

Rui Manuel Caetano Ferreira

Novos sistemas farmacêuticos para administração pulmonar: estado da arte

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2014

Novos sistemas farmacêuticos para administração pulmonar: estado da arte

Rui Manuel Caetano Ferreira

Novos sistemas farmacêuticos para administração pulmonar: estado da arte

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2014

Novos sistemas farmacêuticos para administração pulmonar: estado da arte

Rui Manuel Caetano Ferreira

Novos sistemas farmacêuticos para administração pulmonar: estado da arte

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

(Rui Manuel Caetano Ferreira)

Sumário

A administração pulmonar de fármacos é uma via com elevado interesse e em crescente desenvolvimento em virtude das diversas vantagens associadas a esta via face a outras, nomeadamente a reduzida atividade enzimática, a prevenção do metabolismo hepático, a superfície específica elevada, o fino epitélio alveolar e a vasta rede vascular. Estas características permitem obter uma elevada permeabilidade e uma rápida absorção dos fármacos, sobretudo quando se pretende um efeito sistémico.

A via pulmonar pode ser usada quer para alcançar um efeito local no tratamento de doenças respiratórias, como a asma, a doença pulmonar obstrutiva crónica e a fibrose cística, quer um efeito sistémico para o tratamento de outras patologias não respiratórias, como a diabetes, a osteoporose e diversas neoplasias.

Atualmente, os novos sistemas farmacêuticos são muito investigados para veicular fármacos para os pulmões face aos sistemas farmacêuticos convencionais, uma vez que estes sistemas oferecem várias vantagens como uma distribuição uniforme e controlada dos fármacos, reduzindo a frequência de administração e os efeitos adversos e aumentando a adesão e o sucesso terapêutico.

O presente trabalho reporta o estado da arte dos principais novos sistemas farmacêuticos para administração pulmonar. Para uma melhor compreensão do mecanismo de ação dos sistemas farmacêuticos, inicialmente fez-se uma breve revisão do sistema respiratório. Os novos sistemas farmacêuticos abordados foram as micropartículas, as microemulsões, as micelas, os lipossomas, as nanopartículas e as ciclodextrinas, referindo-se as principais vantagens e desvantagens inerentes a cada sistema, bem como reportando trabalhos de vetorização e de libertação controlada de fármacos para os pulmões.

Abstract

The pulmonary administration of pharmaceuticals is a route of elevated interest and with an increased development in virtue of the many advantages associated with it. These advantages include the reduction of enzymatic activity, the prevention of hepatic metabolism, an increased specific surface area, the thin alveolar epithelium and the vast vascular network. These characteristics allow us to obtain an increased permeability and a rapid absorption, mainly when seeking a systemic effect.

The pulmonary route can be used to achieve a local effect in the treatment of respiratory diseases such as asthma, chronic obstructive pulmonary disease and cystic fibrosis. This route may also be used to achieve a systemic effect in the treatment of other non-respiratory conditions such as diabetes, osteoporosis and many neoplasms.

Currently, the new pharmaceutical systems are investigated to deliver medications to the lungs due to the conventional systems, given that these systems offer various advantages such as a controlled uniform distribution of medications, reducing the frequency of administration and side effects and increasing compliance and therapeutic success.

This work reports the state of the art of the main new pharmaceutical systems for pulmonary administration. For a better understanding of the mechanism of action of the pharmaceutical systems, a brief review of the respiratory system was conducted. The new pharmaceutical systems addressed were: the microparticles, the microemulsions, the micelles, the liposomes, the nanoparticles and the cyclodextrins. This was done in reference to the principal advantages and disadvantages inherent to each system, as well as reporting works of vectoring and the controlled release of medications to the lungs.

Índice

Sumário	v
Abstract	vi
Índice.....	vii
Índice de Figuras.....	viii
Índice de Tabelas	ix
Abreviaturas	x
I. Introdução	1
II. Sistema respiratório	3
2.1. Anatomia e fisiologia do sistema respiratório	3
2.2. Histologia do sistema respiratório	8
2.3. Mecanismos de defesa do sistema respiratório	10
2.4. Respiração	13
III. Administração pulmonar	16
3.1. Mecanismos de deposição de partículas nas vias aéreas.....	20
3.2. Vantagens e desvantagens da administração pulmonar	22
3.3. Principais aplicações da administração pulmonar	23
IV. Novos sistemas farmacêuticos para administração pulmonar	25
4.1. Micropartículas	26
4.1.1. Micropartículas poliméricas.....	26
4.1.2. Micropartículas lipídicas sólidas	28
4.2. Microemulsões.....	30
4.3. Micelas poliméricas	32
4.4. Lipossomas	34
4.5. Nanopartículas	38
4.5.1. Nanopartículas poliméricas	39
4.5.2. Nanopartículas lipídicas	40
4.6. Ciclodextrinas	44
4.7. Toxicidade pulmonar	47
V. Conclusão	50
VI. Referências bibliográficas	52

Índice de Figuras

Figura 1 – Nanotecnologia na administração pulmonar de fármacos.....	2
Figura 2 – Representação parcial da zona condutora e da zona respiratória do sistema respiratório.....	4
Figura 3 – Modelo das vias respiratórias	5
Figura 4 – Diferentes regiões do sistema respiratório humano	6
Figura 5 – Ramificação do bronquíolo terminal.....	7
Figura 6 – Tipos de epitélio do sistema respiratório.....	9
Figura 7 – Transporte mucociliar de partículas de aerossol depositadas	10
Figura 8 – Impacto das doenças pulmonares obstrutivas crónicas no processo de depuração mucociliar	11
Figura 9 – Macrófagos alveolares na zona respiratória	12
Figura 10 – Primeira fase da respiração.....	14
Figura 11 – Inalação por aerossol.....	16
Figura 12 – Diferentes tipos de dispositivos para inalação por aerossol	17
Figura 13 – Instilação endotraqueal.....	18
Figura 14 – Mecanismos de deposição de partículas nas vias aéreas	21
Figura 15 – Microsféricas e microcápsulas poliméricas.....	27
Figura 16 – Estrutura das microemulsões	30
Figura 17 – Estrutura micelar	33
Figura 18 – Estrutura base e diferentes tipos de lipossomas	35
Figura 19 – Nanoesferas e nanocápsulas poliméricas.....	39
Figura 20 – Matriz lipídica das SLN e dos NLC.....	40
Figura 21 – Estrutura funcional das ciclodextrinas	44
Figura 22 – Complexos fármaco-ciclodextrinas.....	46

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Defesas pulmonares	13
Tabela 2 – Principais fármacos administrados por inalação por aerossol.....	19
Tabela 3 – Principais fármacos administrados por instilação endotraqueal.....	19
Tabela 4 – Principais aplicações terapêuticas da administração pulmonar.....	23
Tabela 5 – Alguns estudos sobre a utilização de micropartículas, poliméricas e lipídicas, como sistemas de administração pulmonar	29
Tabela 6 – Diferenças entre as microemulsões, as macroemulsões e as nanoemulsões .	31
Tabela 7 – Alguns estudos sobre a utilização de microemulsões como sistemas de veiculação de fármacos para administração pulmonar	32
Tabela 8 – Alguns estudos sobre a utilização de micelas poliméricas como sistemas de veiculação de fármacos para administração pulmonar	34
Tabela 9 – Classificação dos lipossomas segundo o diâmetro e o número de camadas .	36
Tabela 10 – Alguns estudos sobre a utilização de lipossomas como sistemas de veiculação de fármacos para administração pulmonar	37
Tabela 11 – Alguns estudos sobre a utilização de nanopartículas como sistemas de administração pulmonar	43
Tabela 12 – Estrutura e propriedades das ciclodextrinas α , β e γ	45
Tabela 13 – Alguns estudos sobre a utilização de ciclodextrinas como sistemas de veiculação de fármacos para administração pulmonar	47

Abreviaturas

CGTase – Ciclodextrina-Glicosil-Transferase

DNA – Ácido Desoxirribonucléico, do inglês *Deoxyribonucleic Acid*

DPIs – Inaladores de Pó Seco, do inglês *Dry Powder Inhalers*

DPOC – Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

DPPC – Dipalmitoilfosfatidilcolina, do inglês *Dipalmitoylphosphatidylcholine*

FDA – *Food and Drug Administration*

GRAS – Substâncias Reconhecidas como Seguras, do inglês *Generally Regarded as Safe*

GUV – Vesículas Unilamelares Gigantes, do inglês *Giant Unilamellar Vesicles*

HPH – Homogeneização a Alta Pressão, do inglês *High Pressure Homogenization*

IgA – Imunoglobulina A

IM – Intramuscular

IV – Intravenosa

LUV – Vesículas Unilamelares, do inglês *Large Unilamellar Vesicles*

MDIs – Inaladores de Dose Calibrada, do inglês *Metered Dose Inhalers*

MLV – Vesículas Multilamelares, do inglês *Multilamellar Vesicles*

MUV – Vesículas Unilamelares Médias, do inglês *Medium-Sized Unilamellar Vesicles*

NLC – Vetores Lipídicos Nanoestruturados, do inglês *Nanostructured Lipid Carriers*

OLV – Vesículas Oligolamelares, do inglês *Oligolamellar Vesicles*

O/W – Óleo em Água, do inglês *Oil in Water*

O/W/O – Óleo em Água em Óleo, do inglês *Oil in Water in Oil*

PAM – Poliacrilamida, do inglês *Polyacrylamide*

PCL – Policaprolactona, do inglês *Poly(ϵ -caprolactone)*

PEG – Polietilenoglicol, do inglês *Polyethylene glycol*

PGA – Ácido Poliglicólico, do inglês *Poly(glycolic acid)*

PLA – Ácido Polilático, do inglês *Poly(lactic acid)*

PLGA – Poli(Lactato-co-Glicolato), do inglês *Poly(lactide-co-glycolide)*

PMMA – Poli(Metacrilato de Metilo), do inglês *Poly(methylmethacrylate)*

PVA – Álcool Polivinílico, do inglês *Poly(vinyl alcohol)*

SC – Subcutânea

SLN – Nanopartículas Lipídicas Sólidas, do inglês *Solid Lipid Nanoparticles*

SUV – Vesículas Unilamelares Pequenas, do inglês *Small Unilamellar Vesicles*

TNF- α – Fator de Necrose Tumoral Alfa, do inglês *Tumor Necrosis Factor Alpha*

W/O – Água em Óleo, do inglês *Water in Oil*

W/O/W – Água em Óleo em Água, do inglês *Water in Oil in Water*

I. Introdução

A via oral é considerada a via de eleição para a administração de fármacos, especialmente pela acessibilidade, facilidade de administração e por ser a mais fisiológica para a entrada de substâncias no organismo. Contudo, esta via possui algumas desvantagens, nomeadamente a absorção variável e a biodisponibilidade reduzida de alguns fármacos, devido, por exemplo, ao efeito de primeira passagem hepática, que conduz a concentrações plasmáticas variáveis dos fármacos, aumentando as probabilidades de ocorrerem efeitos adversos e o fracasso terapêutico. Com base nestas considerações, foi necessário pesquisar e utilizar vias de administração alternativas e mais benéficas, como é o caso das vias transdérmica, parentérica e pulmonar (Kwatra *et al.*, 2012).

Nos últimos anos, a via pulmonar tem apresentado grande interesse na comunidade científica e para aplicações biomédicas, sendo hoje uma das abordagens mais amplamente estudadas (Chhayani *et al.*, 2013). Tal facto deve-se às características únicas da via pulmonar, nomeadamente (Videira, 2008): a elevada superfície específica de absorção dos pulmões, tanto ao nível do epitélio como do espaço intersticial; a membrana particularmente fina, o que permite a passagem de moléculas, partículas coloidais e macromoléculas, mantendo estas as suas propriedades estruturais e antigénicas; a excelente irrigação sanguínea, o que possibilita obter um efeito terapêutico a nível sistémico; a baixa atividade enzimática, comparativamente com o sistema digestivo, o que permite a administração pulmonar de biomoléculas ou moléculas sensíveis como péptidos, proteínas ou o ácido desoxirribonucléico (DNA – *Deoxyribonucleic Acid*); a ausência do metabolismo de primeira passagem hepática. Adicionalmente, a via pulmonar permite direcionar os fármacos diretamente para os pulmões, podendo obter tanto um efeito local como sistémico, em concentrações terapêuticas e de forma não invasiva, reduzindo as concentrações totais dos fármacos administrados e os efeitos sistémicos secundários.

A estrutura das vias aéreas permite que o ar entre em contacto direto com a corrente sanguínea devido à vasta rede capilar dos alvéolos. Atendendo a este aspeto particular, a administração pulmonar de fármacos tem sido amplamente utilizada com sucesso para o tratamento de doenças respiratórias como a asma e a doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC) (Kwatra *et al.*, 2012; Shaikh *et al.*, 2010).

A eficácia de um fármaco pode ser potenciada com o controlo da farmacocinética, farmacodinâmica, imunogenicidade e direcionamento do mesmo. A abordagem a estes níveis encontra-se patente em diferentes sistemas farmacêuticos de administração pulmonar já existentes e outros atualmente em desenvolvimento, com o intuito de minimizar a perda do fármaco e aumentar a sua biodisponibilidade (Patil e Sarasija, 2012).

Nos últimos anos, vários grupos de investigação têm explorado intensamente o potencial da Nanotecnologia para o desenvolvimento de novos sistemas terapêuticos para administração de fármacos direcionados para a zona pulmonar (Figura 1).

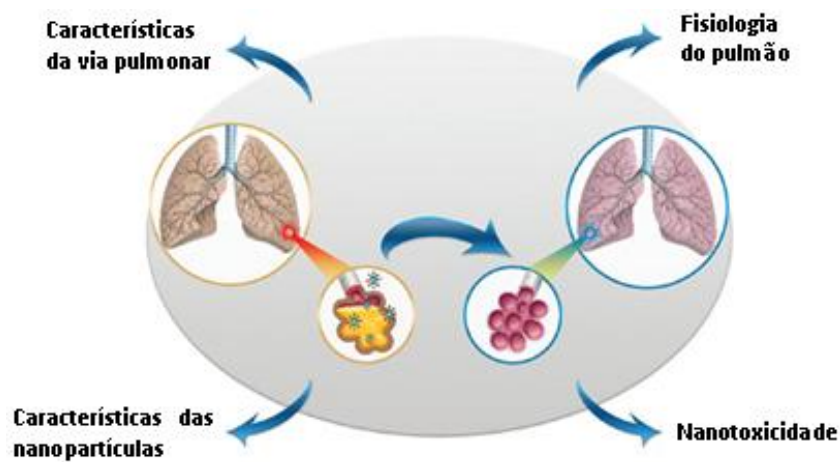


Figura 1 – Nanotecnologia na administração pulmonar de fármacos (adaptada de Silva *et al.*, 2013).

O presente trabalho pretende, através de uma revisão bibliográfica de artigos recentes, retratar o estado da arte dos novos sistemas farmacêuticos para administração pulmonar.

Neste trabalho, os sistemas farmacêuticos abordados englobam a veiculação de fármacos em micropartículas, microemulsões, micelas, lipossomas, nanopartículas e ciclodextrinas, os quais têm como principal finalidade aumentar a biodisponibilidade dos fármacos no alvo terapêutico.

II. Sistema respiratório

O sistema respiratório é constituído pelos pulmões e pelas vias respiratórias que permitem a comunicação com o meio exterior.

O sistema respiratório apresenta várias funções, nomeadamente: a troca de gases, que consiste no fornecimento de oxigénio aos tecidos e na remoção do dióxido de carbono que constitui o principal composto resultante do metabolismo dos tecidos, auxiliar na regulação do pH sanguíneo e, através da cavidade nasal, filtrar, aquecer e humedecer o ar inspirado (Levitzky, 2012; Tortora e Grabowski, 2003).

Desta forma, o sistema respiratório é um dos mediadores da respiração, que é um processo complexo e que inclui várias funções como a ventilação, a troca de gases, o transporte de gases e a utilização do oxigénio pelas células. A ventilação e a troca de gases entre o ar e o sangue constituem a respiração externa. A troca de gases entre o sangue e os tecidos e a utilização do oxigénio pelas células correspondem à respiração interna (Prendergast e Ruoss, 2007).

Em condições normais, um humano adulto, em repouso, respira entre 15 a 16 vezes por minuto e ventila 6 L de ar por minuto. Durante a prática de exercício, a ventilação pode aumentar até 20 vezes (Prendergast e Ruoss, 2007).

2.1. Anatomia e fisiologia do sistema respiratório

O sistema respiratório inicia-se no nariz e inclui as fossas nasais, os seios perinasais, a nasofaringe, a laringe, a traqueia e a árvore brônquica. Da árvore brônquica fazem parte as seguintes estruturas: os brônquios, os bronquíolos, os bronquíolos terminais, os bronquíolos respiratórios, os ductos alveolares e os alvéolos (Junqueira e Carneiro, 2004).

Em termos estruturais, o sistema respiratório divide-se em via respiratória superior (nariz, faringe e estruturas associadas) e em via respiratória inferior (laringe, traqueia, árvore bronquial, alvéolos e pulmões) (Des Jardins, 2008; Karhale *et al.*, 2012).

Em termos funcionais, o sistema respiratório divide-se em duas zonas: a zona condutora, que proporciona o movimento do ar entre o exterior e as áreas onde ocorrem as trocas gasosas; e a zona respiratória, que facilita as trocas gasosas com os capilares sanguíneos (Figura 2). A zona condutora compreende as fossas nasais, a nasofaringe, a laringe, a traqueia, os brônquios, os bronquíolos e os bronquíolos terminais. Os bronquíolos respiratórios, os ductos alveolares e os sacos alveolares constituem a zona respiratória (Tortota e Derrickson, 2012).

