

Marina Isabel Costa Marques

ESTRATÉGIAS PARA ADMINISTRAÇÃO DE FÁRMACOS POUCO SOLÚVEIS

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

Setembro 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Marina Isabel Costa Marques

ESTRATÉGIAS PARA ADMINISTRAÇÃO DE FÁRMACOS POUCO SOLÚVEIS

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

Setembro 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Marina Isabel Costa Marques, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2010130815, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

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

Coimbra, 7 de Setembro de 2015.

(Marina Isabel Costa Marques)

Agradecimentos

No final de um ciclo tão determinante como este, não posso deixar de (tentar) agradecer a todos os que me acompanharam e contribuíram ativamente para o sucesso desta etapa.

A Deus, porque sem Ele nada sou e nada posso fazer.

À minha família, em particular aos meus pais e irmão pelo incentivo, apoio e amor incondicional demonstrados a cada dia.

Aos professores da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, pela proficiência na transmissão do conhecimento e da importância de alargar os meus horizontes.

Aos meus amigos, companheiros de todas as horas, que me suportam e fazem crescer diariamente. Em particular, à Juliana, ao Isaac, ao João Pedro, à Camila, à Inês e ao Carlos, porque os anos passam, mas eles permanecem.

À Professora Doutora Ana Rita Figueiras, minha tutora, pelo acompanhamento e por toda disponibilidade demonstrada.

Índice

Acrónimos.....	2
Resumo	4
Abstract.....	4
1. Introdução.....	5
2. Solubilidade.....	6
2.1 Caraterização.....	6
2.2 Sistema de Classificação Biofarmacêutico	7
2.3 Estratégias para aumentar a solubilidade aquosa dos fármacos	8
3. Novos Sistemas Terapêuticos	10
3.1 Lipossomas	10
3.2 Micelas Poliméricas.....	14
3.3 Nanopartículas Lipídicas.....	16
3.4 Ciclodextrinas.....	21
Conclusões e Perspetivas Futuras	24
Referências Bibliográficas	26
Anexos	29

Acrónimos

ALB – Albendazol

AED – Fármacos Anti-epiléticos

AUC – Área sob a curva

BCS – Sistema de Classificação Biofarmacêutico

CD – Ciclodextrinas

CGTase – Ciclodextrina-glicosil-transferase

C_{max} – Concentração Máxima

CMC – Concentração Micelar Crítica

DZP – Diazepam

F – Biodisponibilidade Relativa

FDA – *Food and Drug Administration*

GRAS – *Generally Regarded as Safe*

HCL – Ácido Clorídrico

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

HMG-CoA – 3-hidroxi-3-metil-glutaril coenzima A

K_c – Constante de Complexação

LC – Cromatografia líquida

LDC – Conjugados fármaco-lípido

MPEG-PCL – Micelas de monometoxi poli(etilenoglicol)-poli(ε-caprolactona)

MS – Espectrofotometria de massa

NLC – Transportadores Lipídicos Nanoestruturados

NMP – Nimodipina

NMD-Lipo – Lipossomas como sistemas transportadores de nimodipina

PEG – Polietilenoglicol

PEO – Poli(óxido de etileno)

PPO – Poli(óxido de propileno)

Qu – Quercetina

Qu-M – Micelas como sistemas transportadores de quercetina

SE – *Status Epilepticus*

SLN – Nanopartículas Lipídicas Sólidas

SNA – Sistema Nervoso Autônomo

SNC – Sistema Nervoso Central

SV – Sinvastatina

T_{1/2} – Tempo de semivida

TLE – Epilepsia do Lobo Temporal

T_{max} – Tempo que demora a atingir a C_{max}

TRM – Tempo de residência médio

Resumo

A solubilidade é um dos parâmetros que influencia a dissolução e a absorção dos fármacos. Fármacos pouco solúveis apresentam baixa biodisponibilidade e consequente ausência de efeito terapêutico, sendo muitas vezes necessário o aumento da dose e da frequência de administração, o que origina o aparecimento de efeitos secundários e uma baixa adesão à terapêutica. Diversas estratégias têm sido desenvolvidas com o objetivo de promover um aumento da solubilidade, já que esta constitui uma limitação comum à maioria dos fármacos. De entre as estratégias referidas destaca-se a utilização de novos sistemas terapêuticos como transportadores de fármacos.

Além da eficácia demonstrada no aumento da solubilidade dos fármacos, estes sistemas apresentam outras características extremamente vantajosas, nomeadamente ao protegerem os fármacos instáveis dos diversos tipos de degradação, ao reduzirem a toxicidade de fármacos pouco seguros, ao possibilitarem o transporte de fármacos para locais específicos e ao permitirem a sua libertação controlada, conduzindo a uma notória otimização das terapêuticas.

Abstract

The solubility of a drug is one of the parameters that influences its dissolution and absorption. Poorly soluble drugs show low bioavailability, leading to lack of therapeutic effect and an increase in the dose and frequency of administration. This leads to the appearance of side effects and a low adherence to therapy. Several strategies have been developed with the objective of promoting an increase in solubility, since this is a common limitation of most drugs. Among these strategies the use of new therapeutic systems as drug carriers stands out.

In addition to the efficacy to increase the solubility of drugs, these systems have other highly advantageous characteristics, in particular, they can protect unstable drugs against many types of degradation, promote the toxicity reduction of unsafe drugs, and delivery the agents to specific locations allowing their controlled release, leading to a noticeable optimization of therapies.

I. Introdução

Um dos principais alvos da indústria farmacêutica é desenvolver formulações eficazes, com elevada biodisponibilidade, estabilidade e segurança. Durante o desenvolvimento farmacêutico, são estudados todos os parâmetros da formulação de modo a garantir uma correta absorção e distribuição do princípio ativo após a sua administração. A biodisponibilidade dos fármacos depende de diversos factores, entre eles a sua solubilidade (1, 2).

A reduzida solubilidade tem sido uma limitação real e inerente a grande parte dos fármacos. Como tal, o aumento da sua solubilidade é uma prioridade atual e constitui uma das etapas mais exigente do desenvolvimento farmacêutico (1).

Dada a pertinência desta questão, foi realizada a presente monografia, tendo como principal objetivo a exposição de estratégias que sejam eficientes no aumento da solubilidade aquosa de fármacos pouco solúveis. De referir que a informação selecionada e apresentada se restringe à administração por via oral, uma vez que é a mais utilizada e a que apresenta maior adesão terapêutica (2).

A monografia inicia-se com uma breve abordagem acerca da solubilidade, sua definição, relação com a dissolução e relevância para a absorção dos fármacos. Posteriormente, é realizada referência a um sistema de classificação de fármacos que tem por base precisamente a sua solubilidade, e enumera algumas das estratégias usadas pela indústria farmacêutica para o aumento da solubilidade dos fármacos, sendo apresentados diversos estudos científicos demonstrativos da eficácia da utilização dos novos sistemas terapêuticos como transportadores de fármacos, uma das estratégias referidas. Neste enquadramento, foram selecionados quatro tipos de sistemas distintos, os lipossomas, constituídos por uma ou mais bicamadas de fosfolípidos, as micelas poliméricas, que se definem como aglomerados de copolímeros anfífilos, as nanopartículas lipídicas, que resultam da dispersão de uma fase lipídica numa solução de tensoativo, e as ciclodextrinas, que são oligossacarídeos cíclicos. Apesar das diferentes constituições, todos apresentam em comum a capacidade de permitir a incorporação de fármacos, assegurando o aumento da sua solubilidade e o seu transporte pelo organismo. Desta forma, serão abordadas as suas características, vantagens e eficácia demonstrada para um fármaco modelo em específico. A presente monografia termina com uma conclusão e algumas perspetivas futuras relativamente ao assunto em questão.

