadas para a tecnologia de combinação de Baxter, NanoEdge®.

No caso da produção de formulações estéreis de nanocristais de fármacos, existem duas abordagens possíveis:

1. Esterilização térmica
2. Produção asséptica

A esterilização térmica por autoclave pode ser realizada no caso do fármaco ser resistente a altas temperaturas e o agente tensioactivo adequado para se sujeitar a este processo. Foi descoberto que, em geral, tal como para emulsões lipídicas parentéricas a estabilização de nanopartículas pela lecitina pode levar a dispersões sendo estáveis às condições de autoclave de 121 °C, 2 bar. Em nanosuspensões estabilizadas com polímeros lineares, tais como o poloxâmero 188 (co-polímero de polioxietileno-polioxipropileno), foi observada a ocorrência de floculação. Este fenómeno deve-se à desidratação das cadeias do polímero e à menor eficácia para se sujeitar à esterilização estável, por autoclave. É claro que estes resultados não podem ser generalizados; cada caso depende da afinidade do agente tensioactivo à superfície dos nanocristais de fármacos e das propriedades resultantes da formulação obtida.

Pode usar-se também a produção asséptica, uma vez que o processo pode ser monitorizado e validado de forma exacta. A companhia Baxter realizou uma linha asséptica para nanosuspensões parentéricas em grande escala. Esta linha de produção, tem também a vantagem de poderem ser processados os fármacos altamente potentes tais como citotóxicos. Para além disto, deve ter-se em mente que o próprio processo de homogeneização de alta pressão tem um efeito redutor sobre os germes. Não só os cristais mas também as bactérias são “desintegrados”.

2.5. Formulações farmacêuticas de nanocristais

As nanosuspensões, podem chegar ao mercado farmacêutico sob a forma de produtos líquidos, em particular para serem usadas casos especiais, como nos pacientes idosos ou em crianças. Contudo, as formas farmacêuticas mais utilizadas para este tipo de produtos são as formas sólidas, ou seja, as cápsulas e os comprimidos.

No caso de nanocristais de fármacos em água pura (DissuCubes®) ou em água contendo misturas NanoEdge®, as nanosuspensões podem ser usadas como um fluido de granulação no processo de granulação para a produção de comprimidos, ou em alternativa, como um agente molhante para a extrusão em massa da produção de *pellets*. Secagem por atomização é também possível em misturas de água-etanol que vão evaporar mais rapidamente do que água pura.

Os pós produzidos podem ser usados para a produção de comprimidos, *pellet* ou cápsulas, como por exemplo em misturas com hidroxipropilmetilcelulose.

A nova característica do NanoEdge® reside no facto dos nanocristais de fármacos poderem ser produzidos em meios não aquosos, tais como óleos ou PEGs que se poderão utilizar directamente, no preenchimento das cápsulas. A dispersão de cristais em óleos promove a absorção do fármaco explorando o efeito dos lípidos na melhoria da absorção [69,70]. A produção de nanosuspensões de fármacos em PEG no estado líquido, à temperatura ambiente, abre mais perspectivas. O preenchimento directo das cápsulas com a nanosuspensão quente é possível e depois da solidificação do PEG, os nanocristais de fármacos contendo massa (Figura 8), podem constituir a base e serem preenchidos com pó nas cápsulas (Figura 9).



Figura 7. Aspecto dos nanocristais sólidos PEG após dispersão moagem de um pó branco fino;
Fonte: N. Bushrab, R.H Muller. (2003) [75].



Figura 8. Cápsulas directamente preenchidas com nanosuspensão de PEG quente (em cima),
preenchidas com nanosuspensão de PEG granulada e solidificada (em baixo)
Fonte: N. Bushrab, R.H Muller. (2003) [75].

Existem vários meios diferentes para transferir nanocristais de fármacos para uma forma farmacêutica final sólida, de dosagem oral para o paciente. Em relação a produtos parentéricos, as nanosuspensões de fármacos podem ser usadas no estado líquido. Em alternativa, os nanocristais podem ser liofilizados para serem, prioritariamente, reconstituídos para administração.

2.6. Vias de administração

As vias de administração tradicionais são a via oral e via parentérica. Os fármacos administrados oralmente são absorvidos através do intestino, entram na corrente sanguínea, difundem-se dos locais de absorção entérica para o sangue e para os tecidos; um fármaco administrado parentéricamente é injectado directamente na corrente sanguínea, sendo apenas possível quando o fármaco está na forma de solução ou de emulsão.