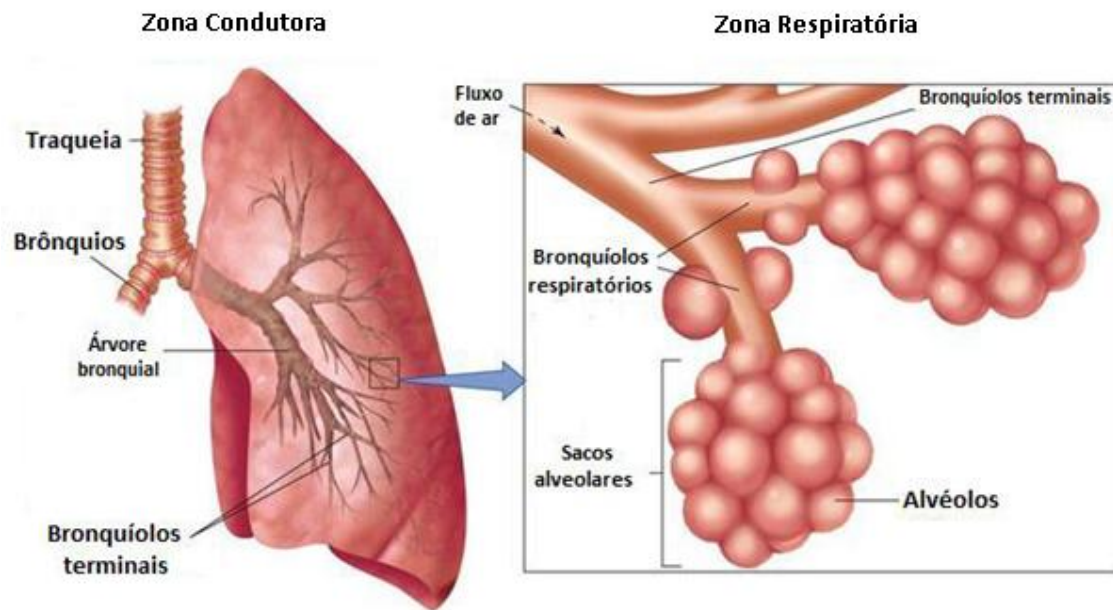


Figura 2 – Representação parcial da zona condutora e da zona respiratória do sistema respiratório (adaptada de Borges, 2012).

A partir da traqueia, o ar pode passar por várias ramificações até alcançar os alvéolos. A árvore traqueobrônquica apresenta uma série simétrica de 23 bifurcações e, portanto, 23 gerações das vias aéreas (Figura 3). Cada ramificação da árvore traqueobrônquica conduz a uma nova geração da via aérea, por exemplo, a traqueia (geração 0) bifurca-se nos dois brônquios principais (geração 1) que, por sua vez, dão origem aos brônquios lobares (geração 2), e assim sucessivamente. A região alveolar compreende as gerações 17 à 23 (Levitzky, 2012; Weber *et al.*, 2013).

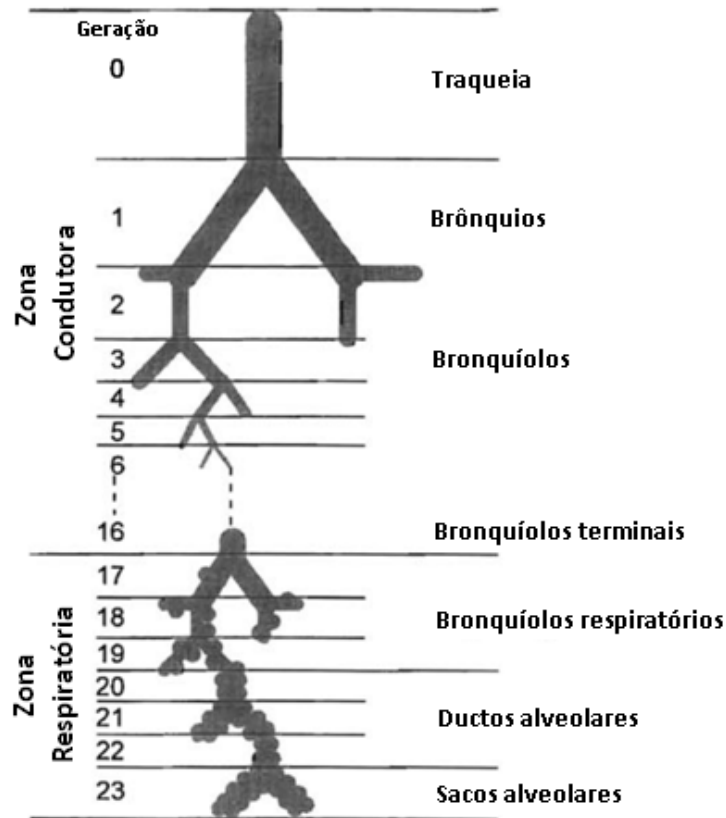


Figura 3 – Modelo das vias respiratórias (adaptada de Wang *et al.*, 2014).

Na zona condutora não ocorrem trocas de gases, uma vez que não existem alvéolos e as paredes são muito espessas para a ocorrência de difusão. Num humano saudável, a zona condutora possui um volume total de 150 mL e é, muitas vezes, referida como um espaço anatómico morto (Wang *et al.*, 2014). Para além de possibilitar a entrada e a saída de ar, a zona condutora também tem como função purificar, humedecer e aquecer o ar inspirado. De forma a assegurar a passagem contínua de ar, a parede da zona condutora é constituída por uma combinação de cartilagem, tecido conjuntivo e tecido muscular liso que lhe confere suporte estrutural, flexibilidade e extensibilidade (Des Jardins, 2008; Junqueira e Carneiro, 2004).

A zona respiratória tem um comprimento de apenas alguns milímetros mas representa a maior parte do pulmão com um volume total de 2,5-3 L (Wang *et al.*, 2014).

As fossas nasais dividem-se em três regiões: vestíbulo, área respiratória e área olfativa. O vestíbulo é a zona mais anterior das fossas nasais e possui pequenos pêlos e glândulas, sebáceas e sudoríparas, cujas secreções constituem uma barreira contra os agentes externos. A área respiratória compreende a maior parte das fossas nasais e

contém glândulas mistas, serosas e mucosas, que produzem um muco protetor. A área olfativa possui quimiorreceptores, sendo responsável pela sensibilidade olfativa. Os seios perinasais são cavidades, preenchidas com ar, existentes nos ossos frontal, maxilar, etmóide e esfenóide. Estas estruturas produzem um muco que é drenado para as fossas nasais através das células epiteliais ciliadas. A nasofaringe é a porção superior da faringe que se encontra incompletamente separada da orofaringe através do palato mole. A laringe situa-se entre a faringe e a traqueia, sendo rica em fibras elásticas e engloba a epiglote e as cordas vocais. A traqueia ramifica-se em dois brônquios extrapulmonares (primários) e possui glândulas seromucosas (Des Jardins, 2008; Junqueira e Carneiro, 2004).

O sistema respiratório de um humano é composto por dois pulmões, de estrutura esponjosa, revestidos pela pleura visceral e protegidos pela caixa torácica e o diafragma. Cada pulmão encontra-se dividido em lobos, sendo que o pulmão direito possui três lobos, superior, médio e inferior e o pulmão esquerdo divide-se apenas em dois lobos, superior e inferior (Figura 4) (Prendergast e Ruoss, 2007).

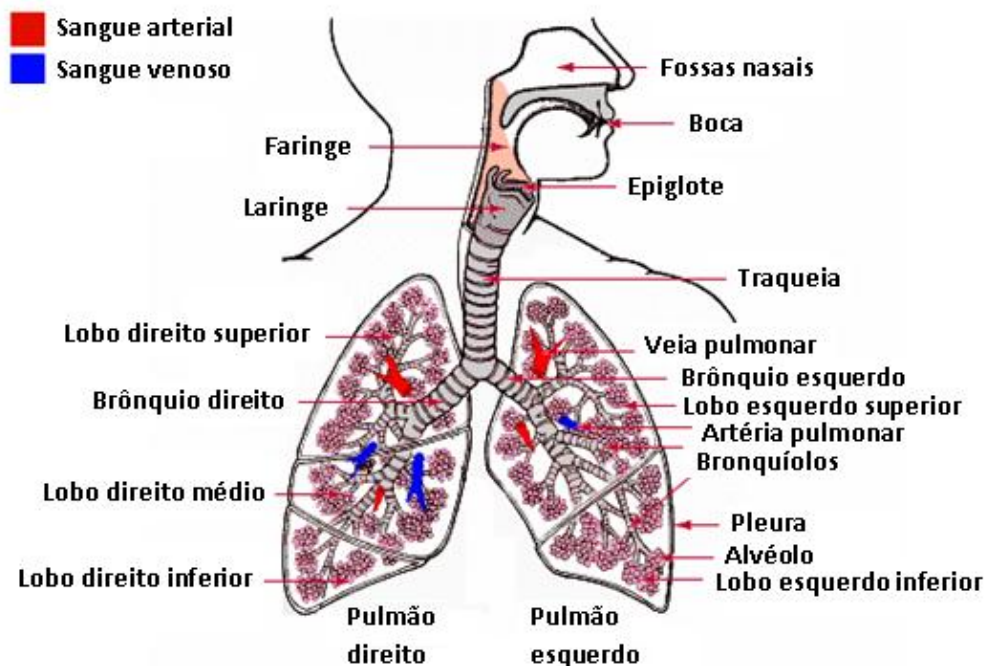


Figura 4 – Diferentes regiões do sistema respiratório humano (adaptada de Karhale *et al.*, 2012).

Os brônquios penetram no pulmão através do hilo, local por onde passam também artérias, veias, vasos linfáticos e nervos. Os brônquios mantêm-se abertos devido aos

anéis cartilagosos que possuem nas paredes. Os bronquíolos são segmentos intralobulares com diâmetros iguais ou inferiores a 1 mm. São desprovidos de cartilagem, glândulas e nódulos linfáticos, mas ricos em fibras elásticas e músculo liso. A mucosa da zona condutora é ainda rica em linfócitos, plasmócitos e macrófagos, que protegem o organismo contra as impurezas do ar (Junqueira e Carneiro, 2004).

Os bronquíolos terminais ramificam-se em bronquíolos respiratórios, que ocasionalmente possuem alvéolos nas suas paredes, e os bronquíolos respiratórios ramificam-se continuamente em ductos e sacos alveolares que são completamente cobertos por alvéolos (Figura 5) (Wang *et al.*, 2014).

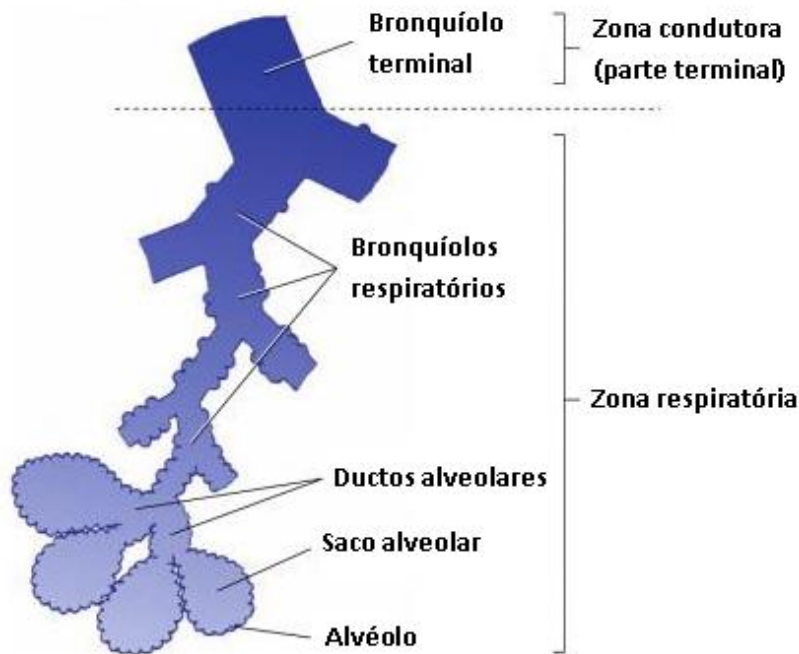


Figura 5 – Ramificação do bronquíolo terminal (adaptada de Des Jardins, 2008).

Os alvéolos, unidades funcionais do sistema respiratório, são estruturas de paredes muito finas que facilitam a troca do dióxido de carbono do sangue pelo oxigênio do ar inspirado. Estima-se que existem aproximadamente 350 milhões de alvéolos por pulmão com uma superfície de difusão entre 60-80 m² (Junqueira e Carneiro, 2004; Weber *et al.*, 2013).

O fornecimento de sangue para os pulmões é assegurado pela circulação pulmonar e pela circulação sistêmica. Todo o débito cardíaco flui através da circulação pulmonar (Marianecci *et al.*, 2011).

A circulação sanguínea do pulmão inclui artérias e veias pulmonares. As artérias pulmonares ramificam-se numa rede capilar e transportam sangue venoso do coração para ser oxigenado nos pulmões. As veias pulmonares transportam sangue arterial dos pulmões para o coração (Levitzky, 2012).

Os alvéolos estão completamente envoltos por uma vasta rede capilar que proporciona um excelente ambiente para as trocas gasosas (Wang *et al.*, 2014). O pulmão apresenta a rede capilar mais desenvolvida do organismo (Junqueira e Carneiro, 2004).

Os pulmões também possuem vasos linfáticos. Estes encontram-se superficialmente em torno dos pulmões, abaixo da pleura visceral, e internamente distribuem-se acompanhando os vasos sanguíneos pulmonares e os brônquios. Todos os vasos linfáticos do pulmão terminam em linfonodos. Nos alvéolos não existem vasos linfáticos (Des Jardins, 2008).

Os pulmões são ricamente inervados por fibras dos sistemas parassimpático (vagal) e simpático (Prendergast e Ruoss, 2007).

2.2. Histologia do sistema respiratório

O pulmão é composto por mais de 40 tipos de células diferentes e o epitélio pulmonar varia ao longo das diferentes regiões (Figura 6) (Karhale *et al.*, 2012).

O aparelho respiratório é revestido na sua maioria por um epitélio especializado, o epitélio respiratório. Este epitélio é ciliado pseudoestratificado colunar, constituído por células colunares ciliadas, células caliciformes, células com bordadura em escova (microvilosidades), células basais e células granulares (Des Jardins, 2008; Junqueira e Carneiro, 2004).

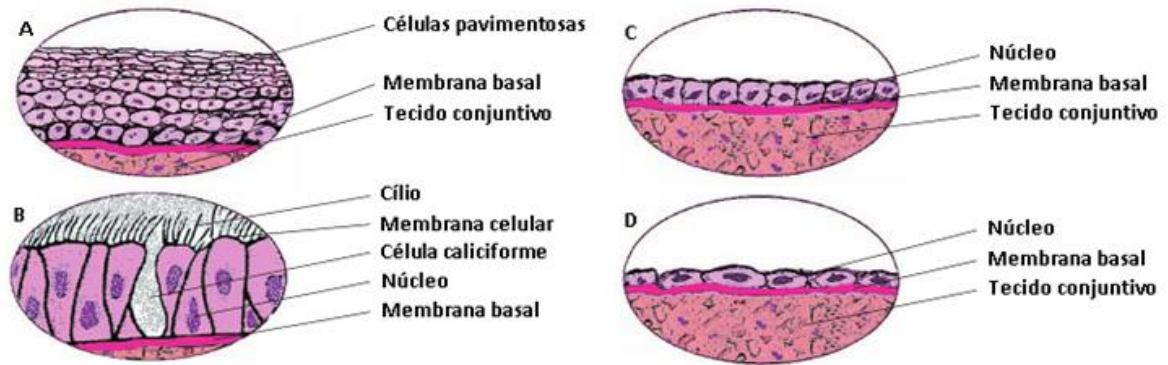


Figura 6 – Tipos de epitélio do sistema respiratório (adaptada de Des Jardins, 2008). Legenda: A – epitélio estratificado pavimentoso, B – epitélio pseudoestratificado colunar ciliado, C – epitélio cúbico simples, D – epitélio simples plano.

Desde as vias aéreas até aos alvéolos dos pulmões, o epitélio respiratório torna-se gradualmente mais delgado, com um epitélio brônquico de 3-5 mm e um epitélio bronquiolar de 0,5-1 mm de espessura. Na região traqueobronquial, o epitélio é ainda protegido por uma camada de muco (Silva, 2011).

O epitélio dos alvéolos é constituído por diferentes tipos de células: células endoteliais (capilares), macrófagos, pneumócitos tipo I e pneumócitos tipo II. As células endoteliais são numerosas e os macrófagos são o principal mecanismo de defesa dos alvéolos através da fagocitose. Os pneumócitos tipo I formam uma barreira que permite a difusão de gases e impede a passagem de líquidos e os pneumócitos tipo II segregam surfactante (Junqueira e Carneiro, 2004; Wang *et al.*, 2014).

O surfactante é uma mistura de aproximadamente 10% de lípidos, 10% de proteínas e 80% de fosfolípidos, predominantemente dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC – *dipalmitoylphosphatidylcholine*) e fosfatidilglicerol, que recobre a superfície epitelial alveolar. A principal função do surfactante é reduzir a tensão superficial dos alvéolos, diminuindo a força necessária para a inspiração e facilitando a expiração. O surfactante permite a expansão alveolar e como tal, sem ele os alvéolos tenderiam a colapsar durante a expiração (Prendergast e Ruoss, 2007; Wang *et al.*, 2014).

2.3. Mecanismos de defesa do sistema respiratório

Na zona condutora do sistema respiratório, os principais mecanismos de defesa são o transporte mucociliar e a tosse.

O transporte mucociliar é importante para a remoção de secreções e corpos estranhos, potencialmente nocivos, depositados nas vias aéreas (Figura 7). Neste tipo de defesa, as células ciliadas do epitélio transportam o muco, juntamente com as impurezas depositadas, em direção às vias aéreas superiores, onde posteriormente podem ser expetorados ou deglutidos e digeridos (Trindade *et al.*, 2007).

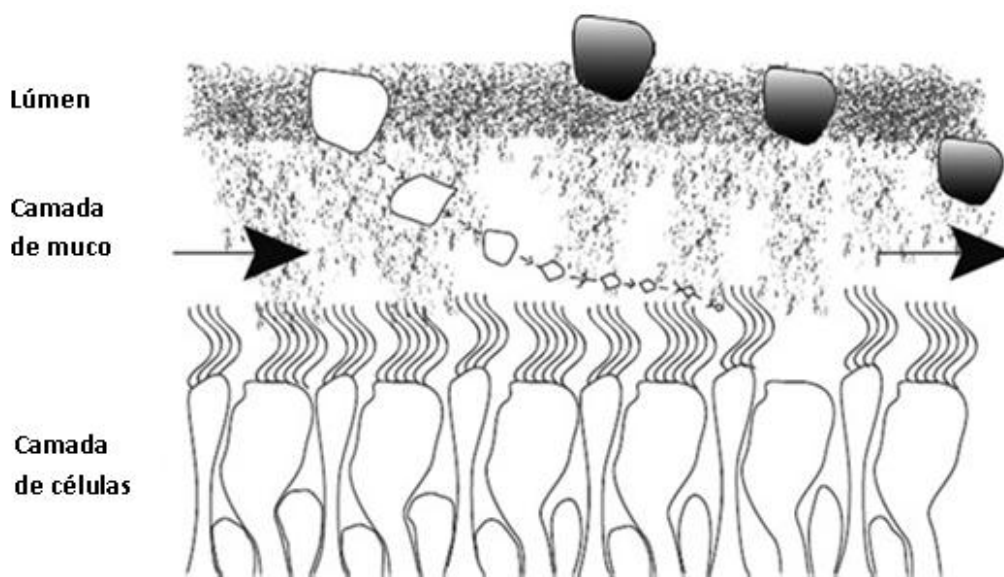


Figura 7 – Transporte mucociliar de partículas de aerossol depositadas (adaptada de Olsson *et al.*, 2011).