2. Solubilidade

2.1 Caracterização

A solubilidade de uma substância corresponde à quantidade que é necessário dissolver da mesma para que seja atingido um equilíbrio entre a quantidade dissolvida e por dissolver, a uma determinada temperatura. Por outras palavras, é a quantidade máxima de soluto que é possível dissolver até se formar uma dispersão molecular homogénea, ou seja, até a solução se encontrar saturada. Pode ser determinada pela adição de um excesso da substância a uma solução aquosa, sob agitação, a uma dada temperatura, retirando-se alíquotas ao longo do tempo, e medindo-se a concentração de substância dissolvida. A solubilidade define-se como a concentração da substância de duas alíquotas seguidas, retiradas a diferentes tempos, quando esta se mantém constante (1).

No caso dos fármacos, a solubilidade é uma das variáveis mais determinantes na sua dissolução e, conseqüentemente, na sua absorção. Quando são administrados por via oral, os fármacos passam primeiramente por um processo de dissolução nos fluídos gastrointestinais, o que corresponde, no fundo, à formação de uma solução *in vivo*, em que apenas a porção dissolvida fica disponível para ser absorvida, sendo transportada através da membrana gastrointestinal (1,2).

A dissolução (dm/dt) é calculada pela equação de *Noyes-Whitney*, que corresponde ao coeficiente de difusão das partículas de fármaco (D), multiplicada pela sua área de superfície (A), e pelo gradiente de concentração ($C_s - C$), dividindo tudo pela espessura da camada de líquido que envolve as partículas (L). O gradiente de concentração define-se como a diferença entre a concentração saturada (C_s) e a concentração do fármaco no meio (C). Desta forma, dois dos principais parâmetros que influenciam a dissolução são a solubilidade e a permeabilidade do fármaco, ao influenciarem a C_s e a C , respetivamente. No caso de fármacos permeáveis, a solubilidade é o factor limitante da absorção. Uma solubilidade inadequada conduz a uma reduzida dissolução, e, por conseguinte, a uma absorção pobre, errática e variável (1,2).

Equação de Noyes-Whitney

$$\frac{dm}{dt} = \frac{D \times A}{L} \times (C_s - C)$$

A solubilidade é um dos parâmetros avaliados nas fases mais precoces do desenvolvimento farmacêutico. Ao ser determinante na absorção, vai ter um papel fulcral na eficácia das formas farmacêuticas e o seu conhecimento determina em grande parte o sucesso das terapêuticas (1,2).

2.2 Sistema de Classificação Biofarmacêutico

Como foi referido, a solubilidade e a permeabilidade são considerados os principais indicadores da absorção dos fármacos no organismo. Neste sentido, foi criado um sistema de classificação de fármacos com base nestes dois parâmetros, o Sistema de Classificação Biofarmacêutico (BCS) (3,4).

O BCS é um sistema de classificação que pertence às *guidelines* da *Food and Drug Administration* (FDA), baseado no trabalho de *Amidon* e seus colaboradores. Este sistema classifica os fármacos em quatro classes: fármacos muito permeáveis e muito solúveis, pertencem à classe I, pouco solúveis e muito permeáveis, pertencem à classe II, muito solúveis e pouco permeáveis, pertencem à classe III e pouco solúveis e pouco permeáveis, pertencem à classe IV. Para uma melhor elucidação, esta classificação é apresentada na tabela I (4,5).

Tabela I: Sistema de Classificação Biofarmacêutico de fármacos.

Classe	Solubilidade	Permeabilidade
I	Elevada	Elevada
II	Reduzida	Elevada
III	Elevada	Reduzida
IV	Reduzida	Reduzida

O objetivo principal do sistema BCS é melhorar, simplificar e acelerar o desenvolvimento farmacêutico, permitindo prever a *performance* dos fármacos *in vivo*, e determinar quais os fármacos que dispensam estudos de biodisponibilidade e bioequivalência *in vivo* (é o caso dos fármacos de classe I, com elevada solubilidade e elevada permeabilidade, que demonstram uma rápida dissolução *in vitro*) (4,5).

Os fármacos classe I, como por exemplo o bisoprolol e o verapamil, são os mais simples de incorporar em formas farmacêuticas, não originando nenhum tipo de problema. No caso dos fármacos das outras classes é necessário recorrer a determinadas estratégias

que melhorem as suas características. Assim sendo, os da classe II, como o ibuprofeno e a atorvastatina, requerem um aumento da solubilidade, os de classe III, como o pantoprazol e o aciclovir, um aumento da permeabilidade, e os de classe IV, como a furosemida e a hidroclorotiazida, um pouco de ambos. Estima-se que cerca de 70% das novas entidades químicas tenham uma baixa solubilidade, e que 40% das já existentes sejam praticamente insolúveis. A grande parte dos fármacos conhecidos é de classe II ou IV, mas principalmente de classe II. A reduzida solubilidade é uma característica predominante e deve-se ao facto de a maioria dos fármacos apresentar uma elevada lipofilia, possuindo muitos grupos funcionais hidrofóbicos e forças intermoleculares fortes, que repelem e impedem a ligação às moléculas de água, respetivamente (6,7).

2.3 Estratégias para aumentar a solubilidade aquosa dos fármacos

A criação e melhoria de estratégias para aumentar a solubilidade tem sido um dos principais desafios da indústria farmacêutica. O aumento da dose e da frequência de administração conduzem não só a um aumento da incidência de efeitos secundários e consequente redução da adesão à terapêutica, como também ao aparecimento de dificuldades a nível do *design* das formulações e aumento dos custos de produção, uma vez que é consumida uma maior quantidade de princípio ativo. Existem várias formas de aumentar a solubilidade dos fármacos, nomeadamente, modificando a sua estrutura, alterando características da formulação, adicionando compostos solubilizadores e recorrendo a transportadores (1,6,7).

A modificação da estrutura dos fármacos pode ser física ou química. Uma das principais modificações consiste na redução do tamanho da partícula, através de fragmentação ou micronização. Esta redução permite aumentar a área de superfície, o que resulta num aumento do fator *A* da equação de *Noyes-Witney*. Sais de ácidos ou bases fracas possuem uma maior solubilidade do que as correspondentes formas livres, e, por isso, esta é outra modificação passível de ser realizada. Ao nível do polimorfismo, as formas amorfas são aquelas que apresentam maior solubilidade, mas também uma menor estabilidade. Já as cristalinas apresentam reduzida solubilidade mas maior estabilidade. A solução, por vezes, pode passar pelo uso das formas meta-estáveis, uma vez que estas apresentam um maior equilíbrio relativamente aos dois parâmetros. É ainda possível adicionar grupos hidrofílicos ao fármaco, os quais se libertam após a sua administração, permitindo a formação de pro-fármacos hidrossolúveis (1,8).

Sendo a maioria dos fármacos ácidos ou bases fracas, além da sua transformação nos respectivos sais, também é possível um aumento da sua solubilidade através do controlo do pH (aumentando o pH no caso dos ácidos e diminuindo no caso das bases). A temperatura é outro grande factor condicionante da solubilidade, já que um aumento da temperatura corresponde a uma maior solubilidade (1,8).

Quanto à adição de componentes solubilizantes, destacam-se os co-solventes, solventes orgânicos miscíveis com a água, os polímeros, que contém porções hidrofílicas e hidrofóbicas e que, por isso, conseguem interagir com o fármaco e a água, e os tensoativos que também contém porções hidrofílicas e hidrofóbicas e que apresentam a capacidade de reduzir a tensão interfacial entre a fase aquosa e oleosa, permitindo a sua mistura e a formação de micro e nanoemulsões (1,8).