Através destas vias de administração de fármacos, o próprio fármaco está presente como uma molécula numa solução, como por exemplo, o sangue. Distribui-se pelo corpo em função das suas propriedades físico-químicas, por exemplo, do seu coeficiente de partilha. O facto de estar em solução molecular faz com que as moléculas sejam mais susceptíveis a factores de degradação, como por exemplo, água, enzimas, ao mesmo tempo que não podem ser direccionadas para o seu local de acção desejado.

Para ultrapassar estes problemas, optou-se por encapsular ou revestir num os fármacos num sistema transportador como, por exemplo, as nanopartículas sólidas poliméricas, [68-72) e os sistemas lipídicos, como as emulsões O/A e os lipossomas [73,74].

A incorporação do fármaco numa partícula transportadora pode protegê-lo contra a degradação *in vitro* e *in vivo*, sendo a libertação controlada e direccionada para o local de acção.

Apesar de ser uma ideia brilhante o conceito de nanopartículas poliméricas nunca chegou ao mercado farmacêutico. Algumas das razões para isto são questões de regulamentação e problemas de controlar a dimensão. Os polímeros usados (e.g. ácido poliláctico (PLA), e o seu co-polímero com ácido glicólico (PLGA). São aceites para administração parentérica, como implantes (e.g. zoladex R) e micropartículas (ex: Decapeptyl R, Parlodel LA R, Enantone Depot R), mas não numa forma nanoparticulada. Em oposição às micropartículas, as nanopartículas podem ser fagocitadas por células. Além disso, para a produção de nanopartículas poliméricas existe uma falta de métodos de produção em grande escala, em particular de baixo custo e ao mesmo tempo levando a um produto de qualidade aceitável pelas entidades reguladoras.

Capítulo 3. Conclusão

A nanotecnologia pode ser vista como a criação de materiais funcionais, dispositivos e sistemas através do controlo da matéria na escala nanométrica, aplicada em sistemas que apresentam novos fenómenos e novas propriedades, que são dependentes do tamanho.

Neste contexto a libertação controlada de fármacos enquadra-se e aplica-se perfeitamente a estes novos sistemas (facilitando absorção e difusão intermembranar). Intrinsecamente, são também dependentes da funcionalização química, que envolve todos os métodos de preparação e suas modificações. A grande motivação que levou ao estudo destas estruturas nanométricas aplicadas a sistemas nanotecnológicos foi as suas inúmeras vantagens, como o direccionamento a alvos específicos, libertação controlada do fármaco, menor toxicidade, menor número de doses (conveniência para o doente), diminuição dos picos plasmáticos, protecção e economia de fármaco.

Nos últimos anos, numerosos estudos demonstraram que a distribuição de um fármaco no organismo pode ser modificada pelo uso de sistemas nanométricos, tais como os lipossomas, e as nanopartículas ou micropartículas. Estes transportadores podem proteger a substância activa da degradação e/ou inactivação, melhoram a biodisponibilidade por aumento da penetração celular, e proporcionam a libertação do fármaco no local de acção desejado, eliminando ou minimizando os efeitos colaterais da terapêutica convencional.

O desenvolvimento de formas farmacêuticas de libertação controlada por micro e nanossistemas poderá permitir um melhor controlo da cinética de libertação do fármaco, dando origem a níveis plasmáticos terapêuticos, com menores efeitos tóxicos. Assim considera-se um passo importante no desenvolvimento de uma nova terapêutica, como por exemplo, para aplicação antimalárica, o que pode repercutir na melhoria da qualidade de vida de milhões de pacientes, além do impulso técnico, científico e financeiro, potencialmente adquiridos.

Espera-se que, de acordo com o tipo de fármaco a seleccionar, se possam obter nanocristais com ambas as metodologias empregues para a sua produção (Dissocubes® e NanoEdge®).

Devem ser seleccionados solventes de baixa toxicidade para evitar qualquer tipo de problemas regulamentares devido à eventual presença de resíduos de solventes no produto final obtido. Em regra, os métodos envolvem a utilização de água como solvente ou, em alternativa, solventes miscíveis em água, tais como, metanol, etanol e isopropanol.