O muco é secretado pelas glândulas mucosas nas paredes brônquicas e pelas células caliciformes do epitélio (Martonen *et al.*, 2013). Um humano saudável produz aproximadamente 10-20 mL de muco por dia, no entanto, num doente com bronquite crónica ou fibrose cística esta produção pode ser até 10 vezes superior (Figura 8). A taxa de transporte mucociliar tende a diminuir com a idade (Wang *et al.*, 2014).

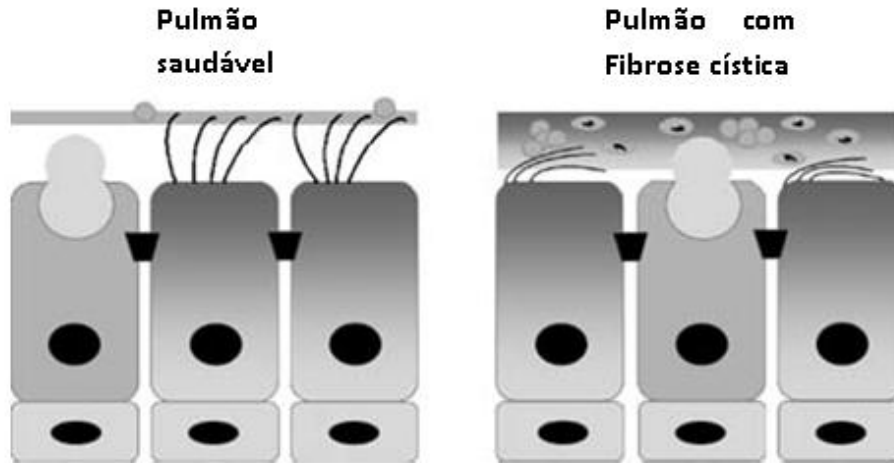


Figura 8 – Impacto das doenças pulmonares obstrutivas crônicas no processo de depuração mucociliar (adaptada de Burch e Picher, 2006).

Após deposição na zona condutora do sistema respiratório, a maioria das partículas estranhas insolúveis com um diâmetro superior a $6\ \mu\text{m}$ são eliminadas pelo transporte mucociliar. As partículas mais pequenas tendem a penetrar no muco e a entrar no epitélio, podendo escapar ao transporte mucociliar (Kreyling *et al.*, 2006).

Segundo Olsson *et al.* (2011), os agonistas β -adrenérgicos, como o formoterol, demonstram ser poderosos estimulantes ciliares, aumentando a taxa de depuração mucociliar em doentes com bronquite crônica.

Quando o transporte mucociliar está diminuído, a tosse assume um papel importante na remoção de secreções das vias respiratórias (Olsson *et al.*, 2011).

Na zona respiratória, o principal mecanismo de defesa é a fagocitose efetuada pelos macrófagos alveolares (Figura 9). A fagocitose ocorre principalmente na região alveolar, quando partículas estranhas insolúveis ou de dissolução lenta alcançam esta zona (Wang *et al.*, 2014).

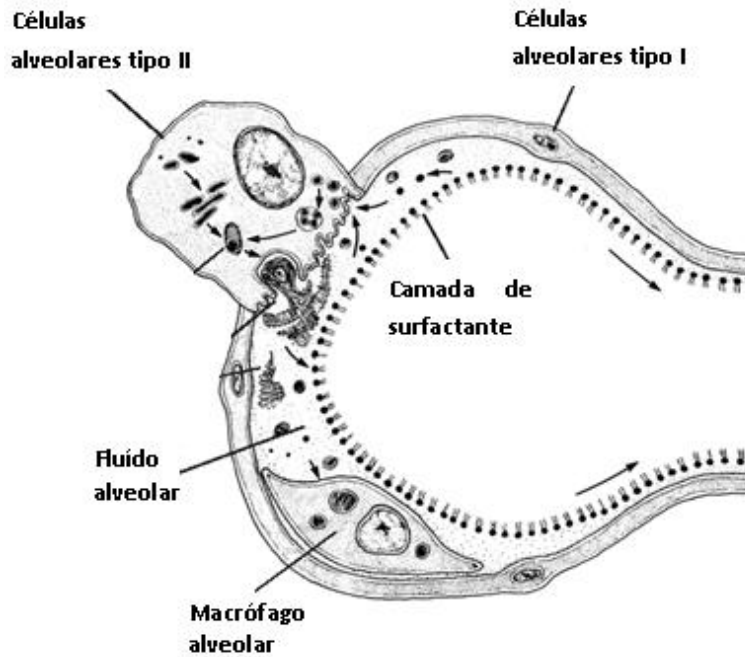


Figura 9 – Macrófagos alveolares na zona respiratória (adaptada de http://www.mwap.co.uk/path_resp_tract_gas_exchange.html).

A fagocitose depende do tamanho, da forma e das características químicas que as partículas possuem. As partículas com tamanho compreendido entre 1,5-3,0 μm , estranhas ou não, são as mais propensas a sofrerem fagocitose (Oberdörster, 1988). Neste sentido, têm sido estudadas e desenvolvidas diferentes estratégias para aumentar o tempo de retenção pulmonar de fármacos inaláveis, bem como sistemas farmacêuticos com tamanhos nanométricos com capacidade de escaparem à fagocitose (Olsson *et al.*, 2011).

O conteúdo fagocitado pode ser removido por ação enzimática, pelo transporte mucociliar ou pelo sistema linfático. Desta forma, tal como acontece no transporte mucociliar, também a eficácia da fagocitose pode ser condicionada pela existência de doenças respiratórias (Wang *et al.*, 2014).

Segundo Prendergast e Ruoss (2007), a proteção dos pulmões contra agressões externas envolve um conjunto de respostas, específicas e não específicas, capazes de providenciar uma defesa oportuna e bem sucedida, como apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 – Defesas pulmonares (Prendergast e Ruoss, 2007).

Defesas inespecíficas	Mecanismos de drenagem	Tosse
		Transporte mucociliar
	Secreções	Traqueobrônquica (muco)
		Alveolar (surfactante)
		Componentes celulares
	Defesas celulares	Não fagocitárias (epitélio das vias respiratórias)
		Fagocitárias (monócitos e macrófagos alveolares)
	Defesas bioquímicas	Inibidores da proteinase
Antioxidantes		
Defesas imunológicas específicas	Mediada por anticorpos	Imunoglobulina secretora (IgA)
		Imunoglobulinas séricas
	Apresentação de antígenos aos linfócitos	Macrófagos e monócitos
		Células dendríticas
		Células epiteliais
	Respostas imunocelulares	Mediada por citocina
		Citotoxicidade direta
	Respostas imunocelulares não linfocitárias	Dependente do mastócito
		Dependente do eosinófilo

2.4. Respiração

A pressão do ar dentro dos alvéolos designa-se por pressão alveolar/intrapulmonar e a pressão do fluido intrapleural designa-se por pressão intrapleural/intratorácica. A diferença entre estas duas pressões constitui a pressão transpulmonar. Ao longo do ciclo respiratório, os valores das pressões alveolar, intrapleural e transpulmonar alteram-se, afetando os pulmões ao nível de volume, pressão e fluxo de ar.

No estado de repouso, a pressão alveolar é igual a zero, ou seja, é igual à pressão atmosférica, e a pressão intrapleural é aproximadamente -4 mmHg. O ar entra nos

pulmões quando a pressão atmosférica é maior que a pressão alveolar e tende a sair quando a pressão alveolar é maior que a pressão atmosférica (Gracias e Freese, 2014; Levitzky, 2012; Tortota e Derrickson, 2012).

A primeira fase da respiração é a ventilação que corresponde à troca de ar entre a atmosfera e os alvéolos. A inspiração consiste no movimento do ar do exterior para os alvéolos. Inicia-se com a contração do diafragma, para baixo, e da musculatura intercostal inspiratória, para cima, levando à expansão do tórax. A expiração consiste no movimento do ar dos alvéolos para o exterior. Inicia-se com o relaxamento do diafragma e da musculatura intercostal inspiratória, levando o tórax e os pulmões a retomarem as suas posições iniciais (Figura 10) (Gracias e Freese, 2014; Levitzky, 2012).



Figura 10 – Primeira fase da respiração (adaptada de <http://www.ncsdo brasil.com/beneficios-do-exercicio-respiratorio2.html>).

A expansão dos pulmões é diretamente proporcional à pressão transpulmonar e depende da complacência dos mesmos. Por sua vez, a complacência dos pulmões, isto é, a sua distensibilidade, depende da elasticidade do tecido conjuntivo pulmonar e da tensão superficial alveolar, a qual é garantida através da secreção de surfactante pelos pneumócitos tipo II (Prendergast e Ruoss, 2007).

A fase seguinte da respiração é a difusão de gases através da membrana respiratória entre as paredes alveolar e capilar. A difusão é um processo físico que depende das pressões parciais dos gases envolvidos: o oxigênio e o dióxido de carbono. O sangue chega aos capilares pulmonares com uma pressão de dióxido de carbono elevada e uma

pressão de oxigénio baixa. A diferença de pressões parciais entre os capilares e os alvéolos potencia a difusão do dióxido de carbono, do sangue para os alvéolos, e do oxigénio, dos alvéolos para o sangue, até se atingirem pressões parciais equivalentes (Gracias e Freese, 2014; Tortota e Derrickson, 2012).

III. Administração pulmonar

O pulmão tem servido como via de administração de fármacos há já vários anos para o tratamento de diversas doenças respiratórias como a asma e a DPOC. No entanto, devido às potencialidades da via pulmonar e ao desenvolvimento científico, atualmente esta via também é utilizada para o tratamento de outras patologias, maioritariamente não respiratórias, como a hipertensão pulmonar, determinadas doenças infecciosas, a diabetes, a angina de peito, o cancro (Karhale *et al.*, 2012; Shaikh *et al.*, 2010).

A administração pulmonar de fármacos pode ser efetuada por duas técnicas: a inalação por aerossol ou a instilação endotraqueal. A administração pulmonar por aerossol (Figura 11) é dispendiosa e não permite a administração de uma dose exata do fármaco, contudo, a distribuição do fármaco é uniforme e a absorção é elevada. A administração pulmonar por instilação endotraqueal é simples e pouco dispendiosa mas a distribuição de fármaco não é uniforme (Kwatra *et al.*, 2012; Patil e Sarasija, 2012).



Figura 11 – Inalação por aerossol (adaptada de A.D.A.M., 2014).

Segundo a Farmacopeia Portuguesa 9.8 (2014), um aerossol é definido como “uma dispersão de partículas sólidas ou líquidas num gás”. A pressão necessária para expelir a preparação é produzida por gases propelentes adequados.

Os aerossóis incluem os inaladores de dose calibrada (MDIs – *Metered Dose Inhalers*), os inaladores de pó seco (DPIs – *Dry Powder Inhalers*) e os nebulizadores (Figura 12) (Shaikh *et al.*, 2010).



Figura 12 – Diferentes tipos de dispositivos para inalação por aerossol (adaptada de <http://www.perforomist.com/dtc/dtc-nebulizer-myths-and-facts.aspx>).

Os MDIs, dispositivos mais utilizados, possuem um propulsor, responsável por desenvolver a pressão adequada para expulsar o fármaco sob a forma de uma fina névoa no momento da administração, e um surfactante que mantém as partículas de fármaco dispersas na suspensão ou solução. Os doentes têm que coordenar a exalação e a inalação com o funcionamento do dispositivo.

Os DPIs libertam o fármaco diretamente para os pulmões, sob a forma de pó seco, em administrações de dose única ou doses múltiplas. Nestes dispositivos, 20-25% do fármaco fica retido no interior do dispositivo e aproximadamente 12-40% do fármaco alcança os pulmões.

Os nebulizadores podem ser de jato ou ultra-sónicos e são dispendiosos a nível económico (Shaikh *et al.*, 2010). Geralmente, estes dispositivos requerem doses mais elevadas de fármaco pois só uma pequena percentagem alcança os pulmões, dado que grande parte do fármaco fica retida no nebulizador ou perde-se para o ambiente. Um nebulizador pode transportar mais fármacos para os pulmões que os MDIs e os DPIs, contudo, nem todos os fármacos são passíveis de serem nebulizados dadas as suas características físico-químicas (e.g. viscosidade, osmolaridade, tensão superficial) (Kwatra *et al.*, 2012). Os nebulizadores são sobretudo adequados para doentes hospitalizados, requerendo assistência por parte dos profissionais de saúde, e os tratamentos respiratórios realizados são mais demorados (Karahale *et al.*, 2012; Naikwade e Bajaj, 2009).

A seleção do dispositivo para a administração pulmonar do fármaco constitui um fator importante na concepção da formulação. O dispositivo selecionado deve ser suficientemente capaz de gerar e libertar as partículas de fármaco na região pretendida dos pulmões (Patil e Sarasija, 2012).

Segundo a Farmacopeia Portuguesa 9.8 (2014), os excipientes do aerossol não devem exercer nenhum efeito indesejável nas funções da mucosa do sistema respiratório nem dos seus cílios e o tamanho das partículas do aerossol deve ser controlado de modo a que uma fração significativa se deposite nos pulmões. Para garantir uma terapêutica eficaz, o aerossol deve ainda conter um fármaco seguro e eficaz; dispersar o fármaco em pequenas partículas e ser reprodutível.

A instilação endotraqueal (Figura 13) consiste na administração de uma pequena quantidade de fármaco nos pulmões, na forma de solução ou dispersão, por meio de uma seringa especial. Apesar da deposição de fármaco ser desigual a absorção é rápida e localizada (Kwatra *et al.*, 2012; Patil e Sarasija, 2012).

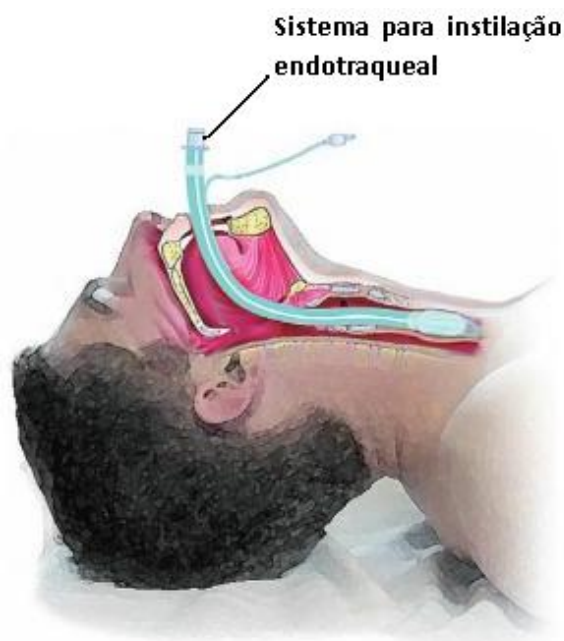


Figura 13 – Instilação endotraqueal (adaptada de Des Jardins, 2008).

Determinados fármacos, administrados por via pulmonar, são fácil e diretamente absorvidos para a corrente sanguínea através da região alveolar (Daniher e Zhu, 2008).

Os principais fármacos administrados por via pulmonar, tanto por inalação por aerossol como por instilação endotraqueal, encontram-se resumidos nas Tabelas 2 e 3, respetivamente.

Tabela 2 – Principais fármacos administrados por inalação por aerossol (INFARMED, 2014; Kwatra *et al.*, 2012).

Técnica	Classificação	Fármaco
Inalação por aerossol	Agonistas β -adrenérgicos	- Albuterol, salbutamol e terbutalina
	Antagonistas colinérgicos	- Brometo de ipratrópio
	Anti-inflamatórios glucocorticóides e esteróides	- Beclometasona, cromolina e dexametasona
	Antibacterianos	- Ciprofloxacina, eritromicina, ofloxacina e tobramicina
	Anti-proteases	- α -1 antitripsina
	Antianginosos	- Nitroglicerina
	Anti-hipertensores	- Nifedipina
	Antidiabéticos	- Insulina
	Hiperglicémicos	- Glucagom
	Hormonas	- Desmopressina, progesterona, somatropina e vasopressina

Tabela 3 – Principais fármacos administrados por instilação endotraqueal (Amantéa *et al.*, 2003; INFARMED, 2014;).

Técnica	Fármaco	Dosagem
Instilação endotraqueal	- Lidocaina	1,5 mg/kg IV
	- Fentanilo	5–10 μ g/kg IV
	- Atropina	0,02 mg/kg IV
	- Vecurónio	0,01 mg/kg IV

	- Midazolam	0,3–0,5 mg/kg IV
	- Tiopental	3–5 mg/kg IV
	- Cetamida	1–4 mg/kg IV ou 4 mg/kg IM
	- Propofol	2-3 mg/kg
	- Succinilcolina	2 mg/kg IV

Podem ainda ser administrados por via pulmonar alguns antídotos, anti-histamínicos, anti-víricos e agentes imunizantes (Kwatra *et al.*, 2012).

Até hoje, os investigadores têm feito grandes progressos no desenvolvimento de novas tecnologias, sobretudo à escala nanométrica, para a libertação dos fármacos nos locais terapêuticos (Marianecci *et al.*, 2011).

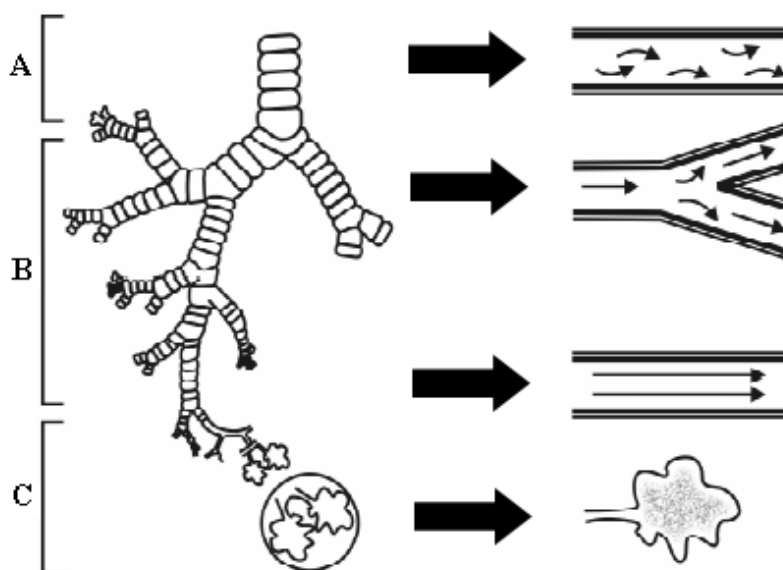
3.1. Mecanismos de deposição de partículas nas vias aéreas

Alguns fatores podem afetar a administração pulmonar de fármacos comprometendo a terapêutica farmacológica.