Relativamente aos transportadores, a sua descoberta é relativamente recente mas tem sido das mais promissoras no aumento da solubilidade e melhoria do efeito terapêutico dos fármacos. Estes podem ser definidos como unidades constituídas por lípidos, polímeros ou oligossacarídeos, com tamanho na ordem dos micrómetros ou dos nanómetros, no interior dos quais é possível veicular um fármaco. Conjugam o reduzido tamanho de partícula, com a capacidade de transportarem o fármaco de forma segura (uma vez que são biocompatíveis) e eficaz (são solúveis nos fluidos biológicos, logo vão solubilizar o fármaco incorporado). Além de aumentarem a solubilidade dos fármacos, também os protegem da possível modificação e degradação antes de serem absorvidos, e evitam ainda a ocorrência de efeitos secundários. São, desta forma, determinantes no aumento da biodisponibilidade dos fármacos, que chegam em maior quantidade e inalterados à corrente sanguínea. Além disso, estes sistemas permitem uma libertação controlada e sustentada do fármaco ao longo do tempo, levando a uma maior eficácia terapêutica durante períodos de tempo mais prolongados, diminuindo assim o número de administrações diárias. Têm também a potencialidade de vetorização de fármacos para locais alvo, o que lhes confere uma grande especificidade, tão determinante em muitas terapêuticas (9).

Os transportadores de fármacos são denominados por novos sistemas terapêuticos e têm sido objeto de estudo pelas suas muitas vantagens, elevada versatilidade e eficácia demonstrada. Destes destacam-se os lipossomas, as micelas poliméricas, as nanopartículas lipídicas e as ciclodextrinas. Os quatro sistemas referidos serão estudados detalhadamente no próximo capítulo, recorrendo-se a estudos científicos para exemplificar e demonstrar a sua eficácia no aumento da solubilidade, da permeabilidade e consequente biodisponibilidade dos fármacos.

3. Novos Sistemas Terapêuticos

3.1 Lipossomas

Os lipossomas são vesículas esféricas compostas por uma ou mais bicamadas de fosfolípidos concêntricas. A incorporação de fármacos nestes sistemas faz com que sejam transportados e absorvidos ao longo de todo o organismo, protegidos de possíveis instabilidades causadas pelo próprio organismo, como o pH ácido do conteúdo gástrico. São altamente versáteis, podendo ser manipulados de forma a conseguir-se uma libertação progressiva e controlada dos fármacos e também a sua vetorização para locais específicos. São muito fáceis de obter e totalmente seguros, ao serem biodegradáveis, biocompatíveis e não imunogénicos (9).

Relativamente ao aumento da solubilidade de fármacos pouco solúveis, os lipossomas são uma mais-valia inegável e apresentam uma grande aplicabilidade, já que, devido à sua estrutura em bicamadas concêntricas, permitem a incorporação tanto de fármacos hidrofílicos (nos compartimentos aquosos) como de fármacos hidrofóbicos (nas bicamadas lipídicas), como é possível observar na figura 1. Uma vez carregados com o fármaco, formam como que pequenos transportadores, com elevada solubilidade nos fluidos biológicos e apresentam semelhança com as membranas celulares, reunindo as características ideais para transportarem o fármaco e garantirem a sua absorção no local necessário e nas concentrações desejadas. Desta forma, fármacos pouco solúveis têm o seu problema de solubilidade resolvido, a sua biodisponibilidade aumentada, o seu efeito potenciado e a sua toxicidade reduzida (9).

Para comprovar a eficácia dos lipossomas no aumento da solubilidade e, conseqüentemente, da biodisponibilidade, bem como a sua inocuidade, foi selecionado um estudo que avaliou a toxicidade e a atividade anti-convulsivante da nimodipina em convulsões induzidas pela pilocarpina em ratos (10).

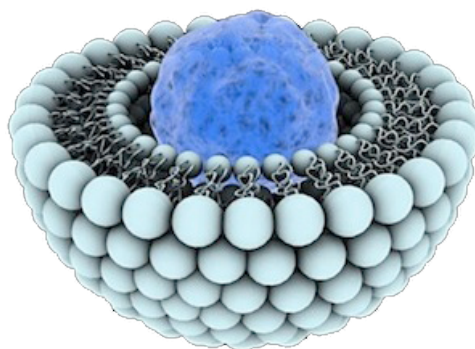


Figura 1 – Representação molecular de um lipossoma. Adaptado de (11).

A nimodipina (NMP) é uma dihidropiridina do tipo-L, pertencente ao grupo dos bloqueadores dos canais de cálcio. Além de apresentar uma função anti-hipertensora, tem demonstrado efeito na diminuição de convulsões e do dano cerebral associado às mesmas, em roedores. Por ser antagonista dos canais de cálcio, conduz a uma redução do cálcio intracelular nas células cerebrais, o que impede descargas neuronais excessivas, que, por sua vez, estão na base da epilepsia (10).

A epilepsia é uma doença crónica que, não sendo controlada, pode provocar deterioração de uma ou mais funções cognitivas com ou sem perda motora ou psicomotora. Atualmente, há cerca de um terço de doentes que desenvolve resistência aos fármacos anti-epiléticos (AED) usados, não tendo as suas crises controladas. Outro motivo de preocupação é o facto de estes medicamentos possuírem vários efeitos secundários, toxicidade e teratogenicidade (10).

Surge então a necessidade da procura de novos agentes terapêuticos eficazes no controlo desta patologia. A NMP é um fármaco seguro e que tem mostrado eficácia, uma vez que passa facilmente a barreira hemato-encefálica e apresenta uma elevada afinidade e especificidade para os canais de cálcio do cérebro. No entanto, a sua aplicabilidade é muito limitada precisamente porque apresenta uma reduzida solubilidade e sofre um elevado efeito de primeira passagem a nível hepático, o que reduz imenso a sua biodisponibilidade quando administrado por via oral. Neste contexto, surgem os lipossomas como sistemas transportadores de nimodipina (NMD-Lipo), numa tentativa de reduzir os problemas de solubilidade associados e obter o maior partido possível deste fármaco em termos terapêuticos. A NMD é um fármaco muito lipofílico e, por isso, facilmente incorporado nas bicamadas dos lipossomas com uma elevada eficiência de encapsulação (10).

Como já referido, este estudo pretendeu avaliar duas vertentes, a toxicidade e a atividade anti-convulsivante da NMD, e, para tal, os testes e observações foram realizados separadamente.

Numa primeira fase foi avaliada a toxicidade dos NMD-Lipo, nomeadamente a toxicidade sobre o sistema nervoso central (SNC) e a toxicidade sistémica. A primeira foi avaliada através de *screening* hipocrático, ou seja, pela observação de parâmetros comportamentais e fisiológicos dos animais testados, e a segunda foi avaliada recorrendo a parâmetros bioquímicos e hematológicos e à observação de possíveis sinais de toxicidade (como por exemplo a perda de peso). É de referir que os testes de toxicidade foram apenas realizados para os NMD-Lipo porque a toxicidade da NMD isoladamente é já bem conhecida (10).

Para realizar este estudo dividiram-se os ratos em quatro grupos de dezasseis animais cada. O primeiro grupo serviu como controlo negativo, ao qual foi administrada uma solução salina a 0,9% (m/V). Os restantes foram grupos de teste, aos quais se administraram concentrações crescentes de NMD-Lipo (0,1; 1 e 10 mg/kg, respetivamente). Metade dos animais de cada grupo foram observados ao final de 30 minutos, 1, 2, 4, 8, 12 e 24 horas, quantificando-se parâmetros como o estado de consciência, a coordenação motora, o tónus muscular, os reflexos, e as atividades do SNC e do sistema nervoso autónomo (SNA). Ao fim das 24 horas, os animais foram anestesiados com pentobarbital e o seu sangue foi recolhido e analisado. A outra metade esteve sob observação durante 30 dias para deteção de eventuais sinais de toxicidade. Mediu-se o consumo de água e comida todos os dias, o peso de dois em dois dias e se apresentavam ou não sinais clínicos de toxicidade (10).