Apesar de solventes como o etanol serem tolerados até uma certa extensão em formulações orais ou parentéricas líquidas, é desejável removê-los. O ideal é ter disponíveis formulações isentas de etanol por exemplo os extractos de plantas etanólicas estão a ser continuamente substituídos por extractos aquosos). A remoção do solvente é relativamente fácil à escala laboratorial por exemplo, através de um contador do fluxo da corrente), embora seja mais problemática produção de grandes quantidades. Para a produção de formulações orais secas, os solventes vão evaporar-se com a água, durante o processo de secagem dos comprimidos.

Capítulo 4. Bibliografia

- [1] Muller RH, Keck CM. (2004) Challenges and solutions for the delivery of biotech drugs a review of drug nanocrystal technology and lipid nanoparticles. *J Biotechnol*,113:151-170.
- [2] Müller RH, (1998) Böhm BHL: Nanosuspensions. In Emulsions and Nanosuspensions for the Formulation of Poorly Soluble Drugs. Edited by Müller RH, Benita S, Böhm BHL: *Medpharm Scientific Publishers Stuttgart*;: 149-174.
- [3] Muller RH, Jacobs C, Kayser O. (2001) Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy. Rationale for development and what we can expect for the future. *Adv Drug Deliv Rev* , 47:3-19
- [4] Moschwitz J, Muller RH. (2006) Spray coated pellets as carrier system for mucoadhesive drug nanocrystals. *Eur J Pharm Biopharm*, 62:282-287
- [5] Muller RH, Keck CM. (2004) Drug delivery to the brain--realization by novel drug carriers. *J Nanosci Nanotechnol*, 4:471-483
- [6] Muller RH, Runge S, Ravelli V, Mehnert W, Thunemann AF, Souto EB. (2006) Oral bioavailability of cyclosporine: solid lipid nanoparticles (SLN) versus drug nanocrystals. *Int J Pharm*, 317:82-89
- [7] Moschwitz J, Achleitner G, Pomper H, Muller RH. (2004) Development of an intravenously injectable chemically stable aqueous omeprazole formulation using nanosuspension technology. *Eur J Pharm Biopharm*, 58:615-619
- [8] Muller RH, Jacobs C. (2002) Buparvaquone mucoadhesive nanosuspension: preparation, optimisation and long-term stability. *Int J Pharm*, 237:151-161

- [9] Moschwitzer J, Muller RH (2006) New method for the effective production of ultrafine drug nanocrystals. *J Nanosci Nanotechnol* , 6:3145-3153
- [10] Nelson D., Priscyla D. Marcato e Zaine T. Nanotecnologia e Nanobiotecnologia. [Em linha]. Disponível em <http://www.cienciaviva.org.br/arquivo/cdebate/012nano/> [Consultado em 29/04/2009]
- [11] Sakata, S.; Uchida, K.; Kaetsu, I.; Kita, Y. (2007) Programming control of intelligent drug releases in response to single and binary environmental stimulationsignals using sensor and electroresponsive hydrogel. *Radiat. Phys. Chem.*, Amsterdam, v.76, p.733-737,
- [12] Moguimi, S.M.; Hunter, A.C.; Murray, J.C. (2005) Nanomedicine: current status and future prospects. *The FASEB J.*, v.19, p.311-330,
- [13] Lasic, D.D. (2005). Novel application of liposomes. *Trends Biotechnol.*, Amsterdam, v.16, p.307-321.
- [14] Silva, G.A.(2004) Introduction to nanotechnology and its applications to medicine. *Surgical Neurol.*, Amsterdam,v.61, p.216-220.
- [15] Barrat, G.M. (2000) Therapeutic applications of colloidal drugycarriers. *Pharma. Sci. Technol. Today*, Cambridge, v.5,p.163-171.
- [16] Kip, J. E. (2004) The role of solid nanoparticle technology in the parenteral delivery of poorly watersoluble drugs. *Int. J. Pharm.*, v.285, p. 109-122.
- [17] J. Zuidema, F. Pieters, G. Duchateau. (1988) Release and absorption rate aspects of intramuscularly injected pharmaceuticals, *Int. J. Pharm.* 47 1–12.
- [18] Folley, M.; Tilley, L. (1998) Quinoline antimalarials: Mechanisms of action and resistance and prospects for new agents. *Pharmacol. Ther.*, Amsterdam, v.79, p.55-87.