No caso da utilização de aerossóis, para se obter uma terapêutica eficaz, as partículas de fármaco, que são transportadas desde a boca, devem ser capazes de alcançar o pulmão e de se depositarem numa quantidade suficiente para atingir os objetivos da terapêutica (Karhale *et al.*, 2012).

O tamanho das partículas é um fator crucial para o sucesso terapêutico, pois dele depende a eficiência do sistema de inalação. A literatura sugere um tamanho de partícula entre 1-5 μm como o ideal para a deposição pulmonar (Pereira, 2007). As partículas com tamanho demasiado pequeno podem ser exaladas, enquanto partículas de grandes dimensões depositam-se na região orofaríngea e não atingem os locais de ação (Sunitha *et al.*, 2011).

As partículas de fármaco podem depositar-se nas vias respiratórias por diferentes mecanismos, nomeadamente: intercepção, difusão Browniana, sedimentação gravitacional e impacção (Figura 14) (Kwatra *et al.*, 2012).



**Figura 14 – Mecanismos de deposição de partículas nas vias aéreas (adaptada de Silva *et al.*, 2001).
Legenda: A – impacção, B – sedimentação gravitacional, C – difusão Browniana.**

A intercepção ocorre quando uma partícula de fármaco colide com as vias respiratórias devido ao seu tamanho. É comum nas partículas com tamanho superior a 10 μm de diâmetro. As partículas depositam-se nas vias aéreas superiores e são rapidamente removidas por ação da deglutição, tosse ou processo mucociliar.

A impacção resulta da deposição de partículas que ocorre posteriormente à sua colisão com uma superfície (intercepção). Sucede em partículas com tamanho entre 5-10 μm de diâmetro e é característica na região traqueobrônquica e nas zonas próximas das bifurcações.

Na sedimentação gravitacional, como o próprio nome indica, as partículas de fármaco depositam-se por ação da gravidade. Ocorre essencialmente nas partículas com tamanho entre 1-5 μm de diâmetro. As partículas alcançam as vias aéreas onde a velocidade da corrente de ar é baixa, isto é, nos bronquíolos e nos alvéolos.

A difusão Browniana é o principal mecanismo de deposição de partículas com tamanho inferior a 1 μm de diâmetro. Como tal, as probabilidades de deposição aumentam com a diminuição do tamanho das partículas. Nas partículas com estas dimensões, o deslocamento resulta de um bombardeamento sequencial de moléculas de gás que leva à colisão das partículas com as paredes das vias respiratórias. A difusão ocorre de locais

de maior concentração para locais de menor concentração e é mais comum nas pequenas regiões das vias respiratórias onde o fluxo de ar é diminuto ou ausente, por exemplo nos alvéolos (Karhale *et al.*, 2012; Kwatra *et al.*, 2012; Pereira, 2007).

Por sua vez, os mecanismos de deposição de partículas dependem da morfologia do pulmão, da velocidade de inspiração, da coordenação entre a produção do aerossol no dispositivo e a inspiração do doente, do volume corrente (volume de ar inalado numa inspiração) e do estado de doença do pulmão (Karhale *et al.*, 2012).

3.2. Vantagens e desvantagens da administração pulmonar

Tal como referido anteriormente, no tratamento de doenças respiratórias, a administração pulmonar apresenta várias vantagens, nomeadamente: vetorização do fármaco diretamente para os pulmões, proporcionando uma resposta terapêutica rápida e minimizando os efeitos adversos; exige a administração de doses menores de fármaco, comparativamente com outras vias de administração; evita a ação dos sucos digestivos sobre o fármaco e o efeito de primeira passagem hepática, ao contrário do que acontece pela via oral (Karhale *et al.*, 2012; Shaikh *et al.*, 2010).

Adicionalmente, e ainda comparando com a via oral, a administração pulmonar evita problemas que possam resultar da baixa solubilidade dos fármacos, nomeadamente a biodisponibilidade reduzida, a irritação intestinal, os metabolitos indesejados, as interações com os alimentos e a variabilidade de dosagens (Sunitha *et al.*, 2011).

Outras características que tornam esta via interessante para a administração de fármacos são a elevada superfície de absorção dos pulmões (70 a 140 m² em humanos adultos), a elevada permeabilidade devido à reduzida espessura da membrana que reveste os pulmões, a elevada irrigação e a reduzida atividade enzimática a nível pulmonar (Patil e Sarasija, 2012; Weber *et al.*, 2013).

A administração pulmonar também apresenta algumas desvantagens, como por exemplo: a deposição orofaríngea de fármaco que pode provocar efeitos locais; a dificuldade por parte dos doentes em utilizar corretamente os dispositivos que contêm o fármaco; as perturbações na absorção de fármacos devido à camada de muco (barreira

física); as interferências na reprodutibilidade dos fármacos devido a barreiras fisiológicas e farmacológicas (Chhayani *et al.*, 2013).

3.3. Principais aplicações da administração pulmonar

O tratamento das doenças do pulmão através da via pulmonar teve início a partir dos anos de 1950, quando surgiu o primeiro fármaco de inalação para o tratamento da asma. Ao longo dos últimos 60 anos, vários sistemas farmacêuticos foram desenvolvidos para veicularem os fármacos por esta via, tanto para o tratamento de doenças pulmonares como para o tratamento de outras patologias (e.g. diabetes, osteoporose, neoplasias) (Wang *et al.*, 2014).

As principais indicações terapêuticas da administração pulmonar encontram-se resumidas na Tabela 4.

Tabela 4 – Principais aplicações terapêuticas da administração pulmonar (Karhale *et al.*, 2012; Mansour *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2014).

Indicação terapêutica	Fármaco
Asma e DPOC	- Salbutamol e terbutalina
	- Formoterol e indacaterol
	- Brometo de ipratrópio
	- Beclometasona, budesonida, fluticasona e mometasona
Fibrose cística	- N-acetilcisteína
	- α -1 antitripsina
	- Amicacina, aztreonam e tobramicina
Diabetes	- Insulina
	- Glucagom
Enxaqueca	- Ergotamina
	- Sumatriptano
Angina de peito	- Nitroglicerina

Doença de Parkinson	- Levodopa
Enfisema	- α -1 antitripsina
Transplante	- Ciclosporina
Hipertensão arterial pulmonar	- Iloprost e nifedipina
Cancro do pulmão	- Doxorrubicina, fluorouracilo, interleucina-2
Pneumonia	- Pentamidina
Infeções por <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	- Gentamicina
Cessaçãotabágica	- Nicotina
Esquizofrenia	- Loxapina
Embolia pulmonar	- Heparina
Osteoporose	- Calcitonina
Dor	- Fentanilo e morfina
Outras infeções	- Anfotericina B, rifampicina e tobramicina

Muitos dos fármacos listados ainda se encontram em fase de desenvolvimento clínico. A maioria dos fármacos passíveis de inalação e existentes no mercado farmacêutico destina-se ao tratamento de doenças pulmonares (Wang *et al.*, 2014).

IV. Novos sistemas farmacêuticos para administração pulmonar

Nos últimos anos, com a remoção dos propulsores de clorofluorcarbono de vários dispositivos farmacêuticos, a indústria farmacêutica viu-se forçada a pesquisar e desenvolver novos sistemas farmacêuticos que garantissem a biodisponibilidade dos fármacos administrados a nível pulmonar (Smola *et al.*, 2008). São vários os sistemas farmacêuticos existentes para tratar e diagnosticar doenças, respiratórias e não respiratórias, e a maior parte deles foi impulsionada pela Nanociência e Nanotecnologia.

Neste contexto, os sistemas farmacêuticos para administração pulmonar, atualmente comercializados e em fase de desenvolvimento e avaliação clínica, incluem partículas com tamanhos na ordem dos nanómetros e micrómetros e funcionam como vetores/transportadores dos fármacos para o alvo terapêutico (Marianecchi *et al.*, 2011).

Os sistemas farmacêuticos podem ser veiculados de forma passiva ou ativa. Na forma passiva, os sistemas distribuem-se pelo organismo de acordo com o seu padrão normal de distribuição natural, isto é, dependem apenas das suas características físico-químicas. Na forma ativa, a distribuição dos sistemas farmacêuticos para locais específicos do organismo depende de estímulos internos (e.g. temperatura) ou estímulos externos (e.g. campo magnético) (Conceição *et al.*, 2010).

Idealmente, qualquer sistema de veiculação de fármacos deve apresentar algumas especificações gerais, nomeadamente (Conceição *et al.*, 2010; Smola *et al.*, 2008): ser biocompatível e biodegradável, não devendo induzir a formação de metabolitos tóxicos; possuir uma forma e um tamanho apropriado com a via e o local de administração, de modo a permitir a incorporação de uma quantidade de fármaco suscetível de exercer o efeito terapêutico desejado; proteger o fármaco desde o local de administração até ao local de ação; evitar a libertação precoce do fármaco antes de alcançar o local de ação; ser suscetível de libertar o fármaco no local de ação, o que implica que a ligação vetor-fármaco seja reversível; apresentar afinidade para um determinado tipo de órgãos, tecidos ou células; ser versátil e possibilitar a encapsulação e o transporte de moléculas hidrófilas, anfifílicas ou hidrófobas; possibilitar a manipulação das suas características físico-químicas, como por exemplo, o tamanho e a composição.

O desenvolvimento de um vetor inovador, capaz de libertar o fármaco no alvo terapêutico, depende da natureza do fármaco, bem como do seu mecanismo de ação (Marianecchi *et al.*, 2011).

Após uma extensa revisão bibliográfica verificou-se que, atualmente, os principais sistemas farmacêuticos para administração pulmonar são as micropartículas, as microemulsões, as micelas, os lipossomas, as nanopartículas e as ciclodextrinas.

4.1. Micropartículas

As partículas de tamanho entre 1-3 μm e densidade próxima dos 1 g/cm^3 são propensas a sofrerem fenômenos de agregação nos DPIs e a serem facilmente depuradas pelos macrófagos pulmonares. Na terapêutica pulmonar, a utilização de partículas de maior tamanho e menor densidade, como as micropartículas poliméricas ou lipídicas, permite ultrapassar estas limitações, uma vez que escapam com maior facilidade à fagocitose e alcançam profundamente os pulmões, e efetuar a administração de fármacos de libertação modificada (Edwards *et al.*, 1997).

4.1.1. Micropartículas poliméricas

As micropartículas poliméricas são sistemas sólidos preparados à base de polímeros sintéticos, semi-sintéticos ou naturais, que servem de veículo para fármacos ou outras substâncias (Reis, 2011). De entre os polímeros mais utilizados destacam-se o poli(metacrilato de metilo) (PMMA – *poly(methylmethacrylate)*), o álcool polivinílico (PVA – *poly(vinyl alcohol)*), a poli(acrilamida) (PAM – *polyacrylamide*), o polietilenoglicol (PEG – *polyethylene glycol*), o ácido poliglicólico (PGA – *poly(glycolic acid)*), o ácido polilático (PLA – *poly(lactic acid)*), o poli(lactato-co-glicolato) (PLGA – *poly(lactide-co-glycolide)*) e a policaprolactona (PCL – *poly(ϵ -caprolactone)*). Outros materiais como os polissacarídeos e as proteínas também são utilizados (e.g. alginato, quitosano). Estes sistemas poliméricos controlam a libertação dos fármacos através de mecanismos de difusão e/ou degradação/erosão (Chakrapani, 2006).

As micropartículas poliméricas apresentam um tamanho compreendido entre 1 e 1000 μm e englobam as microesferas e as microcápsulas (Figura 15) (Mendes, 2011).

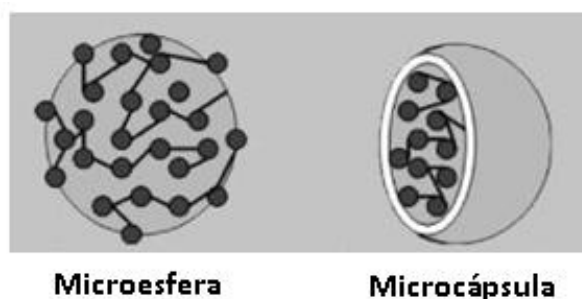


Figura 15 – Microesferas e microcápsulas poliméricas (adaptada de Borges, 2012).

Em termos estruturais, as microesferas são esferas uniformes constituídas por uma matriz polimérica, podendo esta apresentar propriedades muco-adesivas (e.g. quitosano e alginato de sódio). As microesferas são pouco higroscópicas, podem ser biodegradáveis e conseguem encapsular tanto fármacos lipófilos como fármacos hidrófilos (Smola *et al.*, 2008; Sunitha *et al.*, 2011). Os fármacos podem ser adsorvidos à superfície da microesfera ou dispersos no seu interior de forma homogênea ou heterogênea (Mendes, 2011; Reis, 2011).

Comparativamente com os lipossomas, as microesferas apresentam um comportamento físico-químico mais estável e prolongam a ação terapêutica dos fármacos encapsulados devido à libertação lenta dos mesmos (Chhayani *et al.*, 2013).

O PLGA constitui o polímero mais estudado na preparação de microesferas de libertação modificada para administração pulmonar. Apesar de ser biodegradável, biocompatível e não apresentar toxicidade, *in vivo* e *in vitro* para várias células do sistema respiratório, a *Food and Drug Administration* (FDA) ainda não aprovou o PLGA como excipiente para inalação (Dailey *et al.*, 2006; Ungaro *et al.*, 2012).

As microcápsulas são vesículas com um núcleo, líquido ou sólido, limitado por uma membrana polimérica fina designada de invólucro. Os fármacos podem ser adsorvidos à superfície da microcápsula ou localizarem-se no núcleo sob a forma dissolvida ou suspensa (Reis, 2011; Sunitha *et al.*, 2011).

As principais vantagens da utilização de micropartículas poliméricas em sistemas farmacêuticos para administração pulmonar são: proteger os fármacos do metabolismo

enzimático e das condições ambientais, eliminar incompatibilidades entre fármacos, melhorar as características organolépticas dos fármacos (e.g. sabor e odor) e permitir uma libertação controlada e prolongada de fármacos, minimizando possíveis efeitos adversos (Mendes, 2011).

Segundo Armstrong *et al.* (1996), a incerteza existente com a segurança/toxicidade das micropartículas poliméricas, sobretudo ao nível dos danos histológicos, constitui a principal desvantagem deste tipo de sistema farmacêutico.

As micropartículas de PLGA apresentam especificamente algumas desvantagens, como: a capacidade de carga de fármacos limitada, a instabilidade do fármaco no núcleo e o risco de acumulação de polímero nos pulmões (Dhanda *et al.*, 2013).

4.1.2. Micropartículas lipídicas sólidas

As micropartículas lipídicas sólidas, à semelhança das micropartículas poliméricas, apresentam um tamanho compreendido entre 1 e 1000 μm (Umeyor *et al.*, 2012).

As micropartículas lipídicas sólidas possuem um núcleo sólido, composto por lípidos semelhantes aos fisiológicos e biodegradáveis (e.g. DPPC, tristearina, Compritol[®] e behenato de glicerol) e são estabilizadas na superfície por um surfactante. Podem incorporar fármacos hidrófilos e lipófilos e são fisiologicamente compatíveis com as membranas celulares (Sanna *et al.*, 2003; Scalia *et al.*, 2013).

De acordo com Sanna *et al.* (2003), as micropartículas lipídicas sólidas não apresentam toxicidade aguda quando administradas por via endotraqueal.

Dadas as suas características, as micropartículas lipídicas sólidas têm sido apontadas como sistemas farmacêuticos alternativos às poliméricas na veiculação de fármacos, sobretudo, pela baixa toxicidade que apresentam (Sanna *et al.*, 2003). Comparativamente com os lipossomas, as micropartículas lipídicas sólidas podem ser produzidas em larga escala, a custos reduzidos (Umeyor *et al.*, 2012).

A Tabela 5 resume alguns dos estudos do novo milénio descritos na literatura, bem como os principais resultados, relativos à utilização de micropartículas, poliméricas e lipídicas, como sistemas farmacêuticos para administração pulmonar.

Tabela 5 – Alguns estudos sobre a utilização de micropartículas, poliméricas e lipídicas, como sistemas de administração pulmonar.

Fármaco	Natureza da micropartícula	Resultados	Referência
Budesonida	Microesferas de gelatina e quitosano	- Eficaz deposição <i>in vitro</i> do fármaco nos pulmões - Libertação controlada	Naikwade e Bajaj, 2009
Calcitonina de salmão	Microesferas de gelatina	- Rápida libertação do fármaco em ratos - Maior disponibilidade farmacológica a partir de microesferas carregadas positivamente do que negativamente	Morimoto <i>et al.</i> , 2000
Paclitaxel	Micropartículas de alginato de sódio	- Inibição do crescimento de células tumorais (<i>Human non-small cell lung cancer</i>) - Libertação modificada	Alipour <i>et al.</i> , 2010
Quercetina	Micropartículas lipídicas sólidas	- Maior biodisponibilidade <i>in vitro</i> - Toxicidade <i>in vitro</i> inexistente nas concentrações estudadas	Scalia <i>et al.</i> , 2013
Rifampicina	Microesferas de PLGA (Poli(lactato-co-glicolato))	- Redução do número de bactérias viáveis - Redução da inflamação e do dano pulmonar em animais	Suarez <i>et al.</i> , 2001
Salbutamol	Micropartículas lipídicas sólidas	- Maior biodisponibilidade <i>in vitro</i> - Libertação modificada	Jaspart <i>et al.</i> , 2007
Teofilina	Micropartículas	- Maiores biodisponibilidade e	Yas, 2013

	lipídicas sólidas	retenção do fármaco <i>in vivo</i> - Menos efeitos adversos, comparativamente com a administração oral	
--	----------------------	---	--

4.2. Microemulsões

As microemulsões são sistemas coloidais, quaternários, constituídos por duas fases líquidas imiscíveis, adicionadas de um ou mais agentes tensioativos e agente co-tensioativo (Figura 16). Estes sistemas originam uma fase macroscopicamente homogênea mas microscopicamente heterogênea. As microemulsões apresentam propriedades físico-químicas específicas, tais como: transparência, isotropia, baixa viscosidade e estabilidade termodinâmica (Formariz *et al.*, 2005; Talegaonkar *et al.*, 2014).