A atividade anti-convulsivante foi avaliada recorrendo ao modelo da pilocarpina. Este modelo é um dos mais usados atualmente para o estudo de AED, uma vez que apresenta uma grande similaridade com a epilepsia do lóbulo temporal humana (TLE), a nível neuroquímico, fisiológico e até de danos provocados, tanto estruturais como cognitivos, e de memória. Fármacos que são efetivos contra a TLE são também efetivos contra a epilepsia induzida pela pilocarpina, sendo, assim, um modelo de estudo fidedigno (12).

Além de testar a atividade dos NMD-Lipo, este estudo comparou-a diretamente com a da NMD isoladamente e com a do diazepam (DZP), uma benzodiazepina usada como AED, tendo todas as administrações os controlos correspondentes. Os animais foram divididos em 22 grupos com 12 animais cada e as administrações foram feitas como descrito na tabela 2 (em anexo).

Após o tratamento, os animais foram observados durante 24 horas (tempo em que a pilocarpina pode causar danos) tendo sido contabilizado e monitorizado o aparecimento de sinais colinérgicos periféricos, movimentos estereótipo, tremores, convulsões, *status epilepticus* (SE) e mortalidade. O SE caracteriza-se por uma convulsão que dura mais de trinta minutos ou por mais do que uma convulsão antes da recuperação total. Está altamente associado com morbilidade e até mesmo com mortalidade (13).

Quanto aos resultados, nos testes de toxicidade os Lipo-NMD demonstraram ser completamente seguros, não provocando qualquer mudança comportamental nos ratos, nem alteração do seu peso, ou dos parâmetros hematológicos e bioquímicos. Os resultados relativos à atividade dos Lipo-NMD foram tratados por análise estatística recorrendo a um teste não paramétrico e apresentados sob a forma de percentagem, como pode ser observado na tabela 3.

Tabela 3 – Resultados do pré-tratamento com DZP, NMD e Lipo-NMD na redução dos sinais colinérgicos periféricos, movimentos estereótipo, tremores, convulsões, *status epilepticus* e mortalidade em ratos, causados pela administração posterior de 400 mg/Kg de Pilocarpina. Os resultados são apresentados na forma de percentagem.

Grupos	Sinais Colinérgicos Periféricos	Movimentos Estereótipo	Tremores	Convulsões	Status Epilepticus	Mortalidade
P400	100	100	100	100	75	75
DZP 5 + P400	100	100	100	50	50	50
Lipo 0.1 +P400	100	100	100	100	75	75
Lipo 1 +P400	100	100	100	100	75	75
Lipo 10 +P400	100	100	100	100	75	75
NMD Livre 0.1 +P400	100	100	100	100	50	75
NMD Livre 1 +P400	100	100	100	100	50	75
NMD Livre 10+P400	100	75	100	100	50	75
Lipo-NMD 0.1 +P400	100	65	100	0	0	0
Lipo-NMD 1 +P400	100	40	60	0	0	0
Lipo-NMD 10 +P400	100	30	20	0	0	0

P400, 400mg/Kg de cloridrato de pilocarpina; **DZP**, Diazepam; **Lipo**, Lipossomas vazios; **NMP**, Nimodipina; **NMD-Lipo**, Lipossomas como transportadores da nimodipina.

Os Lipo-NMD apresentaram capacidade de prevenir as convulsões, o SE e a morte dos ratos em 100% e diminuíram em muito os movimentos estereótipo e o tremor. Comparando os resultados obtidos com os resultantes da administração da NMD isoladamente foi notória uma clara diferença, uma vez que esta apenas diminuiu o SE (e os movimentos estereótipo na concentração de 10 mg/Kg) e numa percentagem bastante inferior. Os Lipo-NMD apresentaram inclusive vantagem sobre o DZP, que apenas reduziu as convulsões e o SE em 50% e o índice de mortalidade em 33,3%. Os autores observaram ainda que a ação da NMD é dose dependente, apresentando uma maior taxa de sucesso à

medida que a concentração aumenta. Foi também constatado que os lipossomas em si não têm qualquer efeito anti-epilético, apenas funcionam como transportadores da NMD, potenciando o seu efeito terapêutico. Tal aspeto foi observado devido a um aumento da sua solubilidade, proteção contra o efeito de primeira passagem e por promoverem a sua libertação controlada, melhorando imenso a biodisponibilidade e, conseqüentemente, a sua atividade farmacológica (10).

3.2 Micelas Poliméricas

As micelas poliméricas são constituídas por copolímeros anfifílicos de elevado peso molecular que, atingindo uma determinada concentração em meio aquoso, se organizam espontaneamente formando uma variedade de agregados. A essa concentração mínima de copolímero necessária para a formação de micelas chama-se concentração micelar crítica (CMC) (6,14).

Os copolímeros são essencialmente compostos por unidades de poli(óxido de etileno) (PEO) e de poli(óxido de propileno) (PPO), porções hidrofílicas e hidrofóbicas, respetivamente. Desta forma, ao atingir a CMC, a sua organização espontânea em meio aquoso leva à formação de estruturas com um exterior hidrofílico e um núcleo hidrofóbico, como ilustrado na figura 2, o que as torna sistemas ideais para o transporte de fármacos lipofílicos (6).

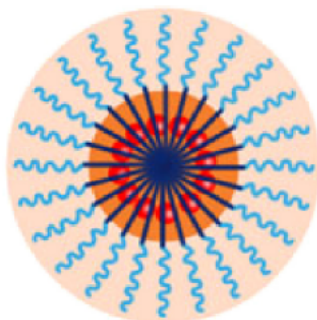


Figura 2 – Representação esquemática de uma micela polimérica. Adaptado de (15).

Apresentam-se como sistemas simples, biocompatíveis e estáveis. Protegem o fármaco do conteúdo gastrointestinal, aumentam a sua solubilidade e tempo de permanência no organismo. Permitem uma libertação controlada do fármaco e têm a capacidade de localizar e interagir com células-alvo, possibilitando um *uptake* direto do fármaco para as mesmas. Tudo isto conduz, naturalmente, a um aumento da biodisponibilidade e do efeito terapêutico dos fármacos (6,15).

Para demonstrar as vantagens terapêuticas das micelas poliméricas foi selecionado o exemplo da quercetina (Qu), um bioflavonóide que tem demonstrado propriedades anti-tumorais quando administrado em diversos tipos de cancros.

O cancro, além de ser uma das principais causas de morte em todo o mundo, configura um quadro patológico complexo, que causa imenso sofrimento físico e psicológico. As terapêuticas convencionais revelam-se insuficientes e extremamente agressivas já que os fármacos usados não apresentam especificidade para as células do tumor, o que provoca uma elevada toxicidade sistêmica e o aparecimento de um grande número de efeitos adversos. Desta forma, a investigação na área da terapêutica do cancro é uma urgência, em termos de novos fármacos e em termos de sistemas que apresentem especificidade, eficácia e segurança. Os novos sistemas terapêuticos têm sido, por isso, determinantes para responder a esta carência (16).

A descoberta da Qu como anti-tumoral, anti-proliferativo e anti-oxidante surgiu da procura de novas opções terapêuticas para o cancro, com efeitos secundários reduzidos. É um fármaco que tem demonstrado eficácia em vários tipos de cancro e que inclusivamente diminui a resistência a outros anti-tumorais, potenciando o seu efeito. O problema reside na sua elevada lipofilicidade, instabilidade e no facto de ser extensamente metabolizada. O recurso a micelas poliméricas permitiu resolver estas limitações de administração da Qu, como comprovam os estudos selecionados (14,15).