- [19] Krettli, A.U.; Andrade-neto, V.F.; Brandao,M.G.; Ferrari, W.M.S. (2001) The search for new antimalarial drugs from plants used to treat fever and malaria or plants randomly selected: a review. *Mem. Inst.Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v.96, p.1033-1042
- [20] Kremsner, P.G.; Krishna, S. (2004) Antimalarial combinations.*Lancet*, Amsterdam, v.364, p.285-294.
- [21] Winstanley, P.O. (2001) Modern chemotherapeutic options for malaria. *Lancet*, Amsterdam, v.1 p. 242-250.
- [22] Verma, R.K.; Garg, S. (2001)Current status of drug delivery technologies and future directions. *Pharmac. Technol.*,v.25, n.2, p.1-4.
- [23] Dunne, M.; Bibby, D.C.; Jones, J.C.; Cudmore, S. (2003) Encapsulation of protamine sulphate compacted DNA in polylactide and polylactide-co-glycolide microparticles. *J. Control. Release*, Amsterdam, v.92, p.209-219.
- [24] Tao, S.L.; Desai, T.A. (2003) Microfabricated drug delivery systems: from particles to pores. *Adv. Drug Del. Rev.*,Arlington, v.55, p.315-328.
- [25] Andrade, C.A.; Correia, S.M.T.S.; Coelho, L.C.B.B.; Nascimento, S.C.; SantosMagalhães, N.S. (2004) Antitumor activity of *Cratylia mollis* lectin encapsulated into liposomes. *Int. J. Pharm.*,Amsterdam, v.278, p.435-445.
- [26] Pontes, A.C.O.; Caetano, M.N.P.; SantosMagalhães, N.S. (1999) Physicochemical characterizationand antimicrobial activity of benzathine penicillin G liposomes. *S.T.P. Pharma Sci.*, Paris, v.9, p.419-427.

- [27] Diebold, Y.; Jarrin, M.; Saez, V.; Carvalho, E.L.S.; Orea, M.; Calonge, M.; Seijo, B.; Alonso, M.J. (2006) Ocular drug delivery by liposome chitosan nanoparticle complexes (LCS-NP). *Biomaterials*, Amsterdam, v.28, n.8, p.1553-1564.
- [28] Bayomi, M.A.; Al-Angary, A.A.; Al-Meshal, M.A.; Mohamed M.; Al-Dardiri, M.M. (1998) In vivo evaluation of arteether liposomes. *Int. J. Pharm.*, Amsterdam, v.175, p.1-7.
- [29] Brossi, A.; Vengu, B.; Domenguer, L.G.; Yeh, H.J.C.; Flippen-Anderson, J.L.; Buchs, P.; Luo, X.D.; Milhous, W.; Peters, W. (1988) Arteether, a new antimalarial drug: synthesis and antimalarial properties. *J. Med. Chem.*, Washington, v.31, p.645-650.
- [30] Mosqueira, V.C.F.; Loiseau, P.M.; Bories, C.; Legrand, P.; Devissauguet, J.; Barratt, G. Efficacy and pharmacokinetics of intravenous nanocapsule formulations of halofantrine in *Plasmodium berghei*-infected mice. *Antimicrob. Agents Chemother.*, Washington, v.48, p.1222-1228, 2004.
- [31] Mosqueira, V.C.F.; Legrand, P.; Barratt, G. Surface-modified and conventional nanocapsules as novel formulation for parenteral delivery of halofantrine. *J.Nanosci. Nanotechnol.*, Stevenson Ranch, v.9-10, p.3193-3202, 2006.
- [32] Leite, E.A.; Grabe-Guimarães, A.; Guimarães, H.N.; Machado-Coelho G.L.L.; Barratt G.; Mosqueira, V.C.F. Cardiotoxicity reduction induced by halofantrina entrapped in nanocapsule devices. *Life Sci.*, Amsterdam, v.80, p.1327-1334, 2007.
- [33] Bhadra, D.; Bhadra, S.; Jain, N.K. PEGylated peptide dendrimeric carriers for the delivery of antimalarial drug chloroquine phosphate. *Pharm. Res.*, Arlington, v.23, n.3, p.623-633, 2006.
- [34] Benita, S. & M.Y. Levy (1993) Pharmaceutical and antimicrobial differences between propofol emulsion products. *J. Pharm. Sci.* 82:1069-79