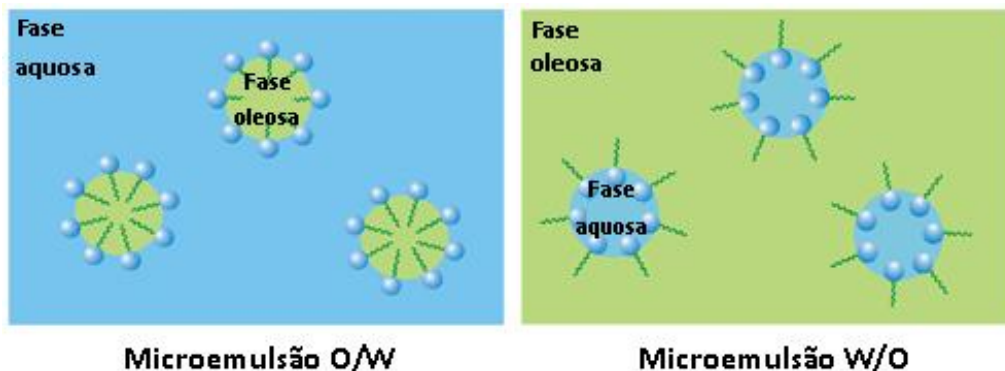


Figura 16 – Estrutura das microemulsões (adaptada de Blunk *et al.*, 2006).

As microemulsões distinguem-se das emulsões, também designadas de macroemulsões, e das nanoemulsões essencialmente pelo tamanho das gotículas que constituem a fase interna/dispersa, pela concentração dos agentes tensioativos e pela estabilidade termodinâmica (Tabela 6). Tal como as emulsões, consoante a composição da fase externa/dispersante, as microemulsões podem ser simples, óleo em água (O/W – *Oil in Water*) ou água em óleo (W/O – *Water in Oil*), ou múltiplas, óleo em água em óleo (O/W/O – *Oil in Water in Oil*) ou água em óleo em água (W/O/W – *Water in Oil in Water*) (Rossi *et al.*, 2007; Simões *et al.*, 2011).

Tabela 6 – Diferenças entre as microemulsões, as macroemulsões e as nanoemulsões (Simões *et al.*, 2011).

Característica	Microemulsões	Macroemulsões	Nanoemulsões
Preparação	Agitação ligeira	Agitação vigorosa	Agitação de alta tensão
Aspetto	Transparentes	Opacas	Transparentes
Dimensões das gotículas	< 0,15 µm	> 0,1-50 µm	0,02-0,2 µm
Estabilidade termodinâmica	Estáveis	Instáveis	Instáveis
Viscosidade	Baixa	Variável	Baixa

Para a preparação de microemulsões recorre-se à técnica da emulsificação. A emulsificação das microemulsões ocorre espontaneamente por agitação ligeira e depende da ação dos agentes tensoativos, que consiste na redução da tensão interfacial entre as fases, oleosa e aquosa, do sistema. Além de promoverem a emulsificação, os agentes tensoativos também controlam a estabilidade da microemulsão (Simões *et al.*, 2011). Os agentes tensoativos devem ser quimicamente puros e estáveis, de forma a apresentarem baixa toxicidade para as membranas celulares (Damasceno *et al.*, 2011).

As microemulsões possuem um poder solubilizante elevado que facilita a veiculação de concentrações elevadas tanto de fármacos lipófilos como hidrófilos (Simões *et al.*, 2011; Talegaonkar *et al.*, 2014).

As principais vantagens da utilização de microemulsões em sistemas farmacêuticos para administração pulmonar são: a facilidade de produção e a elevada capacidade de incorporar fármacos, uma vez que estes serão, aproximadamente, 100% solúveis numa das fases da microemulsão (Damasceno *et al.*, 2011; Smola *et al.*, 2008).

Adicionalmente, as microemulsões podem aumentar a biodisponibilidade dos fármacos e, em virtude da sua estabilidade termodinâmica, é pouco provável ocorrerem fenómenos de instabilidade como a coalescência, a formação de creme ou a separação de fases (Simões *et al.*, 2011).

A Tabela 7 resume alguns dos estudos mais recentes descritos na literatura, bem como os principais resultados, relativos à utilização de microemulsões como sistemas farmacêuticos para administração pulmonar.

Tabela 7 – Alguns estudos sobre a utilização de microemulsões como sistemas de veiculação de fármacos para administração pulmonar.

Fármaco	Tipo de microemulsão	Resultados	Referência
Calcitonina de salmão	Microemulsão W/O	- Prolongada hipocalcemia em ratos, comparativamente com a administração IV	Shan <i>et al.</i> , 2014
DNA	Microemulsão W/O	- Liberação modificada e estável <i>in vitro</i> - Toxicidade <i>in vitro</i> pouco relevante	Bains <i>et al.</i> , 2010
<i>Ganoderma lucidum</i> e <i>Coix lacrym-jobi</i>	Microemulsão O/W	- Maior efeito anti-proliferativo para as células cancerígenas <i>in vitro</i> do que <i>in vivo</i>	Qu <i>et al.</i> , 2014

4.3. Micelas poliméricas

As micelas poliméricas são sistemas coloidais esféricos, constituídos por um núcleo interno hidrófobo e uma camada exterior hidrófila devido aos blocos anfifílicos que as compõem (Figura 17). O núcleo pode veicular fármacos lipófilos e transportá-los em concentrações elevadas até ao local de ação (Gilani *et al.*, 2011; Kore *et al.*, 2014; Villanova e Cunha, 2010).

Adicionalmente, as micelas poliméricas podem encapsular proteínas e DNA (Smola *et al.*, 2008).

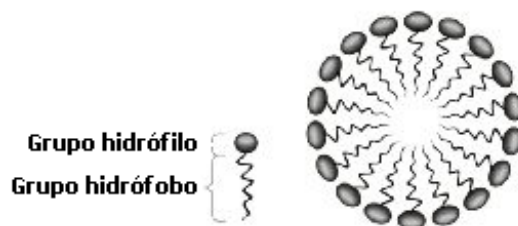


Figura 17 – Estrutura micelar (adaptada de <http://eng.thesaurus.rusnano.com/wiki/article1199>).

As micelas poliméricas são sistemas de veiculação de fármacos, termodinâmica e cineticamente estáveis em solução aquosa (Domínguez *et al.*, 2014).

Para a formação das micelas poliméricas são utilizados diversos materiais anfifílicos. Geralmente a parte hidrófila é constituída por PEG e a parte lipófila é composta por fosfolípidos (Torchilin, 2007).

A formação de um invólucro hidrófilo em torno da micela permite proteger o fármaco, bem como evitar um reconhecimento por parte do sistema reticuloendotelial e, conseqüentemente, a sua expulsão precoce da corrente sanguínea. Outra característica que torna as micelas atrativas como sistema de veiculação de fármacos é o facto de poderem ser alteradas ao nível da forma, da dimensão e da natureza química, aumentando a seletividade e a especificidade do sistema com o alvo terapêutico (Smola *et al.*, 2008).

As principais vantagens da utilização de micelas poliméricas em sistemas farmacêuticos para administração pulmonar são: elevada estabilidade, elevada capacidade de solubilizar fármacos hidrófobos, elevado tempo de permanência na corrente sanguínea e no local de ação, biocompatibilidade, reduzida toxicidade e libertação controlada de fármacos (Kore *et al.*, 2014; Smola *et al.*, 2008).

A Tabela 8 resume alguns dos estudos do novo milénio descritos na literatura, bem como os principais resultados, relativos à utilização de micelas como sistemas farmacêuticos para administração pulmonar.

Tabela 8 – Alguns estudos sobre a utilização de micelas poliméricas como sistemas de veiculação de fármacos para administração pulmonar.

Fármaco	Resultados	Referência
Anfoterina B	- Elevada solubilização do fármaco <i>in vitro</i> - Elevado potencial para a veiculação do fármaco	Gilani <i>et al.</i> , 2011
Beclometasona (dipropionato)	- Elevada biocompatibilidade - Elevada absorção pulmonar <i>in vitro</i> - Capacidade de libertar fármacos lipófilos	Craparo <i>et al.</i> , 2011
Beclometasona (dipropionato)	- Libertação prolongada <i>in vitro</i> - Capacidade de libertar fármacos lipófilos	Gaber <i>et al.</i> , 2006
Calcitonina de salmão	- Maiores estabilidade e absorção transepitelial <i>in vitro</i> - Elevada biodisponibilidade do fármaco <i>in vivo</i>	Baginski <i>et al.</i> , 2012
Doxorrubicina	- Maior biodisponibilidade do fármaco <i>in vitro</i> - Melhor eficácia anti-tumoral do fármaco - Maior segurança, comprovada em estudos de citotoxicidade <i>in vitro</i> (células cancerígenas do pulmão H2009)	Guthi <i>et al.</i> , 2009
Hematoporfirina	- Maior citotoxicidade comparativamente com a administração de uma solução de fármaco	Yang <i>et al.</i> , 2010a
Paclitaxel	- Libertação prolongada <i>in vitro</i> - Maior absorção pulmonar <i>in vivo</i> em ratos (até 45 vezes superior em relação à via IV)	Gill <i>et al.</i> , 2011

4.4. Lipossomas

Os lipossomas são vesículas esféricas compostas por uma ou mais bicamadas fosfolipídicas separadas por compartimentos aquosos internos. Os lipossomas apresentam capacidade de encapsular fármacos hidrófilos nos compartimentos aquosos e fármacos lipófilos nas membranas lipídicas (Franco, 2013).

O interior de natureza hidrófila e a membrana lipófila dos lipossomas permite também a encapsulação de proteínas e ácidos nucleicos, utilizados para o tratamento de doenças sistêmicas e na terapia génica (Swaay e deMello, 2013).

Laboratorialmente, os lipossomas podem ser preparados a partir de misturas lipídicas anfifílicas naturais (e.g. fosfolípidos e colesterol) ou de lípidos sintéticos, que têm por base os lípidos do surfactante pulmonar (e.g. esfingomiéline, fosfatidilcolina, fosfatidilglicerol). De acordo com o tipo de lípidos que compõem os lipossomas, estes apresentam diferentes características físico-químicas, sobretudo no que diz respeito à estabilidade em função da temperatura e da rigidez/fluidez. Consoante o diâmetro e o número de camadas, os lipossomas adquirem diferentes designações (Figura 18 e Tabela 9) (Matos e Moutinho, 2011).

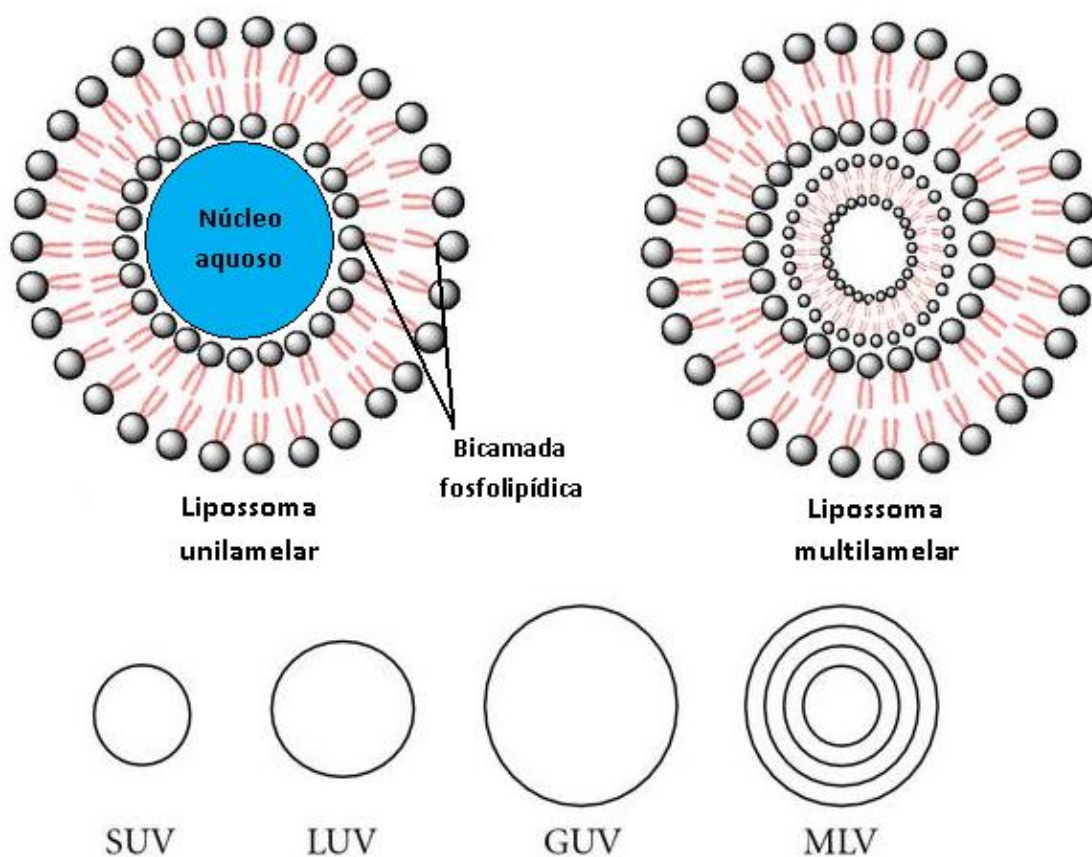


Figura 18 – Estrutura base e diferentes tipos de lipossomas (adaptada de Fadista, 2011; <http://www.hindawi.com/journals/jdd/2011/863734/fig1/>)

Tabela 9 – Classificação dos lipossomas segundo o diâmetro e o número de camadas (Matos e Moutinho, 2011).

Classificação	Diâmetro
Vesículas Multilamelares (MLV)	500-5000 nm
Vesículas Unilamelares (LUV)	100-500 nm
Vesículas Unilamelares Pequenas (SUV)	20-100 nm
Vesículas Unilamelares Gigantes (GUV)	> 1 μm
Vesículas Oligolamelares (OLV)	0,1 - 1 μm
Vesículas Unilamelares Médias (MUV)	20-500 nm

Como vetores, os lipossomas melhoram as propriedades farmacocinéticas dos fármacos, servindo como sistemas de libertação modificada ou de vetorização, o que permite que os fármacos transponham barreiras fisiológicas e alcancem zonas celulares de difícil acesso, ao mesmo tempo que protegem os fármacos de se degradarem ou de desenvolverem efeitos indesejados, desde o local da administração até ao local de ação (Franco, 2013).

Além disso, os lipossomas são, na sua maioria, biodegradáveis, biocompatíveis e não imunogénicos, o que os torna altamente versáteis e atrativos para a indústria farmacêutica (Matos e Moutinho, 2011).

As principais vantagens da utilização de lipossomas em sistemas farmacêuticos para administração pulmonar são: versatilidade estrutural, o que permite a encapsulação de pequenas e grandes moléculas hidrófilas, lipófilas e anfipáticas; elevada compatibilidade aquosa, devido à sua biodegradabilidade; libertação controlada de forma a manter constantes as concentrações terapêuticas; baixa irritação local e baixa toxicidade (Conceição *et al.*, 2010).

Os elevados custos de produção e a relativa instabilidade que podem apresentar durante o armazenamento, podendo conduzir à rutura e à perda prematura das substâncias incorporadas, constituem as principais desvantagens dos lipossomas (Jaspart *et al.*, 2007).

Os lipossomas mais comumente utilizados são compostos de surfactantes pulmonares e lípidos sintéticos. Várias formulações lipossomais têm sido estudadas e propostas para a

administração pulmonar de fármacos anticancerígenos, anti-asmáticos, corticosteróides, imunossupressores, antimicrobianos e analgésicos opióides (Marianecci *et al.*, 2011).

Como acontece com outras partículas administradas por via pulmonar, os lipossomas também são captados pelos macrófagos do tecido pulmonar. Contudo, os lipossomas com um diâmetro médio entre 50 e 200 nm conseguem evitar a fagocitose pelos macrófagos pulmonares (Matos e Moutinho, 2011).

Os lipossomas são administrados ao sistema respiratório, sobretudo, sob a forma de pó seco ou de suspensão, por nebulização, sendo que por esta última forma pode ocorrer rutura estrutural dos lipossomas (Gaspar *et al.*, 2008; Willis *et al.*, 2012).

Os lipossomas são dos poucos sistemas farmacêuticos para administração pulmonar que alcançaram o desenvolvimento clínico. Alguns antibióticos estão em diferentes fases de desenvolvimento clínico. Por exemplo, o Arikace[®], uma formulação lipossomal de amicacina, encontra-se na fase III dos estudos clínicos para o tratamento de infeções por *Pseudomonas aeruginosa* em doentes com fibrose cística e na fase II dos estudos clínicos para o tratamento de doenças pulmonares por micobactérias não tuberculosas. O Pulmaquin[®], uma formulação lipossomal de ciprofloxacina por inalação, encontra-se também na fase III dos estudos clínicos para o tratamento de infeções por *Pseudomonas aeruginosa* em doentes com bronquiectasia não-fibrose cística (Clancy *et al.*, 2013; ClinicalTrials.gov, 2014; Serisier *et al.*, 2013).

A Tabela 10 resume alguns dos estudos mais recentes descritos na literatura, bem como os principais resultados, relativos à utilização de lipossomas como sistemas farmacêuticos para administração pulmonar.

Tabela 10 – Alguns estudos sobre a utilização de lipossomas como sistemas de veiculação de fármacos para administração pulmonar.

Fármaco	Resultados	Referência
Anfotericina B	- Possibilidade de nebulizar o fármaco sem destruir a integridade dos lipossomas	Kamalaporn <i>et al.</i> , 2014
Calcitonina de salmão	- Equivalente biodisponibilidade <i>in vivo</i> , em animais, comparativamente com a administração de uma solução de fármaco	Swaminathan <i>et al.</i> , 2014

Clorotoxina	<ul style="list-style-type: none"> - Elevada especificidade de ligação com o local de ação - Elevada biodisponibilidade <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> - Marcado efeito antimetástico 	Qin <i>et al.</i> , in press
Genes	<ul style="list-style-type: none"> - Elevada expressão dos genes - Supressão significativa <i>in vivo</i> dos tumores primários e metástases em animais - Sobrevivência prolongada em animais 	Ramesh <i>et al.</i> , 2001
Fasudil	<ul style="list-style-type: none"> - Maior biodisponibilidade <i>in vivo</i>, em animais, através de lipossomas magnéticos do que por administração IV 	Nahar <i>et al.</i> , 2014
Insulina	<ul style="list-style-type: none"> - Redução do nível de glicose no plasma de animais 	Huang e Wang, 2006
Levonorgestrel	<ul style="list-style-type: none"> - Menor frequência de administração e redução dos efeitos secundários sistêmicos <i>in vivo</i> em animais, comparativamente com a administração oral 	Shahiwala e Misra, 2004

4.5. Nanopartículas

As nanopartículas são partículas coloidais sólidas, cujo tamanho ainda não é consensual entre a comunidade científica (Kreuter, 2007). Para Müller *et al.* (2000), as nanopartículas possuem um diâmetro entre 50-1000 nm.

As nanopartículas podem ser constituídas por polímeros, lípidos, proteínas, polissacarídeos ou metais inorgânicos (e.g. PLGA, PCL, alginato, quitosano). O fármaco pode estar encapsulado, adsorvido, dissolvido ou quimicamente ligado à superfície das partículas (Smola *et al.*, 2008).