No primeiro estudo, a Qu foi incorporada em micelas de soluplus (copolímero composto por uma cadeia principal de polietilenoglicol (PEG) e cadeias laterais de caprolactam e acetato de vinilo) e poloxamero (cadeia linear de blocos de PEO e PPO). O poloxamero solubiliza e estabiliza as micelas, permitindo uma maior solubilidade e uma libertação controlada (17). O principal objetivo deste estudo foi determinar qual o resultado da incorporação da Qu em micelas na melhoria da biodisponibilidade oral. Para isso, avaliou-se a libertação *in vitro* e *in vivo* e a farmacocinética *in vivo* das micelas de quercetina (Qu-M), bem como o estado físico das micelas, as interações moleculares e a sua estabilidade. Em todas as análises foi feita a comparação dos resultados das Qu-M com os da Qu livre. A avaliação da libertação *in vitro* foi efetuada recorrendo a um método de diálise seguido de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Os resultados *in vivo* decorreram da análise sanguínea após administração oral da Qu e das Qu-M a cães da raça *Baegle* (14).

Relativamente ao segundo estudo, a Qu foi incorporada em micelas de monometoxi poli(etilenoglicol)-poli(ϵ -caprolactona) (MPEG-PCL) e o principal objetivo foi testar a melhoria do seu efeito anti-tumoral contra o cancro do cólon. Analisaram-se, à semelhança

do primeiro estudo e recorrendo aos mesmos métodos, a libertação e farmacocinética da Qu. Para além disso, analisou-se o efeito da incorporação da Qu em micelas na viabilidade, apoptose, proliferação celular e angiogénese, recorrendo ao modelo de células CT26 (células da linhagem de cancro de cólon de rato usadas para determinação da atividade de fármacos *in vivo*) (15).

Quanto aos resultados obtidos, as Qu-M revelaram uma dispersão completa em meio aquoso, o que comprova que as micelas resolvem o problema da baixa solubilidade aquosa da Qu. Devido ao seu pequeno tamanho e estabilidade superficial são facilmente absorvidas no intestino, permanecendo por muito tempo na corrente sanguínea, e escapam ao sistema reticuloendotelial. Comprovou-se ainda que as micelas promovem uma libertação controlada e sustentada do fármaco ao longo do tempo (no primeiro estudo observou-se que, ao fim de 24h, a libertação da Qu livre foi de 96,23%, enquanto que a libertação da Qu das micelas foi apenas de 26,22%) (14), o que promove um aumento significativo do seu tempo de semivida e de permanência na corrente sanguínea, prolongando o seu efeito terapêutico. O facto de serem muito permeáveis e apresentarem elevada capacidade de retenção, torna-as ideais para a vetorização de fármacos, nomeadamente na terapêutica anti-tumoral, porque penetram e permanecem no tumor especificamente, libertando fármaco de uma forma contínua (14,15).

As Qu-M demonstraram ainda uma inibição do crescimento tumoral dose-dependente e mais efetiva do que a observada para a Qu livre, já que se verificou que uma menor dose de Qu-M produz o mesmo efeito que uma dose maior de Qu livre. Não só inibiram o crescimento do tumor, como diminuíram o seu tamanho, de uma forma segura, sem efeito significativo no peso dos ratos. A indução da apoptose e o efeito anti-proliferativo foram também mais eficazes para as Qu-M, assim como a inibição da angiogénese, tão determinante para o crescimento dos tumores (15).

Os estudos comprovam que o recurso a micelas poliméricas promove um aumento da reduzida solubilidade da Qu, permitindo, conseqüentemente, um aumento da sua absorção e permanência na corrente sanguínea. Desta forma, as Qu-M demonstram resultados muito promissores para futura utilização na terapêutica anti-tumoral (14,15).

3.3 Nanopartículas Lipídicas

As nanopartículas lipídicas são transportadores coloidais que resultam da dispersão de uma fase lipídica numa solução de tensoativo. A sua morfologia e características estão

dependentes da escolha dos lípidos e tensoativos, da natureza do fármaco a encapsular e do método de produção utilizado. São sistemas que têm demonstrado uma eficácia muito grande no transporte de fármacos e aumento da sua biodisponibilidade. Apresentam uma grande estabilidade físico-química, um baixo custo de produção e uma total ausência de toxicidade, uma vez que os lípidos usados são biocompatíveis e biodegradáveis (lípidos GRAS – *Generally Regarded as Safe*). Estes sistemas também permitem a vetorização de fármacos para locais específicos e são eficazes na proteção química dos fármacos e sua libertação controlada, pelo facto de possuírem uma matriz sólida à temperatura corporal e ambiente. Quando administrados por via oral, aumentam bastante a absorção dos fármacos devido ao seu tamanho reduzido e conseqüente elevada área de superfície, às suas propriedades adesivas e ao efeito promotor de absorção característico dos lípidos. Parte das nanopartículas aderem à mucosa intestinal, sendo absorvido o lípido e o fármaco, outra parte é degradada e envolvida com os sais biliares, sendo absorvida sob a forma de micelas (mecanismo de absorção dos lípidos) (9).

As primeiras nanopartículas lipídicas produzidas foram as nanopartículas lipídicas sólidas (SLN), constituindo a primeira geração de nanopartículas. São compostas por lípidos sólidos que, ao serem dispersos numa solução aquosa de tensoativo, formam uma matriz lipídica sólida à temperatura corporal e ambiente (ponto de fusão $\geq 40^{\circ}\text{C}$). Podem classificar-se em três tipos em função das características do fármaco a encapsular e do método de produção. Assim sendo, podem apresentar o fármaco dissolvido homogeneamente na matriz (SLN tipo I), ou incorporado externamente à matriz (SLN tipo II) ou dissolvido internamente à matriz (SLN tipo III). Estes três tipos de SLN, ilustrados na figura 3, permitem a obtenção de perfis de libertação diferentes, adequados a diversas finalidades (9).

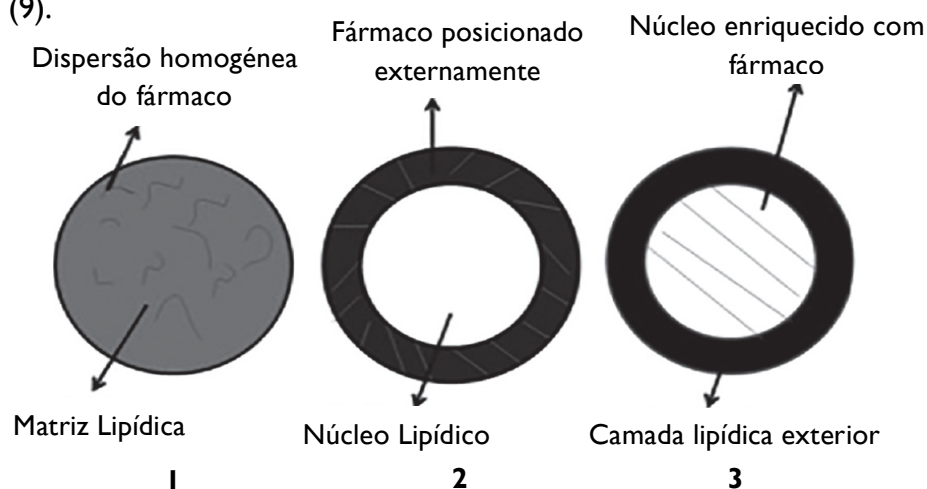


Figura 3 – Representação esquemática dos três tipos de SLN. 1 - SLN tipo I; 2 - SLN tipo II; 3 - SLN tipo III. Adaptado de (18).

O estudo selecionado para comprovar a eficácia destes sistemas teve como objetivo avaliar as características e mecanismos de aumento da biodisponibilidade de SLN contendo como fármaco modelo a sinvastatina (SV) (19).

A SV é um fármaco pertencente ao grupo das estatinas, inibidor de uma das enzimas que participa na síntese de colesterol, a 3-hidroxi-3-metil-glutaril coenzima A redutase (HMG-CoA redutase), sendo, por isso, utilizado no tratamento da hipercolesterolemia. A dislipidemia é uma das patologias que afeta mais pessoas em todo o mundo e um dos principais fatores de risco cardiovascular. O seu tratamento adequado é fundamental, reduzindo exponencialmente a morbidade e mortalidade. Infelizmente, muitos dos fármacos usados na hipercolesterolemia apresentam características físico-químicas que resultam numa baixa biodisponibilidade e, por isso, é imperativo arranjar alternativas ou melhorar a eficácia dos tratamentos já existentes. A SV é um deles, sendo um fármaco classe II, que sofre um extenso efeito de primeira passagem quando administrado oralmente (19,20).