- [35] Robin, O., V. Blanchot, J.C. Vuilleumard & P. Paquin (1992) Microfluidization of dairy model emulsions. I: Preparation of emulsions and influence of processing and formulation on the size distribution of milk fat globules *Lait* 72: 511-531.
- [36] Mbela, T.K.M.N., A. Ludwig, I. Landau, E. Deharo & A. Haemers (1994) Preparation, characterization and in vivo activity of mefloquine submicron emulsions. *Int. J. Pharm.* 110: 189-96.
- [37] Benita, S. (1999) Prevention of topical and ocular oxidative stress by positively charged submicron emulsion. *Bioediciene & Pharmacotherapy* 53: 193-206.
- [38] Yilmaz, E. & H.-H. Borchert (2005) Characterization and Formation of Phospholipid Nanoemulsion Coatings on Mg-Modified Sericite Surface *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 60: 91-8.
- [39] Solans, C., P. Izquierdo, J. Nolla, N. Azemar & M.J. Garcia-Celma (2005) Nanoemulsions. *Curr. Opin. Colloid Interf. Sci.* 10: 102-10.
- [40] Bouchemal, K., S. Briançon, E. Perrier & H. Fessi (2004) Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: solvent, oil and surfactant optimisation *Internacional Journal of Pharmaceutics.* 280: 241-51
- [41] Sarduní, N., C. Solans, N. Azemar & M.J. García-Celma (2005) Studies on the formation of O/W nanoemulsions, by low-energy emulsification methods. *Eur. J. Pharm. Sci.* 26: 438-45
- [42] Izquierdo, P., J. Feng, J. Esquena, T.F. Tadros, J.C. Dederen, M.G. Garcia, N. Azemar & C. Solans (2005) The influence of surfactant mixing ratio on nanoemulsion formation by the PIT method. *J. Colloid Interf. Sci.* 285: 388-94.
- [43] Washington, C. & S.S. Davis (1988). Toxicity of solubilized colloidal amphotericin B formulations to human erythrocytes. *Int. J. Pharm.* 44: 169-76

- [44] Teixeira, H., C. Dubernet, V. Rosilio, A. Laigle, J.R. Deverre, D. Scherman, S. Benita & P. Couvreur (2001) Factors influencing the oligonucleotides release from O/W submicron cationic emulsions. *J. Contr. Rel.* 70: 243-55.
- [45] Imbert, P., V.M. Sadtler & E. Dellacherie (2002) *Coll. Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects* 211: 157-64.
- [46] Pinnamaneni, S., N.G. Das & S.K. Das (2003) Comparison of oil-in-water emulsions manufactured by microfluidization and homogenization. *Pharmazie* 58: 554-8.
- [47] Han, J., S.S. Davis, C. Papandreou, C.D. Melia & C. Washington (2004) Design and evaluation of an emulsion vehicle for paclitaxel. I. Physicochemical properties and plasma stability. *Pharm. Res.* 21: 1573-80.
- [48] Vladislavljevic, G.T., U. Lambrich, M. Nakajima & M. Schubert (2004) Production of O/W emulsions using SPG membranes, ceramic α -Al₂O₃ membranes, microfluidizer and a silicon microchannel plate – a comparative study. *Coll. Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects* 232: 199-207.
- [49] Jafari, S.M., Y. He & B. Bhandari (2007) Production of sub-micron emulsions by ultrasound and microfluidization techniques. *Eur. Food Res. Tech.* 225: 733-41.
- [50] Cook, E.J. & A.P. Lagace (1985) Apparatus for Forming Emulsions. US Patent 4533254.
- [51] Maa, Y-F. & C.C. Hsu (1999) Performance of sonication and microfluidization for liquid-liquid emulsification *Pharm. Dev. Tech.* 4: 233-40
- [52] Microfluidics. Disponível em: <<http://www.microfluidicscorp.com/>> [Acesso em 16/04/09].