Por via pulmonar, as nanopartículas podem ser usadas como veículos, tanto para fins terapêuticos como para fins de diagnóstico (Sunitha *et al.*, 2011). Na terapêutica pulmonar, as nanopartículas são ótimos veículos para a libertação modificada de fármacos, uma vez que escapam com grande facilidade à fagocitose e permanecem no tecido pulmonar durante semanas (Todoroff e Vanbever, 2011).

As nanopartículas são frequentemente administradas ao sistema respiratório sob a forma de suspensão por nebulização, dado que os nanoaerossóis são difíceis de preparar, devido à energia requerida, e os DPIs são pouco capazes de dispersar as nanopartículas (Dailey *et al.*, 2003).

4.5.1. Nanopartículas poliméricas

As nanopartículas poliméricas englobam as nanoesferas e as nanocápsulas (Figura 19). Estas apresentam as mesmas características que as microesferas e as microcápsulas, respetivamente, mas à escala nanométrica (Reis, 2011). Desta forma, as nanoesferas são sistemas matriciais, nos quais os fármacos se encontram física e uniformemente dispersos, e as nanocápsulas são sistemas vesiculares, em que os fármacos se encontram confinados no núcleo ou adsorvidos ao invólucro polimérico que as rodeia (Soppimath *et al.*, 2001).

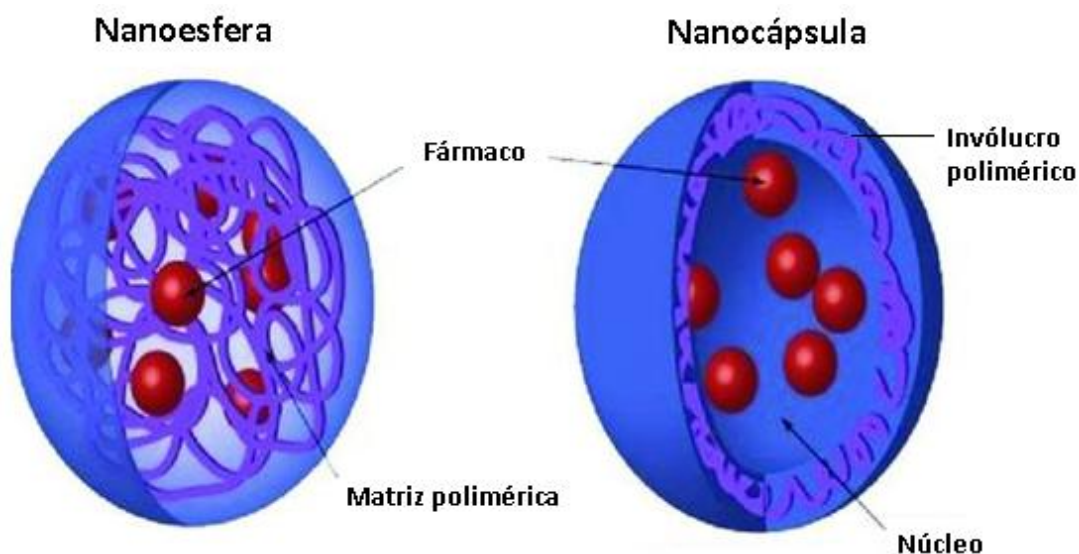


Figura 19 – Nanoesferas e nanocápsulas poliméricas (adaptada de Borges, 2012).

A literatura descreve, fundamentalmente, dois métodos principais para a preparação de nanopartículas poliméricas: a polimerização *in situ* de monómeros e a precipitação de polímeros pré-formados, tais como o PCL, o PLA ou o PLGA (Schaffazick *et al.*, 2003). Em ambos os métodos recorre-se a polímeros, essencialmente, biodegradáveis/hidrófilos (Soppimath *et al.*, 2001). Podem também ser utilizados

polímeros do tipo polissacarídeos e/ou péptidos/proteínas (e.g. PLGA, PCL, alginato, quitosano) (Reis, 2011).

A escolha do método de produção, bem como dos materiais utilizados, determina as características físico-químicas das nanopartículas poliméricas como o tamanho e a carga. Por exemplo, a utilização de quitosano no revestimento de nanopartículas poliméricas prolonga o tempo de residência das nanopartículas nos pulmões devido às propriedades mucoadesivas deste polímero. Por sua vez, o PEG cria uma camada neutra e hidrófila à superfície das nanopartículas poliméricas reduzindo as interações com o muco pulmonar (Lai *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2013).

Devido às suas características, como a biocompatibilidade, capacidade de alterar a superfície e capacidade de libertação prolongada, as nanopartículas poliméricas são usadas, a nível pulmonar, na veiculação de anti-asmáticos, anti-tuberculosos e anti-cancerígenos (Azarmi *et al.*, 2006; Seong *et al.*, 2006; Zahoor *et al.*, 2005).

4.5.2. Nanopartículas lipídicas

As nanopartículas lipídicas incluem as nanopartículas lipídicas sólidas (SLN – *Solid Lipid Nanoparticles*) e os vetores lipídicos nanoestruturados (NLC – *Nanostructured Lipid Carriers*) (Figura 20).

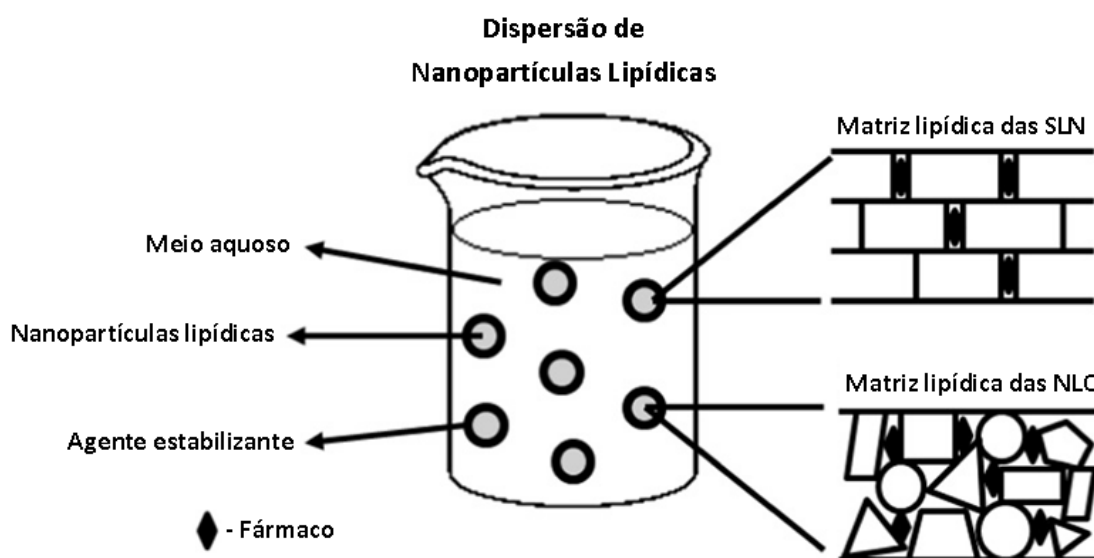


Figura 20 – Matriz lipídica das SLN e dos NLC (adaptada de Weber *et al.*, 2013).

As SLN são vetores coloidais de natureza lipídica, constituídos por uma matriz ordenada e sólida à temperatura ambiente e corporal (Müller *et al.*, 2011). A matriz das SLN é constituída por lípidos fisiologicamente compatíveis (e.g. acilgliceróis, ceramidas, ácidos e álcoois gordos), com elevado grau de cristalinidade, e revestida por agentes tensioativos (Souto e Müller, 2007).

As SLN surgiram como alternativa às nanopartículas poliméricas e aos lipossomas, uma vez que combinam as vantagens de ambos: biocompatibilidade de lípidos e possibilidade de produção em grande escala (Smola *et al.*, 2008). Comparativamente com os lipossomas, as SLN são fisicamente mais estáveis, sobretudo quando são administradas por nebulização (Weber *et al.*, 2013).

A incorporação do fármaco na matriz lipídica sólida das SLN pode ocorrer, no mínimo, de três formas. No primeiro modelo, o modelo de matriz homogénea, o fármaco encontra-se molecularmente disperso no núcleo lipídico. É adequado para incorporar fármacos lipófilos e para alterar o perfil de libertação do fármaco. No segundo modelo, o modelo de parede de fármaco, o fármaco reveste o núcleo lipídico sendo adequado para uma libertação imediata do fármaco. No terceiro modelo, o modelo de núcleo de fármaco, o fármaco concentra-se no núcleo e é revestido por uma parede lipídica. É adequado para uma libertação controlada do fármaco (Silva *et al.*, 2011).

A matriz lipídica sólida das SLN apresenta uma capacidade limitada de incorporação de fármacos, permite a ocorrência de transições polimórficas nos lípidos e possui uma elevada quantidade de água. Todos estes aspetos constituem desvantagens das SLN (Martins *et al.*, 2007).

Os NLC surgiram para minimizar os potenciais problemas associados às SLN. Os NLC apresentam uma matriz nanoestruturada, com maior capacidade de incorporar fármacos, formada por uma mistura de lípidos, sólidos e líquidos, e revestida por agentes tensioativos (Weber *et al.*, 2013).

Assim como as SLN, também a incorporação de fármaco nos NLC pode ser descrita de três formas. No primeiro modelo, o modelo de cristal imperfeito, o fármaco é incorporado nas imperfeições da matriz, que por sua vez é constituída por mais lípidos sólidos que lípidos líquidos. No segundo modelo, o modelo amorfo, a matriz é constituída por lípidos especiais (e.g. miristato de isopropilo) que não recristalizam

depois da homogeneização. O terceiro modelo, o modelo múltiplo, é comparado às emulsões múltiplas do tipo W/O/W (Silva *et al.*, 2011).

A estrutura e morfologia das nanopartículas lipídicas dependem das matérias-primas lipídicas, da natureza química do fármaco encapsulado, dos agentes tensioativos e do método de produção utilizado. Na literatura estão descritos vários métodos de preparação das nanopartículas lipídicas, com particular destaque para: a homogeneização a alta pressão (HPH – *High Pressure Homogenization*), a quente ou a frio; a sonicação; a microemulsão; a dupla emulsão; a emulsificação-*evaporação* do solvente; o deslocamento do solvente; a emulsificação-difusão do solvente; a inversão de fases e a coacervação (Müller *et al.*, 2000; Souto e Müller, 2011).

Os principais agentes tensioativos utilizados na produção de nanopartículas lipídicas são os fosfolípidos, a lecitina, os sais biliares, os ácidos gordos e os éteres de sorbitano etoxilados (Araújo *et al.*, 2009).

A eficácia de encapsulação de fármacos em lípidos depende de alguns parâmetros, nomeadamente: a solubilidade do fármaco no(s) lípido(s), a estrutura físico-química da matriz lipídica e o estado polimórfico dos lípidos (Smola *et al.*, 2008).

As nanopartículas lipídicas podem apresentar diversas vantagens, nomeadamente: elevada estabilidade físico-química, baixa toxicidade aguda ou tóxica, utilização de substâncias seguras (GRAS – *Generally Regarded as Safe*), baixo custo de produção, produção em larga escala e proteção química e enzimática dos fármacos incorporados (Martins *et al.*, 2007; Müller *et al.*, 2000; Silva *et al.*, 2011). Em sistemas farmacêuticos para administração pulmonar, as principais vantagens da utilização de nanopartículas lipídicas são: biodegradabilidade, mucoadesividade, elevada tolerabilidade, possibilidade de deposição profunda, libertação prolongada de fármacos e baixa toxicidade (Weber *et al.*, 2013).

A Tabela 11 resume alguns dos estudos do novo milénio descritos na literatura, bem como os principais resultados, relativos à utilização de nanopartículas como sistemas farmacêuticos para administração pulmonar.

Tabela 11 – Alguns estudos sobre a utilização de nanopartículas como sistemas de administração pulmonar.

Fármaco	Natureza da nanopartícula	Resultados	Referência
Beclometasona (dipropionato)	SLN e NLC	- Libertação controlada <i>in vitro</i>	Jaafar-Maalej <i>et al.</i> , 2011
Calcitonina	Nanoesferas com quitosano	- Eliminação mais lenta dos pulmões - Redução dos níveis de cálcio no sangue em 80% - Aumento da absorção do fármaco	Yamamoto <i>et al.</i> , 2005
Doxorrubicina ou Paclitaxel	NLC	- Especificidade para as células-alvo - Supressão <i>in vitro</i> do crescimento tumoral (células pulmonares) e diminuição dos efeitos adversos comparativamente com a via IV	Taratula <i>et al.</i> , 2013
Insulina	SLN	- Aumento da biodisponibilidade em relação à via SC - Redução <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> dos níveis de glicose em jejum e prolongamento do efeito hipoglicemiante	Liu <i>et al.</i> , 2008
Rifampicina	SLN	- Baixa toxicidade e aumento da biodisponibilidade <i>in vivo</i>	Chuan <i>et al.</i> , 2013
Rifampicina, Isoniazida e Pirazinamida	Nanopartículas poliméricas de PLGA	- Em comparação com as vias oral e IV, os fármacos apresentaram maior biodisponibilidade <i>in vivo</i> e reduziram a frequência de administração	Pandey <i>et al.</i> , 2003
Topotecano	SLN e NLC	- Libertação modificada <i>in vitro</i> - Melhor estabilidade química e menor citotoxicidade <i>in vitro</i>	Souza <i>et al.</i> , 2011

4.6. Ciclodextrinas

As ciclodextrinas são oligossacarídeos cíclicos derivados do amido por ação da enzima ciclodextrina-glicosil-transferase (CGTase) (Cunha-Filho e Sá-Barreto, 2008; Teixeira, 2012; Veiga e Figueiras, 2011).

Os principais produtores de CGTase são as bactérias *Bacillus circulans*, *Bacillus macerans*, *Bacillus megaterium* e *Klebsiella pneumoniae*. Estas bactérias são responsáveis pela conversão do amido em dextrinas (cíclicas e acíclicas), por hidrólise das ligações glicosídicas. Consoante o tipo de bactéria que produz a enzima CGTase e dependendo das condições da reação, são obtidos diferentes tipos de ciclodextrinas (Oliveira *et al.*, 2009).

Estruturalmente, as ciclodextrinas são polímeros de estrutura cíclica, não redutores, compostos por unidades D-glucopiranosídicas (glucose) ligadas entre si por ligações α -1,4-glicosídicas. Apresentam uma forma tronco-cônica devido à conformação em cadeia das unidades de glucose e devido à ausência de rotação livre das ligações glicosídicas (Saltão e Veiga, 2001; Teixeira, 2012).

No tronco-cônico, os grupos hidroxilo posicionados externamente conferem características hidrófilas, isto é, tornam as ciclodextrinas solúveis em água e insolúveis em grande parte dos solventes orgânicos. Já o anel de átomos de oxigénio e os dois anéis de grupos C-H glucosídicos conferem características hidrófobas, tornando o interior da cavidade das ciclodextrinas capaz de encapsular moléculas hidrofóbas (Figura 21) (Oliveira *et al.*, 2009; Sá-Barreto e Cunha-Filho, 2008).

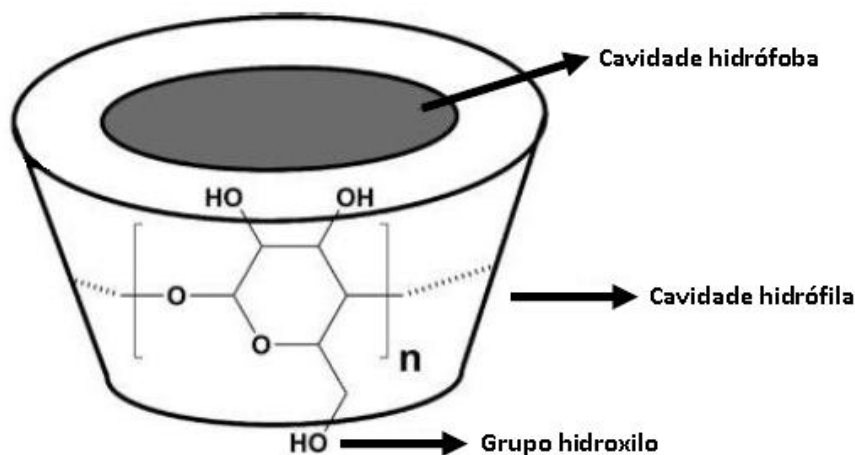
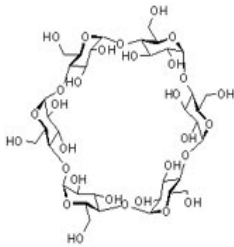
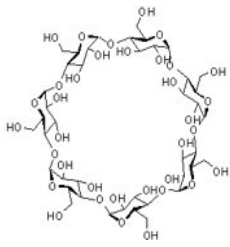
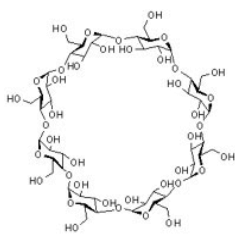


Figura 21 – Estrutura funcional das Ciclodextrinas (adaptada de Coelho, 2012).

Atualmente, as ciclodextrinas são obtidas por processos biotecnológicos. As ciclodextrinas naturais são obtidas com maior rendimento e incluem as ciclodextrinas α , β e γ (Tabela 12) (Venturini *et al.*, 2008).

Tabela 12 – Estrutura e propriedades das ciclodextrinas α , β e γ (Oliveira *et al.*, 2009; Veiga e Figueiras, 2011).

Ciclodextrina	α	β	γ
Nº de unidades de glucose	6	7	8
Solubilidade aquosa a 25°C	14,5%	1,85%	23,2%
Estrutura molecular			

Embora as ciclodextrinas naturais sejam bastante utilizadas, apresentam algumas limitações enquanto veículos de fármacos, como é o caso da ciclodextrina β , que devido à sua estrutura rígida, apresenta uma solubilidade aquosa reduzida (Coelho, 2012). Para contornar este facto, desenvolveram-se derivados químicos das ciclodextrinas naturais de forma a melhorar não só a solubilidade e toxicidade, mas também a promover a capacidade de inclusão. Os derivados das ciclodextrinas podem ser hidrófilos, hidrófobos e/ou ionizáveis (Coelho, 2012; Oliveira *et al.*, 2009).

A nível farmacêutico, as ciclodextrinas funcionam como veículos que alteram as propriedades físico-químicas e biológicas dos fármacos através da formação de complexos de inclusão (Figura 22) (Oliveira *et al.*, 2009). A complexação é um processo dinâmico que ocorre rapidamente, na ordem dos milissegundos, e que promove a atividade do fármaco, uma vez que a ciclodextrina melhora a solubilidade do fármaco, bem como o protege das ações da luz, calor, oxidação e micro-organismos (Venturini *et al.*, 2008). As ciclodextrinas podem complexar com líquidos, sólidos e gases e a complexação pode ocorrer quer em solução quer no estado sólido (Saltão e Veiga, 2001).