No referido estudo, os investigadores avaliaram a eficácia do uso das SLN no aumento da biodisponibilidade da SV, bem como o seu mecanismo de absorção intestinal. Para tal, foi realizada a comparação direta com uma suspensão de SV livre, e, além disso, compararam ainda o comportamento de dois tipos de SLN, um contendo solutol HS-15 (SV-SLN 1), composto utilizado para aumentar a biodisponibilidade de substâncias hidrofóbicas, e outro contendo *Tween* 20 ou ácido oleico (SV-SLN 2), que apresentam uma ação inibitória sobre o complexo enzimático CYP 3A4, complexo este responsável pelo metabolismo da SV. Entre outras determinações, foram obtidos os parâmetros farmacocinéticos após administração oral de 20 mg/Kg de SV livre, SV-SLN 1 e SV-SLN 2 a três grupos de ratos. Foram realizadas recolhas de sangue em intervalos de tempo específicos e as concentrações de SV foram determinadas por cromatografia líquida seguida por espectrofotometria de massa (LC-MS-MS) (19).

Como é possível observar na tabela 4, a SV foi absorvida numa extensão muito superior quando incorporada em qualquer um dos tipos de SLN, o que se comprova pelos valores de concentração máxima superiores, e se traduz num grande aumento da sua biodisponibilidade. As diferenças de valores obtidos para os dois tipos de SLN devem-se precisamente às propriedades dos respetivos componentes incorporados. Independentemente disso, os resultados são claramente vantajosos, atribuindo uma grande eficácia às SLN no aumento da solubilidade e absorção da SV(19).

Tabela 4 – Parâmetros farmacocinéticos relativos à administração oral de 20 mg/Kg de suspensão de SV livre, de SV-SLN 1 e de SV-SLN 2.

Parâmetros	Suspensão de SV	SV-SLN 1	SV-SLN 2
C_{max} (ng/mL)	5,68±2,43	16,11±2,76	20,07±1,32
T_{max} (h)	0,78±0,19	1,06±0,42	0,56±0,20
$AUC_{(0-t)}$ (ng.h/mL)	7,14±1,03	24,05±1,63	18,23±0,68
$AUC_{(0-\infty)}$ (ng.h/mL)	8,11±1,19	24,85±2,19	18,57±0,81
$T_{1/2}$ (h)	1,09±0,42	1,22±0,68	0,39±0,07
TRM (h)	1,96±0,73	1,80±0,66	0,88±0,13
F (%)	-	336,8	255,3

C_{max} , Concentração máxima; T_{max} , tempo que demorou a atingir a C_{max} ; $AUC_{(0-t)}$, Área sob a curva calculada entre o tempo zero e um tempo t; $AUC_{(0-\infty)}$, Área sob a curva calculada entre o tempo zero e o tempo infinito; $T_{1/2}$, Tempo de semivida; TRM, Tempo de residência médio; F, biodisponibilidade relativa (obtida através da comparação da $AUC_{(0-t)}$ das SLN com a da SV livre).

Apesar de bastante eficazes, as SLN apresentam algumas limitações, e o principal objetivo da investigação tem sido colmatar as mesmas, obtendo ainda melhores resultados. As SLN apresentam uma reduzida capacidade de incorporação de fármaco na matriz lipídica sólida e um elevado risco de ocorrência de transições polimórficas durante o armazenamento, o que conduz a problemas de estabilidade das formulações e possibilidade de expulsão do fármaco. Com vista a minimizar os potenciais problemas das SLN, surgiu a 2ª geração de nanopartículas, os Transportadores Lipídicos Nanoestruturados (NLC). Os NLC são compostos por uma mistura de lípidos sólidos e lípidos líquidos, dispersos numa solução de tensoativo. A incorporação de lípidos líquidos gera uma estrutura imperfeita, uma matriz desorganizada com mais espaço para a incorporação de fármaco, e destabiliza a rede cristalina, o que impede a formação de formas polimórficas. Tal como para as SLN, existem três tipos de NLC em função dos lípidos e métodos de produção usados, o modelo cristal imperfeito (NLC tipo I), o modelo amorfo (NLC tipo II) e o modelo múltiplo (NLC tipo III), apresentando diferentes quantidades de lípido líquido, capacidades de encapsulação e estabilidades de conservação (9). Os três modelos referidos estão representados na figura 4.

Com vista a verificar a maior eficácia dos NLC relativamente às SLN, foi selecionado um estudo que comparou estes dois tipos de nanopartículas, caracterizando-os, e avaliando a farmacocinética e a absorção tecidual do fármaco incorporado, novamente a SV (20).

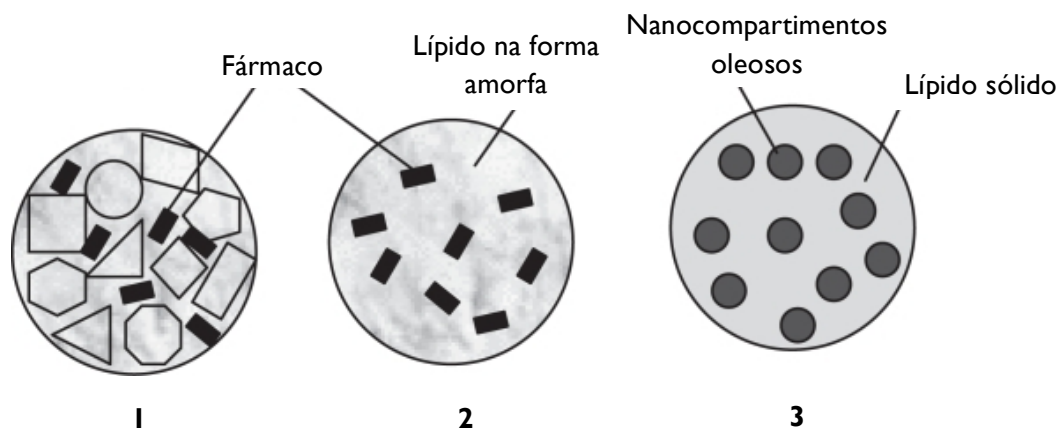


Figura 4 – Representação esquemática dos três modelos de NLC. 1 - Modelo cristal imperfeito; 2 - Modelo amorfo; 3 - Modelo múltiplo. Adaptado de (18).

Neste estudo, foi realizada a medição dos parâmetros farmacocinéticos obtidos após a administração oral de uma quantidade correspondente a 5mg/Kg de SV a murganhos, tanto na forma livre em suspensão, como incorporada em SLN (SV-SLN) e em NLC (SV-NLC). Observando a tabela 5, é notório a eficácia das SV-SLN, mas o destaque vai para os resultados obtidos após a administração dos SV-NLC. Os SV-NLC apresentaram uma maior eficiência de carga, uma redução do tamanho de partícula, uma diminuição do efeito de primeira passagem, um aumento do tempo de semivida e de retenção e uma melhoria da biodisponibilidade. Demonstraram ainda uma libertação controlada do fármaco ao longo do trato gastrointestinal (20).

Tabela 5 – Parâmetros farmacocinéticos relativos à administração oral de uma quantidade correspondente a 5 mg/Kg de SV, sob a forma de suspensão, incorporada em SLN e em NLC.