- [53] Jumaa, M. & B.W. Müller (1998) The effect of oil components and homogenization conditions on the physicochemical properties and stability of parenteral fat emulsions *Int. J. Pharm.* 163: 81-9.
- [54] Jumaa, M., P. Kleinebudde & B.W. Müller (1998) Mixture experiments with the oil phase of parenteral emulsions. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 46: 161-7.
- [55] Nordén, T.P., B. Siekmann, S. Lundquist & M. Malmsten (2001) Physicochemical characterisation of a drug-containing phospholipid-stabilised o/w emulsion for intravenous administration. *Eur. J. Pharm. Sci.* 13: 393-401.
- [56] Sznitowska, M., S. Janicki, E.A. Dabrowska & M. Gajewska (2002) Physicochemical screening of antimicrobial agents as potential preservatives for submicron emulsions. *Eur. J. Pharm. Sci.* 15: 489-95.
- [57] Flourey, J., J. Legrand & A. Desrumaux (2004a) Analysis of a new type of high pressure homogenizer. A study of the flow pattern. *Chem. Eng. Sci.* 59: 843-53.
- [58] Flourey, J., J. Legrand & A. Desrumaux (2004b) Analysis of a new type of high pressure homogenizer. Part B. study of droplet breakup and recoalescence. *Chem. Eng. Sci.* 59: 1285-94.
- [59] Brösel, S. & H. Schubert (1999) Corrigendum to ‘Investigations on the role of surfactants in mechanical emulsification using a high-pressure homogenizer with an orifice valve. *Chem. Eng. Proc.* 38: 533-40.
- [60] Tadros, T., P. Izquierdo, J. Esquena & C. Solans (2004) Formation and stability of nanoemulsions. *Adv. Colloid Interf. Sci.* 108-109: 303-18.
- [61] Bock, T., P. Kleinebudde & B.W. Müller (1998) “*Manufacture of emulsions by means of high-pressure homogenization parameters, oils and surfactants*”, in “*Emulsions and*

Nanosuspensions for Formulation of Poorly Soluble Drugs” (R.H. Müller, S. Benita & B. Böhn, eds), Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart, pp. 201-36.

[62] Jahnke, D.I.S. (1998) “*The theory of high-pressure homogenization*”, in “Emulsions and Nanosuspensions for Formulation of Poorly Soluble Drugs” (R.H.Müller, S. Benita & B. Böhn, eds), Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart, pp. 177-200.

[63] R.H Muller. R. Becker. B Kruss. K Peters. (1999) Pharmaceutical nanosuspensions for medicament administration as systems with increased saturation solubility and rate of solution. United States Patent 5.858.410, Meadc Gesellschaft fur Klinische Spezialpreparate mbh.

[64] A.P Simonelli. S.C. Mehta, W.I. Higuchi. (1970) Inhibition of sulfathiazole crystal growth by polyvinylpyrrolidone. J Pharma Sci 59 633-638

[65] M.N.Mosharraf. (1995) The effect of particle size and shape on the surface specific dissolution rate of micronized practically insoluble drugs. Int J Pharm 122 161-164

[66] C.J. Porter. N. Charman, (2001) In vitro assessment of oral lipid based formulations, Adv. Drug Deliv. Rev. 50 S127- S147.

[67] R.H. Muller. C.M Keck. Challenges and Solutions for the Delivery of poorly soluble Drugs. J. Biotechnol. Sublimed for publication.

[68] Couvreur, P., Kante, B., Roland, M., Guiot, P., Baudin, P., Speiser, P., (1979). Polycyanoacrylate nanocapsules as potential lysosomotropic carriers: preparation, morphological and sorptive properties. J. Pharm. Pharmacol. 31 :331-332

[69] Speiser, P. Birrenbach, G., 1977. Polymerized micelles and their use as adjuvants in immunology. In Unite States patent 4, 021,364

[70] Marty, J.J., Oppenheim, R.C., Speiser P., (1978) Nanoparticles- a new colloidal drug delivery system. *Pharma. Acta Helv.* 53, 17-23

[71] Speiser, P., (1973). New drug formulations as the result of recent technological development efforts . *Acta Pharmaceutica Suecica* 10, 381-400

[72] Kreuter, J., (1978). Nanoparticles and nanocapsules - new dosage forms in the nanometer size range. *Pharm. Acta Helv.* 53, 33-39

[73] Bangham, A.D., (1993). Liposomes: the Babraham connection. *Chem. Phys. Lipids* 64, 275-285

[74] Bangham, A.D., Haydon, D.A., (1968). DA: Ultrastructure of membranes: Bimolecular organization. *Br. Med Bull.* 24, 124-126

[75] N. Bushrab, R.H Muller. (2003). Nanocrystals of poorly soluble drugs for oral administration, *NewDrugs* 5, 20-22

[76] Schaffazick S. R. *et al* (2003). Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. *Química Nova* 26, (5)