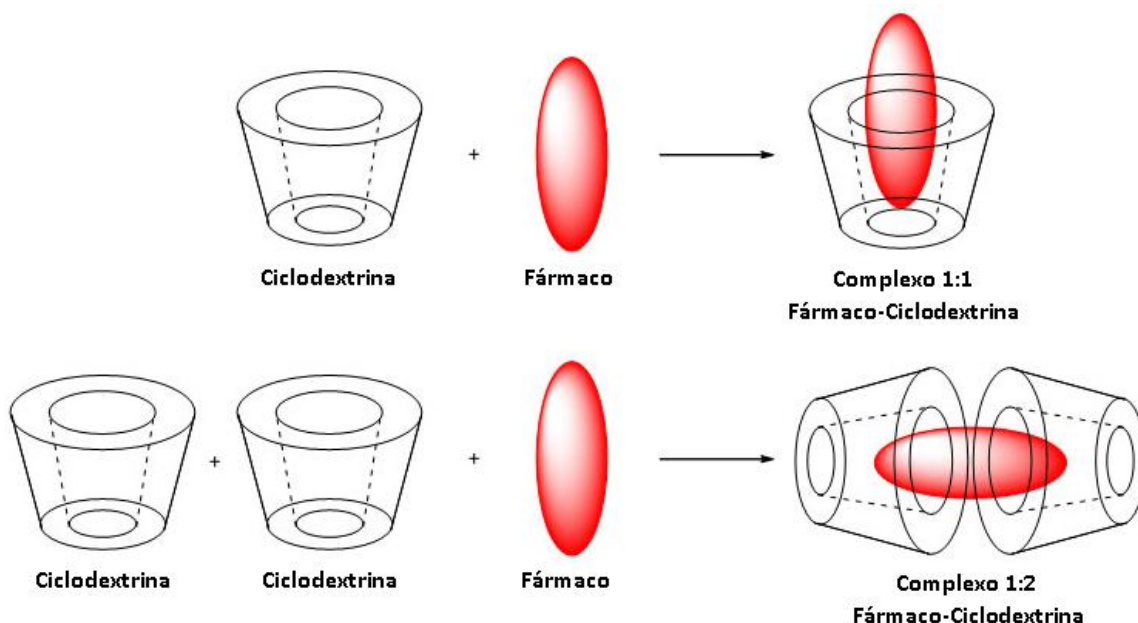


Figura 22 – Complexos fármaco-ciclodextrinas (adaptada de Oliveira *et al.*, 2009).

As principais vantagens das ciclodextrinas são: estrutura química bem definida, reduzida atividade farmacológica, reduzida atividade toxicológica, elevada estabilidade físico-química, absorção através das membranas biológicas, poucos efeitos adversos/secundários, melhoria das características organolépticas (e.g. sabor e odor), reduzidas interações entre fármacos incompatíveis, reduzida volatilidade, possibilidade de conversão de compostos líquidos em sólidos e melhoria da solubilidade, dissolução e biodisponibilidade de fármacos (Sá-Barreto e Cunha-Filho, 2008; Teixeira, 2012; Veiga e Figueiras, 2011).

As principais vantagens da utilização de ciclodextrinas em sistemas farmacêuticos para administração pulmonar são: elevada eficiência de complexação com fármacos devido ao tamanho e características da cavidade e os baixos custos de produção comparativamente a outros sistemas farmacêuticos (Smola *et al.*, 2008).

A Tabela 13 resume alguns dos estudos mais recentes descritos na literatura, bem como os principais resultados, relativos à utilização de ciclodextrinas como sistemas farmacêuticos para administração pulmonar.

Tabela 13 – Alguns estudos sobre a utilização de ciclodextrinas como sistemas de veiculação de fármacos para administração pulmonar.

Fármaco	Tipo de ciclodextrina	Resultados	Referência
Budesonida	Ciclodextrina γ	- Melhoramento das propriedades farmacêuticas e biofarmacêuticas <i>in vitro</i> , sem reduzir a deposição pulmonar	Kinnarinen <i>et al.</i> , 2003
Ciclosporina A	Ciclodextrina α	- Aumento da biodisponibilidade <i>in vitro</i> e da estabilidade	Matilainen <i>et al.</i> , 2006
Insulina	Ciclodextrina β modificada	- Redução significativa dos níveis de glicose no sangue em animais - Libertação modificada <i>in vivo</i>	Ungaro <i>et al.</i> , 2009
Itraconazol	Ciclodextrina β modificada	- Maior biodisponibilidade <i>in vitro</i> em relação à administração pulmonar de nanopartículas de fármaco	Yang <i>et al.</i> , 2010b
Sildenafil (citrato)	Ciclodextrinas α , γ e β modificada	- Aumento da biodisponibilidade - Inalação do fármaco por aerossóis	Sawatdee <i>et al.</i> , 2013
Teofilina	Ciclodextrina β	- Aumento da biodisponibilidade <i>in vitro</i>	Zhang <i>et al.</i> , 2007
Voriconazol	Ciclodextrina β modificada	- Concentrações de fármaco clinicamente significativas no local de ação	Tolman <i>et al.</i> , 2009

4.7. Toxicidade pulmonar

A toxicidade das partículas é complexa, multifatorial e dependente de propriedades físico-químicas, tais como a forma e o tamanho (Ferreira *et al.*, 2012).

Alguns estudos epidemiológicos têm confirmado uma correlação positiva entre a exposição a partículas coloidais e o aumento da morbidade e mortalidade na população em geral (Gwinn e Vallyathan, 2006).

Após a administração pulmonar, algumas partículas coloidais podem deslocar-se para locais extrapulmonares e alcançar outros órgãos, por endocitose celular, transcitose, circulação sanguínea, neural e/ou epitelial. Esta possibilidade torna estas partículas aprazíveis para a terapêutica e diagnóstico, mas ao mesmo tempo, sinónimo de potencial toxicidade (Mansour *et al.*, 2009).

Por outro lado, as partículas com tamanhos que variam entre nanómetros e micrómetros podem ser internalizadas pelos macrófagos e, em seguida, degradadas no interior das células, levando a uma possível toxicidade. De acordo com alguns autores, as partículas poliméricas sólidas podem induzir um agente citotóxico ou um efeito inflamatório, além de que possuem uma taxa lenta de degradação (e.g. PLGA) e apresentam o risco de acumulação nos pulmões (Armstrong *et al.*, 1996; Müller *et al.*, 1996). Quando presentes em grandes quantidades no pulmão, as partículas coloidais podem levar a uma diminuição da depuração por parte dos macrófagos alveolares (Weber *et al.*, 2013).

As nanopartículas podem instigar o *stress* oxidativo e a toxicidade celular em diferentes tipos de células (Marianecci *et al.*, 2011). A citotoxicidade por nanopartículas inaladas está relacionada com a libertação de mediadores aquando da fagocitose das partículas pelos macrófagos. Na fagocitose, os macrófagos reagem com espécies reativas de oxigénio, fatores de crescimento, fatores de coagulação, fatores de necrose tumoral alfa (TNF- α – *Tumor Necrosis Factor Alpha*), interleucinas e outros mediadores inflamatórios. Em seguida, estes mediadores podem conduzir a uma cascata de reações que danificam as membranas celulares e provocam granulomas, inflamação, edema, fibrose e cancro do pulmão. O potencial para provocar respostas inflamatórias depende da dose e é influenciado pelo tamanho e pela composição química das nanopartículas (Beck-Speier *et al.*, 2005; Bolande *et al.*, 2011).

Os efeitos adversos para a saúde são dominados por sintomas pulmonares. A inalação excessiva de partículas ultrafinas está associada à exacerbação dos sintomas respiratórios e à mortalidade nos portadores de DPOC (Marianecci *et al.*, 2011). Em

menor escala, a absorção sistêmica de partículas coloidais pode causar doenças cardiovasculares, bem como a disseminação dos danos causados pela toxicidade para órgãos secundários (Weber *et al.*, 2013).

Por tudo isto, é importante e necessário o desenvolvimento de critérios que permitam a extrapolação de dados toxicológicos em sistemas biológicos, a fim de se poder prever o risco de resultados adversos em humanos (Ferreira *et al.*, 2012).

V. Conclusão

O sistema respiratório está, através do nariz e da boca, em contacto direto com o meio ambiente, representando desta forma uma porta de entrada para diversos agentes terapêuticos.

Com o aumento da incidência de doenças pulmonares, com elevadas taxas de mortalidade e morbidade, a administração pulmonar de fármacos tem ganho especial importância no tratamento de diversas patologias por esta via não invasiva.

Dos sistemas farmacêuticos para administração pulmonar existentes, os sistemas coloidais apresentam vantagens sobre os sistemas convencionais, nomeadamente a libertação prolongada dos fármacos e a libertação específica nos alvos terapêuticos, que resultam numa maior biodisponibilidade dos fármacos e numa maior eficiência terapêutica.

Além disso, os sistemas coloidais conseguem veicular fármacos pouco hidrófilos, ou mesmo hidrófobos, e macromoléculas, bem como os proteger do metabolismo precoce e da degradação enzimática.

Apesar do início de ação rápido e do sucesso das aplicações, a utilização da via pulmonar para a libertação de fármacos veiculados em transportadores coloidais nem sempre tem sido aproveitada da melhor forma.

Embora possuam diversas vantagens, as micropartículas poliméricas têm apresentado uma entrada lenta no mercado farmacêutico. As formulações atualmente usadas funcionam como sistemas de libertação controlada de fármacos.

As microemulsões constituem sistemas farmacêuticos promissores pela sua versatilidade. Permitem a solubilização de fármacos e funcionam como veículos de libertação controlada.

Nos últimos anos, as micelas têm sido utilizadas, sobretudo, na veiculação de fármacos pouco solúveis em água. Destacam-se dos outros sistemas pela sua elevada estabilidade.

Os lipossomas são vetores altamente biocompatíveis, desprovidos de toxicidade e com propriedades similares às biomembranas. Estas características aliadas à capacidade de

transportar variados fármacos fazem dos lipossomas um dos sistemas mais promissores ao nível da solubilização, transporte e libertação de fármacos.

As nanopartículas em geral apresentam um elevado potencial terapêutico e aplicabilidade farmacêutica. No entanto, as nanopartículas lipídicas destacam-se pela sua adesão, acumulação e retenção no pulmão, que resulta num melhoramento dos efeitos terapêuticos e consequentemente numa maior adesão terapêutica por parte do doente.

Por fim, as ciclodextrinas constituem uma nova classe de excipientes farmacêuticos com capacidade de formar complexos de inclusão reversíveis com moléculas apolares. O facto de encapsularem fármacos tem conseguido melhorias na biodisponibilidade, estabilidade e segurança de inúmeras formulações farmacêuticas. Além disso, gozam da possibilidade de conjugar as suas potencialidades com outros sistemas terapêuticos como os lipossomas ou as nanopartículas.

Atualmente, o número de excipientes para inalação é muito limitado. Apenas alguns açúcares, aminoácidos, lípidos e PEGs estão aprovados pela FDA para o efeito, o que representa uma limitação no desenvolvimento de novos sistemas farmacêuticos para administração pulmonar.

Relativamente à toxicidade, pensa-se que a inalação de partículas ultrafinas está associada a níveis elevados de inflamação pulmonar, edema, fibrose e cancro do pulmão de uma forma dose-dependente. Estes efeitos são mediados principalmente por *stress* oxidativo, que envolve a geração de espécies reativas de oxigénio.

VI. Referências bibliográficas

A.D.A.M. Images. [Em linha]. Disponível em <<http://www.adamimages.com/>>. [Consultado em 09/01/2014].

Alipour, S.; Montaseri, H. e Tafaghodi, M. (2010). Preparation and characterization of biodegradable paclitaxel loaded alginate microparticles for pulmonary delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 81(2), pp. 521-529.

Amantéa, S. *et al.* (2003). Acesso rápido à via aérea – Artigo de revisão. *Jornal de Pediatria*, 79(2), pp. 127-138.

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

Armstrong, D. *et al.* (1996). Poly-(D,L-lactic acid) microspheres incorporating histological dyes for intra-pulmonary histopathological investigations. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 48, pp. 258-262.

Azarmi, S. *et al.* (2006). Formulation and cytotoxicity of doxorubicin nanoparticles carried by dry powder aerosol particles. *International Journal of Pharmaceutics*, 319, pp.155-161.

Baginski, L. *et al.* (2012). *In vitro* and *in vivo* characterisation of PEG-lipid-based micellar complexes of salmon calcitonin for pulmonary delivery. *Pharmaceutical Research*, 29, pp. 1425-1434.

Bains, B. *et al.* (2010). *In vitro* reporter gene transfection via plasmid DNA delivered by metered dose inhaler. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 99(7), pp. 3089-3099.

Beck-Speier, I. *et al.* (2005). Oxidative stress and lipid mediators induced in alveolar macrophages by ultrafine particles. *Free Radical Biology & Medicine*, 38, pp. 1080-1092.

Blunk, D. *et al.* (2006). New speciality surfactants with natural structural motifs. *The Royal Society of Chemistry and the Centre National de la Recherche Scientifique*, 30, pp. 1705-1717.

Bolande, S. *et al.* (2011). Nanoparticles used in medical applications for the lung: hopes for nanomedicine and fears for nanotoxicity. *Journal of Physics: Conference Series*, 304(1), pp. 1-9.

Borges, I. (2012). Desenvolvimento de novos sistemas terapêuticos para o tratamento da tuberculose. [Em linha]. Disponível em <<https://sapientia.ualg.pt/bitstream/10400.1/3004/1/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20de%20Mestrado.pdf>>. [Consultado em 01/02/2014].

Burch, L. e Picher, M. (2006). E-NTPDases in human airways: Regulation and relevance for chronic lung diseases. [Em linha]. Disponível em <<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11302-006-9001-7/fulltext.html>>. [Consultado em 02/02/2014].

Chakrapani, A. (2006). Processing and characterization of polymer microparticles for controlled drug delivery systems. [Em linha]. Disponível em <https://etd.ohiolink.edu/rws_etd/document/get/osu1164827297/inline>. [Consultado em 14/06/2014].

Chhayani, R.; Khachar, K. e Patel, P. (2013). Recent advances in pulmonary drug delivery system. *Pharma Science Monitor*, 4(3), pp. 432-457.

Chuan, J. *et al.* (2013). Enhanced rifampicin delivery to alveolar macrophages by solid lipid nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research*, 15(5).

Clancy, J. *et al.* (2013). Phase II studies of nebulised arikace in CF patients with *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Thorax*, 68, pp. 818-825.

ClinicalTrials.gov. [Em linha]. Disponível em <<http://clinicaltrials.gov/ct2/home>>. [Consultado em 22/06/2014].

Coelho, C. (2012). Desenvolvimento de uma formulação contendo um anti-inflamatório e ciclodextrinas. [Em linha]. Disponível em <<https://ubithesis.ubi.pt/bitstream/10400.6/1122/1/Catarina%20Coelho.pdf>>.

[Consultado em 01/02/2014].

Conceição, A. *et al.* (2010). Lipossomas: vectores atractivos e versáteis para o direccionamento de (bio)fármacos. *Revista da Faculdade de Ciências da Saúde*, pp. 168-178.

Craparo, E. *et al.* (2011). Phospholipid–polyaspartamide micelles for pulmonary delivery of corticosteroids. *International Journal of Pharmaceutics*, 406, pp. 135-144.

Cunha-Filho, M. e Sá-Barreto, L. (2007). Utilização de ciclodextrinas na formação de complexos de inclusão de interesse farmacêutico. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 28(1), pp. 1-9.

Dailey, L. *et al.* (2006). Investigation of the proinflammatory potential of biodegradable nanoparticle drug delivery system in the lung. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 215, pp. 100-108.

Dailey, L. *et al.* (2003). Nebulization of biodegradable nanoparticles – impact of nebulizer technology and nanoparticle characteristics on aerosol features. *Journal of Controlled Release*, 86, pp. 131-144.

Damasceno, B. *et al.* (2011). Microemulsão: um promissor carreador para moléculas insolúveis. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 32(1), pp. 9-18.

Daniher, D. e Zhu, J. (2008). Dry powder platform for pulmonary drug delivery. *Particuology*, pp. 225-238.

Des Jardins, T. (2008). The Anatomy and Physiology of the Respiratory System. *In: Des Jardins, T. (Ed). Cardiopulmonary Anatomy and Physiology – Essentials of Respiratory Care*. 5th Edition. Illinois, Cengage Learning, pp. 3-66.

Dhanda, D. *et al.* (2013). Supercritical fluid technology based large porous celecoxib-PLGA microparticles do not induce pulmonary fibrosis and sustain drug delivery and efficacy for several weeks following a single dose. *Journal of Controlled Release*, 168, pp. 239-250.

Domínguez, A. *et al.* (2014). Afecciones neurológicas y barrera hematoencefálica - limitaciones y estrategias para la liberación de fármacos al cerebro. *Revista de Neurología*, 58(5), pp. 213-224.

Edwards, D. *et al.* (1997). Large porous particles for pulmonary drug delivery. *Science*, 276, pp. 1868-1871.

Fadista, A. (2011). Insulinoterapia: vias e sistemas de administração alternativos. [Em linha]. Disponível em <https://sapientia.ualg.pt/bitstream/10400.1/1881/1/Disserta%C3%A7%C3%A3o_FilipaFadista.pdf>. [Consultado em 01/02/2014].

Farmacopeia Portuguesa 9.8 (2014). [CDROM]. Edição Oficial, Ministério da Saúde, INFARMED. IBM PC e compatível.

Ferreira, A.; Cemlyn-Jones, J. e Cordeiro, C. (2012). Nanoparticles, nanotechnology and pulmonary nanotoxicology. *Revista Portuguesa de Pneumologia*, 19(1), pp. 28-37.

Formariz, T. *et al.* (2005). Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 41(3), pp. 301-313.

Franco, N. (2013). Nanopartículas e suas aplicações em ciências farmacêuticas: o estado da arte. [Em linha]. Disponível em <<http://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/4180/1/TM-24086.pdf>>. [Consultado em 30/03/2014].

Gaber, N. *et al.* (2006). Characterization of polymeric micelles for pulmonary delivery of beclomethasone dipropionate. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 6, pp. 3095-3101.

Gaspar, M; Bakowsky, U. e Ehrhardt, C. (2008). Inhaled liposomes – current strategies and future challenges. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 4, pp.245-257.

Gilani, K. *et al.* (2011). Development of respirable nanomicelle carriers for delivery of amphotericin B by jet nebulization. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 100(1), pp. 252-259.