Parâmetros	Suspensão de SV	SV-SLN	SV-NLC
C_{max} (%A/G)	0,09±0,02	1,24±0,076	0,16±0,04
T_{max} (h)	2	4	4
$AUC_{(0-\infty)}$ (%A/G/h)	0,804±0,65	1,43±1,43	3,92±1,1
$T_{1/2}$ (h)	5,20±1,2	6,72±2,69	10,86±1,74
F (%)	100	186	488

C_{max} , Concentração máxima; T_{max} , tempo que demorou a atingir a C_{max} ; $AUC_{(0-\infty)}$, Área sob a curva calculada entre o tempo zero e o tempo infinito; $T_{1/2}$, Tempo de semivida; **F**, biodisponibilidade relativa (obtida através da comparação da $AUC_{(0-\infty)}$ das SLN e dos NLC com a da SV livre)

Por último, é referida a existência de um terceiro tipo de nanopartículas, os Conjugados Fármaco-Lípido (LDC). Estes conjugados surgiram para responder a uma limitação das duas gerações anteriores, a baixa capacidade de incorporação de fármacos hidrofílicos. Os LDC permitem a incorporação deste tipo de fármacos por ligação covalente ou formação de um sal com um ácido gordo. Desta forma, pode afirmar-se que as nanopartículas são sistemas altamente eficazes e versáteis, permitindo a incorporação tanto de fármacos lipofílicos como hidrofílicos (9).

3.4 Ciclodextrinas

As ciclodextrinas (CD) são oligossacarídeos cíclicos resultantes da hidrólise do amido, por ação da enzima ciclodextrina-glicosil-transferase (CGTase). São constituídas por várias unidades de glicose com conformação em cadeira, o que lhes confere uma forma tronco-cónica rígida, com uma cavidade hidrofóbica no interior. Existem três grandes tipos de CD naturais, a α -, a β - e a γ -CD, ilustradas na figura 5, cujas propriedades variam consoante o número de unidades de glicose, diâmetro da cavidade interna, solubilidade aquosa, entre outros factores. Estas CD naturais apresentam limitações, tais como a reduzida solubilidade aquosa e consequente toxicidade associada. Desta forma, surgiram os derivados das CD no sentido de colmatar estas limitações. A ligação de diversos grupos funcionais aos hidroxilos primários e secundários das CD resulta numa melhoria significativa do potencial de utilização e segurança destes sistemas. Dependendo dos grupos adicionados e do local da modificação, os derivados podem ser hidrófilos, hidrófobos e ionizáveis, o que confere às CD a capacidade de incorporação de fármacos hidrofílicos e hidrofóbicos e de permitir a libertação controlada dos mesmos. A incorporação do fármaco conduz à formação de complexos de inclusão termodinamicamente estáveis, caracterizados por uma determinada constante de complexação (K_c). Estabelece-se um equilíbrio dinâmico entre o fármaco complexado e livre, o que se traduz numa constante formação e dissociação dos complexos de inclusão. Este dinamismo é fundamental na altura da absorção do fármaco através das mucosas do organismo (9,21).

As CD são muito versáteis, sendo utilizadas por inúmeras indústrias, como a alimentar, a química e a cosmética. Na indústria farmacêutica, as CD são usadas como transportadoras de fármacos pelo facto de aumentarem a sua solubilidade, velocidade de dissolução, molhabilidade e estabilidade química, protegendo-os contra eventuais hidrólises, oxidações ou outras reações, reduzindo efeitos secundários indesejáveis e evitando

interações. Permitem ainda a administração de compostos voláteis, ao aumentarem os pontos de evaporação e sublimação dos mesmos e a transformação de substâncias líquidas em sólidas (9,21).

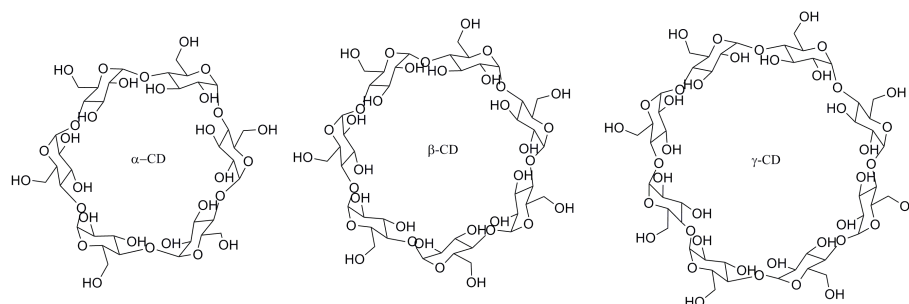


Figura 5 – Representação esquemática dos três tipos de CD naturais, a α-, a β- e a γ-CD. Adaptado de (22).

Para comprovar a eficácia destes transportadores foram selecionados dois estudos que abordam a caracterização, avaliação do perfil de dissolução, solubilidade e atividade *in vivo* de complexos de inclusão de CD com albendazol (ALB). Diversos tipos de CD foram analisados, tanto naturais como derivados, contendo diferentes grupos funcionais. As que apresentaram os melhores resultados foram as β-CD metiladas de forma aleatória (RM-β-CD), uma vez que a ligação do grupo metilo impede a formação de ligações de hidrogénios intramoleculares, deixando os grupos hidroxilos disponíveis para interagir com a água, o que aumenta muito a sua solubilidade. Também foram estes derivados os que demonstraram uma menor toxicidade (23,24).

O ALB é um derivado do benzimidazol, com atividade anti-helmíntica de largo espectro, nomeadamente contra nematodes e protozoários. Apresenta uma boa tolerância e baixo custo mas, tal como outros derivados do benzimidazol, é um fármaco classe II, caracterizando-se por apresentar uma reduzida solubilidade aquosa. As doenças parasitárias podem ser muito perigosas e o tratamento não é o mais fácil. Neste sentido, torna-se pertinente o aperfeiçoamento dos tratamentos existentes, para que o efeito terapêutico dos fármacos seja potenciado e o tratamento o mais efetivo possível. Têm sido utilizadas diversas estratégias para aumentar a solubilidade do ALB, entre elas o uso de tensoativos, mas estes nem sempre podem ser empregues, uma vez que são irritantes para as mucosas e os resultados não são tão promissores (23,24).

Os estudos de solubilidade foram realizados através de diagramas de solubilidade de fases, recorrendo a um método desenvolvido por Higuchi e Connors, que constitui a melhor aproximação para a caracterização de complexos de inclusão em solução. Resumidamente, o

método consiste na adição de um excesso de ALB em água contendo concentrações crescentes das CD estudadas. As soluções são mantidas a 37°C e sob agitação durante 72 horas, sendo posteriormente filtradas através de uma membrana, para eliminar o excesso de fármaco não dissolvido. As concentrações de ALB são determinadas por espectrofotometria, obtendo-se diagramas de solubilidade de fases que relacionam a concentração de ALB solubilizado com a concentração das CD, permitindo determinar as constantes de formação dos respetivos complexos de inclusão. Os resultados obtidos comprovam que a solubilidade do ALB aumenta com a concentração de CD e que o complexo formado com a RM- β -CD é o mais estável e mais solúvel (23,24). Segundo os resultados do estudo realizado, a solubilidade do ALB aumentou de 0,2 $\mu\text{g/mL}$ para 1,52 mg/mL quando incorporado nas RM- β -CD, o que corresponde a um factor de aumento de 7600 vezes (24).

A dissolução *in vitro* foi avaliada pelo método das pás agitadoras, adicionando o ALB e o complexo de inclusão ALB-CD a uma solução de ácido clorídrico (HCL), mantidos sob agitação a 37°C. Foram recolhidas amostras em intervalos de tempo previamente determinados e a concentração de ALB foi determinada por espectrofotometria. Ao ser incorporado na RM- β -CD mediante complexação, o ALB apresentou uma dissolução de 100% aos dez minutos, enquanto que, na forma livre, a dissolução foi apenas de 15%. A atividade anti-parasitária também demonstrou ser superior quando o complexo foi administrado a murganhos infetados com *Trichinella Spiralis* (23).