Gill, K.; Nazzal, S. e Kaddoumi, A. (2011). Paclitaxel loaded PEG₅₀₀₀-DSPE micelles as pulmonary delivery platform: Formulation characterization, tissue distribution, plasma pharmacokinetics, and toxicological evaluation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 79, pp. 276-284.

Gracias, V. e Freese, M. (2014). Pulmonary Anatomy. *In: Yelon, J. e Luchette, F. (Eds.). Geriatric Trauma and Critical Care. Part I.* New York, Springer, pp. 21-27.

Guthi, J. *et al.* (2009). MRI-visible micellar nanomedicine for targeted drug delivery to lung cancer cells. *Molecular Pharmaceutics*, 7(1), pp. 32-40.

Gwinn, M. e Vallyathan, V. (2006). Nanoparticles: health effects – pros and cons. *Environmental Health Perspectives*, 114(12), pp. 1818-1825.

Huang, Y. e Wang, C. (2006). Pulmonary delivery of insulin by liposomal carriers. *Journal of Controlled Release*, 113(1), pp. 9-14.

INFARMED. [Em linha]. Disponível em <<http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED>>. [Consultado em 06/01/2014].

Jaafar-Maalej, C. *et al.* (2011). Beclomethasone-loaded lipidic nanocarriers for pulmonary drug delivery: preparation, characterization and *in vitro* drug release. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 11(3), pp.1841-1851.

Jaspart, S. *et al.* (2007). Solid lipid microparticles as a sustained release system for a pulmonary drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 65, pp. 47-56.

Junqueira, L. e Carneiro, J. (2004). Aparelho Respiratório. *In*: Junqueira, L. e Carneiro, J. (Eds.). *Histologia Básica*. 10ª Edição. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, pp. 339-358.

Kamalaporn, H. *et al.* (2014). Aerosolized liposomal amphotericin B – a potential prophylaxis of invasive pulmonary aspergillosis in immunocompromised patients. *Pediatric Pulmonology*, 49, pp.574-580.

Karhale, A. *et al.* (2012). Pulmonary drug delivery system. *International Journal of PharmTech Research*, 4(1), pp. 293-305.

Kinnarinen, T. *et al.* (2003). Pulmonary deposition of a budesonide/ γ -cyclodextrin complex in vitro. *Journal of Controlled Release*, 90(2), pp. 197-205.

Kore, G. *et al.* (2014). Polymeric micelle as multifunctional pharmaceutical carriers. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 14(1), pp. 288-307.

Kreyling, W.; Semmler-Behnke, M. e Moller, W. (2006). Ultrafine particle–lung interactions: does size matter? *Journal of Aerosol Medicine*, 19, pp. 74–83.

Kreuter, J. (2007). Nanoparticles – a historical perspective. *International Journal of Pharmaceutics*, 331, pp. 1-10.

Kwatra, S.; Taneja, G. e Nasa, N. (2012). Alternative routes of drug administration – transdermal, pulmonary & parenteral. *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(4), pp. 409-426.

Lai, S.; Wang, Y. e Hanes, J. (2009). Mucus-penetrating nanoparticles for drug and gene delivery to mucosal tissues. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61, pp. 158-171.

Lee, C. *et al.* (2013). Long-acting inhalable chitosan-coated poly(lactid-co-glycolic acid) nanoparticles containing hydrophobically modified exendin-4 for treating type 2 diabetes. *International Journal of Nanomedicine*, 8, pp. 2975-2983.

Levitzky, M. (2012). Fisiologia pulmonar *In: Raff, H. e Levitzky, M. (Eds.). Fisiologia Médica – Uma abordagem Integrada*. 1ª Edição. Lange, McGraw Hill, pp. 305 - 398.

Liu, J. *et al.* (2008). Solid lipid nanoparticles for pulmonary delivery of insulin. *International Journal of Pharmaceutics*, 356(1-2), pp. 333-344.

Marianecci, C. *et al.* (2011). Pulmonary delivery: innovative approaches and perspectives. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 2, pp. 567-575.

Martins, S. *et al.* (2007). Lipid-based colloidal carriers for peptide and protein delivery – liposomes versus lipid nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*, 2(4), pp. 595-607.

Matilainen, L. *et al.* (2006). *In vitro* evaluation of the effect of cyclodextrin complexation on pulmonary deposition of a peptide, cyclosporin A. *International Journal of Pharmaceutics*, 318(1-2), pp. 41-48.

Matos, C. e Moutinho, C. (2011). Lipossomas. *In: Souto, E. B. e Lopes, C. M. (Eds.). Novas Formas Farmacêuticas para Administração de Fármacos*. Porto, Edições Universidade Fernando Pessoa, pp. 237-270.

Mansour, H.; Rhee, Y. e Wu, X. (2009). Nanomedicine in pulmonary delivery: review. *International Journal of Nanomedicine*, pp. 299-319.

Martonen, T.; Rosati, J. e Isaacs, K. (2013). Modeling deposition of inhaled particles. In: Ruzer, L. e Harley, N. (Eds.). *Aerosols Handbook Measurement, Dosimetry and Health Effects*. 2ª Edição, CRC Press, Boca Raton.

Mendes, J. (2011). Desenvolvimento e avaliação de micropartículas poliméricas contendo resveratrol. [Em linha]. Disponível em <http://www.unicentro.br/posgraduacao/mestrado/farmacia/dissertacoes/turma1-uepg/resumo_Jessica.pdf>. [Consultado em 29/03/2014].

Morimoto, K. *et al.* (2000). Gelatin microspheres as a pulmonary delivery system: evaluation of salmon calcitonin absorption. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 52(6), pp. 611-617.

Müller, R. *et al.* (1996). Cytotoxicity of magnetite loaded polylactide, polylactide/glycolide particles and solid lipid nanoparticles (SLN). *International Journal of Pharmaceutics*, 138, pp. 85-94.

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

Müller, R.; Shegokar, R. e Keck, C. (2011). 20 years of lipid nanoparticles (SLN and NLC): present state of development and industrial applications. *Current Drug Discovery Technologies*, 8(3), pp. 207-227.

Nahar, K. *et al.* (2014). Starch-coated magnetic liposomes as an inhalable carrier for accumulation of fasudil in the pulmonary vasculature. *International Journal of Pharmaceutics*, 464, pp. 185-195.

Naikwade, S. e Bajaj, A. (2009). Preparation and *in vitro* evaluation of budesonide spray dried microparticles for pulmonary delivery. *Scientia Pharmaceutica*, 77(2), pp. 419-441.

Oberdörster, G. (1988). Lung clearance of inhaled insoluble and soluble particles. *Journal of Aerosol Medicine*, 1, pp. 289-330.

Oliveira, R.; Santos, D. e Coelho, P. (2009). Ciclodextrinas: formação de complexos e sua aplicação farmacêutica. *Revista da Faculdade de Ciências da Saúde*, pp. 70-83.

Olsson, B. *et al.* (2011). Pulmonary drug metabolism, clearance, and absorption. *In: Smyth, H. D. C. e Hickey, A. J. (Eds.). Controlled Pulmonary Drug Delivery*. New York, Springer, pp. 21-50.

Pandey *et al.* (2003). Poly (DL-lactide-co-glycolide) nanoparticle-based inhalable sustained drug delivery system for experimental tuberculosis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52(6), pp. 981-986.

Patil, J. e Sarasija, S. (2012). Pulmonary drug delivery strategies: a concise, systematic review. *Lung India*, 29(1), pp. 44-49.

Pereira, L. (2007). Bases para a escolha adequada dos dispositivos inalatórios. [Em linha]. Disponível em <http://www.sbpt.org.br/downloads/arquivos/COM_ASMA/Rev_Dispositivos_Inalat_Dr_Luiz_Pereira.pdf>. [Consultado em 12/06/2014].

Prendergast, T. e Ruoss, S. (2007). Doença pulmonar. *In: McPhee, S. J. e Ganong, W. F. (Eds.). Fisiopatologia da Doença*. 5ª edição. Lange, McGraw Hill, pp. 187- 220.

Qin, C. *et al.* (in press). Inhibition of metastatic tumor growth and metastasis via targeting metastatic breast cancer by chlorotoxin-modified liposomes. *Molecular Pharmaceutics*. Disponível em <<http://pubs.acs.org/doi/ipdf/10.1021/mp400691z>>.

Qu, D. *et al.* (2014). Triterpene-loaded microemulsion using *Coix lacryma-jobi* seed extract as oil phase for enhanced antitumor efficacy: preparation and *in vivo* evaluation. *International Journal of Nanomedicine*, 9, pp.109-119.

Ramesh *et al.* (2001). Successful treatment of primary and disseminated human lung cancers by systemic delivery of tumor suppressor genes using an improved liposome vector. *Molecular Therapy*, 3, pp. 337-350.

Reis, C. (2011). Micro e nanopartículas. In: Souto, E. B. e Lopes, C. M. (Eds.). *Novas Formas Farmacêuticas para Administração de Fármacos*. Porto, Edições Universidade Fernando Pessoa, pp. 199-236.

Rossi, C. *et al.* (2007). Microemulsões: uma abordagem básica e perspectivas para aplicabilidade industrial. *Revista Universidade Rural*, 26(1-2), pp. 45-66.

Sá-Barreto, L. e Cunha-Filho, M. (2008). Ciclodextrina: importante excipiente farmacêutico funcional. *Latin American Journal of Pharmacy*, 27(4), pp. 629-636.

Saltão, R. e Veiga, F. (2001). Ciclodextrinas em novos sistemas terapêuticos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 37(1), pp. 1-17.

Sanna, V. *et al.* (2003). Preparation and *in vivo* toxicity study of solid lipid microparticles as carrier for pulmonary administration. *AAPS PharmSciTech*, 5(2), pp. 1-7.

Sawatdee, S. *et al.* (2013). Sildenafil citrate monohydrate – cyclodextrin nanosuspension complexes for use in metered-dose inhalers. *International Journal of Pharmaceutics*, 455(1-2), pp. 248-258.

Scalia, S. *et al.* (2013). Quercetin solid lipid microparticles – a flavonoid for inhalation lung delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49, pp. 278-285.

Schaffazick, S. *et al.* (2003). Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. *Química Nova*, 26(5), pp. 726-737.

Seong, J. *et al.* (2006). Polyethylenimine-based antisense oligodeoxynucleotides of IL-4 suppress the production of IL-4 in a murine model of airway inflammation. *Journal of Gene Medicine*, 8, pp. 314-323.

Serisier, D. *et al.* (2013). Inhaled, dual release liposomal ciprofloxacin in non-cystic fibrosis bronchiectasis (ORBIT-2) – a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Thorax*, 68, pp. 812-817.

Shahiwala, A. e Misra, A. (2004). Pulmonary absorption of liposomal levonorgestrel. *AAPS PharmSciTech*, 5(1), pp. 96-100.

Shaikh, S. *et al.* (2010). Recent advances in pulmonary drug delivery system: a review. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 2(4), pp. 27-31.

Shan, Z. *et al.* (2014). Formulation and evaluation of novel reverse microemulsions containing salmon calcitonin in hydrofluoroalkane propellants. *International Journal of Pharmaceutics*, 466, pp. 390-399.

Silva, A. *et al.* (2011). Nanopartículas Lipídicas. In: Souto, E. B. e Lopes, C. M. (Eds.). *Novas Formas Farmacêuticas para Administração de Fármacos*. Porto, Edições Universidade Fernando Pessoa, pp. 297-334.

Silva, A. *et al.* (2013). Nanoparticle-based therapy for respiratory diseases. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 85(1), pp. 137-146.

Silva, L. (2011). Desenvolvimento de microesferas lipídicas contendo quercetina para a administração pulmonar visando o tratamento da asma. [Em linha]. Disponível em <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/95565/295316.pdf?sequence=1>>. [Consultado em 23/03/2014].

Silva, M. *et al.* (2001). Aerosolterapia nas doenças respiratórias em equinos. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 38(2), pp. 88-96.

Simões, S.; Ribeiro, H. e Almeida, A. (2011). Micro e Nanoemulsões. *In: Souto, E. B. e Lopes, C. M. (Eds.). Novas Formas Farmacêuticas para Administração de Fármacos.* Porto, Edições Universidade Fernando Pessoa, pp. 271-296.

Smola, M.; Vandamme, T. e Sokolowski, A. (2008). Nanocarriers as pulmonary drug delivery systems to treat and to diagnose respiratory and non respiratory diseases. *International Journal of Nanomedicine*, 3(1), pp. 1-19.

Soppimath, K. *et al.* (2001). Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. *Journal of Controlled Release*, 70, pp. 1-20.

Souto, E. e Müller, R. (2007). Lipid nanoparticles (SLN and NLC) for drug delivery. *In: Domb, J. et al. (Eds.). Nanoparticles for Pharmaceutical Applications.* American Scientific Publishers, pp. 103-122.

Souto, E. e Müller, R. (2011). Solid lipid nanoparticles and nanostructures lipid carriers – lipid nanoparticles for medicals and pharmaceuticals. *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*, 23, pp. 313-328.

Souza, L. *et al.* (2011). Development of topotecan loaded lipid nanoparticles for chemical stabilization and prolonged release. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 79, pp. 189-196.

Suarez, S. *et al.* (2001). Respirable PLGA microspheres containing rifampicin for the treatment of tuberculosis: screening in an infectious disease model. *Pharmaceutical Research*, 18(9), pp. 1315-1319.

Sunitha, R.; Suria, K. e Prasanna, P. (2011). Drug delivery and its developments for pulmonary system. *International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, 1(1), pp. 66-82.

Swaay, D. e deMello, A. (2013). Microfluidic methods for forming liposomes. *Lab Chip*, 13, pp. 752-767.

Swaminathan, J. *et al.* (2014). Encapsulation into PEG-liposomes does not improve the bioavailability of pulmonary delivered salmon calcitonin. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 27(1), pp. 1-11.

Talegaonkar, S. *et al.* (2014). Microemulsions: a novel approach to enhanced drug delivery. *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*, 2(3), pp. 238-257.

Taratula, O. *et al.* (2013). Nanostructured lipid carriers as multifunctional nanomedicine platform for pulmonary co-delivery of anticancer drugs and siRNA. *Journal of Controlled Release*, 171(3), pp. 349-357.

Teixeira, A. (2012). Interação de fármacos com ciclodextrinas: formação de complexos de inclusão em solução. [Em linha]. Disponível em <http://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/3573/6/T_11657.pdf>. [Consultado em 01/02/2014].

Todoroff, J. e Vanbever, R. (2011). Fate of nanomedicines in the lungs. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 16, pp. 246-254.

Tolman, J. *et al.* (2009). Characterization and pharmacokinetic analysis of aerosolized aqueous voriconazole solution. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 72, pp. 199-205.

Torchilin, V. (2007). Micellar nanocarriers – pharmaceutical perspectives. *Pharmaceutical Research*, 24, pp. 1-16.

Tortora, G. e Grabowski, S. (2003). The Respiratory System. In: Tortora, G. e Grabowski, S. (Eds.). *Principles of Anatomy and Physiology*. 10^a Edição. Wiley, Denver, pp. 805-850.

Tortora, G. e Derrickson, B. (2012). O Sistema Respiratório. In: Tortora, G. e Derrickson, B. (Eds.). *Corpo Humano – Fundamentos de Anatomia e Fisiologia*. 8^a Edição. Artmed, pp. 459 – 485.

Trindade, S. *et al.* (2007). Methods for studying mucociliary transport. *Revista Brasileira de otorrinolaringologia*, 73(5), pp. 704-712.

Umeyor, C. *et al.* (2012). Solid lipid microparticles (SLM) – an effective lipid based technology for controlled drug delivery. *American Journal of Pharmtech Research*, 2(6).

Ungaro, F. *et al.* (2009). Insulin-loaded PLGA/cyclodextrin large porous particles with improved aerosolization properties – *in vivo* deposition and hypoglycaemic activity after delivery to rats lungs. *Journal of Controlled Release*, 135, pp. 25-34.

Ungaro, F. *et al.* (2012). Engineered PLGA nano and micro-carriers for pulmonary delivery – challenges and promises. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 64, pp. 1217-1235.

Veiga, F. e Figueiras, A. (2011). Liberação modificada por inclusão do fármaco em ciclodextrinas. In: Souto, E. B. e Lopes, C. M. (Eds.). *Novas Formas Farmacêuticas para Administração de Fármacos*. Porto, Edições Universidade Fernando Pessoa, pp. 347-376.

Venturini, C. *et al.* (2008). Propriedades e aplicações recentes das ciclodextrinas. *Química Nova*, 31(2), pp. 360-368.

Videira, M. (2008). Nanopartículas lipídicas como sistemas transportadores de fármacos para administração pulmonar. [Em linha]. Disponível em <repositorio.ul.pt/bitstream/10451/271/1/16645_MAVideira_Tese.pdf>. [Consultado em 29/03/2014].

Villanova, J. e Cunha, A. (2010). Aplicações farmacêuticas de polímeros. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 20(1), pp. 51-64.

Wang, Y. *et al.* (2014). The impact of pulmonary diseases on the fate of inhaled medicines – a review. *International Journal of Pharmaceutics*, 461, pp. 112-128.

Weber, S.; Zimmer, A. e Pardeike, J. (2013). Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) for pulmonary application – a review of the state of the art. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 86, pp. 7-22.

Willis, L.; Hayes, D. e Mansour, H. (2012). Therapeutic liposomal dry powder inhalation aerosols for targeted lung delivery. *Lung*, 190, pp. 251-262.

Yamamoto, H. *et al.* (2005). Surface-modified PLGA nanosphere with chitosan improved pulmonary delivery of calcitonin by mucoadhesion and opening of the intercellular tight junctions. *Journal of Controlled Release*, 102(2), pp. 373-381.

Yang, W. *et al.* (2010b). *In vitro* characterization and pharmacokinetics in mice following pulmonary delivery of itraconazole as cyclodextrin solubilized solution. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 39(5), pp. 336-347.

Yang, Y. *et al.* (2010a). Spray-dried microparticles containing polymeric micelles encapsulating hematoporphyrin. *The AAPS Journal*, 12(2), pp. 138-146.

Yas, A. (2013). Solid lipid microparticles for controlling theophylline pulmonary delivery and local retention. [Em linha]. Disponível em <<http://www.copharm.uobaghdad.edu.iq/uploads/activities%202014/phd%20thesis%202013/ali%20ahmed.pdf>>. [Consultado em 16/06/2014].

Zahoor, A.; Sharma, S. e Khuller, G. (2005). Inhalable alginate nanoparticles as antitubercular drug carriers against experimental tuberculosis. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26, pp. 298-303.

Zhang, W. *et al.* (2007). Preparation and characterization of carboxymethyl chitosan and β -cyclodextrin microspheres by spray drying. *Drying Technology: An International Journal*, 26(19), pp. 108-115.