Desta forma, comprovou-se que as CD, nomeadamente a RM- β -CD, permitiram aumentar a solubilidade, dissolução e biodisponibilidade do ALB, conduzindo a uma consequente melhoria do seu efeito terapêutico (23,24).

Conclusões e Perspetivas Futuras

O aumento da solubilidade de fármacos pouco solúveis é uma preocupação corrente no desenvolvimento de formas farmacêuticas. Existem diversas estratégias que podem conduzir a este aumento, nomeadamente a redução do tamanho das partículas do fármaco, a sua transformação no respetivo sal, o uso da forma amorfa ou eventualmente da meta-estável, o recurso a pro-fármacos hidrossolúveis, o controlo do pH, a adição de co-solventes e tensoativos, a formação de micro e nanoemulsões e o uso de novos sistemas terapêuticos como transportadores de fármacos. Os novos sistemas terapêuticos constituem uma estratégia extremamente eficaz e com grandes potencialidades.

Os estudos anteriormente supracitados demonstram que os lipossomas desempenharam um papel crucial e totalmente seguro no aumento da solubilidade da NMD, no seu transporte pelo organismo e conseqüente controlo da epilepsia, que se verificou pelo desaparecimento das convulsões. A utilização da Qu na terapêutica anti-tumoral foi potenciada graças ao recurso a micelas poliméricas, já que estas aumentaram a sua biodisponibilidade e permitiram uma libertação controlada do fármaco. A utilização das nanopartículas lipídicas, nomeadamente dos NLC, resultou numa farmacocinética melhorada, numa redução do efeito de primeira passagem e num aumento da biodisponibilidade da SV. Por fim, as ciclodextrinas aumentaram a solubilidade e dissolução do ALB, bem como a sua ação anti-parasitária.

Apesar da eficácia comprovada, a quantidade de novos sistemas comercializados é substancialmente reduzida. Este facto deve-se essencialmente a algumas limitações a nível da estabilidade durante o processo de fabrico e de armazenamento, bem como a nível do *scale-up*. A descoberta dos mesmos é relativamente recente, o que faz com que haja bastantes aspetos para melhorar e aperfeiçoar (25,26).

A investigação tem vindo a desenvolver-se no sentido de melhorar as suas características, procurando novos métodos de produção e novos componentes a adicionar (como polímeros e tensoativos) que permitam o controlo e otimização das suas propriedades. Tem sido também estudada a conjugação de dois ou mais sistemas e ainda a incorporação de mais do que um fármaco no mesmo transportador (25).

A capacidade de vetorização constitui um importante alvo de investigação, particularmente na terapêutica anti-tumoral, permitindo uma entrega do fármaco no local pretendido, local este onde o fármaco permanece e onde irá exercer a sua ação de uma forma específica, reduzindo os efeitos adversos sistémicos. Outra perspetiva futura consiste

na utilização de novos sistemas como transportadores de material genético em terapia génica. Esta aplicação tem vindo a ser investigada, inclusivamente, para utilização na terapêutica anti-retroviral, em infeções provocadas pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), e na hepatite C. Outro objetivo de estudo é a sua utilização na produção de vacinas mais seguras e que garantam uma imunização mais efetiva, e ainda em sistemas que permitam uma libertação controlada de fármacos administrados por via oral, como é o caso da insulina (26,27).

O percurso tem sido realizado no sentido de aprofundar a investigação e de ultrapassar as limitações, promovendo cada vez mais a comercialização e utilização destes sistemas, com a melhor relação custo-eficácia, de modo a garantir uma maior efetividade no tratamento de um sem número de patologias (25,26).

Referências Bibliográficas

- (1) GUPTA, A. K., & SEHRAWAT, S. K. - **Bioavailability enhancement of poorly water soluble drugs: A review.** *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*, 2 (2011) 640–650.
- (2) DHILLON, B., GOYAL, N. K., MALVIYA, R., *et al.* - **Poorly water soluble drugs: Change in solubility for improved dissolution characteristics: A review.** *Global Journal of Pharmacology*, 8 (2014) 26–35.
- (3) NEWBY, D., FREITAS, A. A., & GHAFOURIAN, T. - **Decision trees to characterise the roles of permeability and solubility on the prediction of oral absorption.** *European Journal of Medicinal Chemistry*, 90 (2015) 751–65.
- (4) BENET, L. Z. - **The role of BCS (biopharmaceutics classification system) and BDDCS (biopharmaceutics drug disposition classification system) in drug development.** *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 102 (2013) 34–42.
- (5) <http://fda.gov>, consultado a 6 de agosto de 2015.
- (6) LU, Y., PARK, K. - **Polymeric micelles and alternative nanonized delivery vehicles for poorly soluble drugs.** *International Journal of Pharmaceutics*. 453 (2013) 198–214.
- (7) MURTAZA, G. - **Solubility enhancement of simvastatin: A review.** *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 69 (2012) 581–590.
- (8) GUPTA, S., KESARLA, R., OMRI, A. - **Formulation strategies to improve the bioavailability of poorly absorbed drugs with special emphasis on self-emulsifying systems.** *ISRN Pharmaceutics*, 2013 (2013) 1-16.
- (9) SOUTO, E.B., LOPES, C.M. - **Novas formas farmacêuticas para administração oral de fármacos.** Porto: edições Universidade Fernando Pessoa, 2011. ISBN 978-989-643-078-8
- (10) GAYOSO, L. C., MORENO, A. I., CAVALCANTI, I. M. F., *et al.* - **Acute toxicity and anticonvulsant activity of liposomes containing nimodipine on pilocarpine-induced seizures in mice.** *Neuroscience Letters*, 585, (2015) 38–42.
- (11) <http://worldschoiceproducts.com>, consultado a 20 de julho de 2015.
- (12) KANDRATAVICIUS, L., BALISTA, P. A., LOPES-AGUIAR, C., *et al.* - **Animal models of epilepsy: use and limitations.** *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 10 (2014) 1693–705.

- (13) CHERIAN, A., THOMAS, S. V. - **Status epilepticus**. *Annals of Indian Academy of Neurology*, 12 (2009) 140–153.
- (14) DIAN, L., YU, E., CHEN, X., WEN, X., *et al.* - **Enhancing oral bioavailability of quercetin using novel soluplus polymeric micelles**, *Nanoscale Research Letters*, 9 (2014) 684-695.
- (15) XU, G., SHI, H., REN, L., *et al.* - **Enhancing the anti-colon cancer activity of quercetin by self-assembled micelles**, *International Journal of Nanomedicine*, 10 (2015) 2051–2063.
- (16) JABIR, N. R., TABREZ, S., ASHRAF, G. M., *et al.* **Nanotechnology-based approaches in anticancer research**. *International Journal of Nanomedicine*, 7 (2012) 4391–4408.
- (17) DEVI, D. R., SANDHYA, P., HARI, B. N. V. - **Poloxamer: A novel functional molecule for drug delivery and gene therapy**. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5 (2013) 159–165.
- (18) ZHANG, Z., BU, H., GAO, Z., *et al.* - **The characteristics and mechanism of simvastatin loaded lipid nanoparticles to increase oral bioavailability in rats**. *International Journal of Pharmaceutics*, 394 (2010) 147–153.
- (19) ÜNER, M., & YENER, G., - **Importance of solid lipid nanoparticles (SLN) in various administration routes and future perspective**. *International Journal of Nanomedicine*, 2 (2007) 289–300.
- (20) TIWARI, R., PATHAK, K. - **Nanostructured lipid carrier versus solid lipid nanoparticles of simvastatin: Comparative analysis of characteristics, pharmacokinetics and tissue uptake**. *International Journal of Pharmaceutics*, 415 (2011) 232–243.
- (21) TIWARI, G., TIWARI, R., & RAI, A. K. - **Cyclodextrins in delivery systems: Applications**. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 2 (2010) 72–9.
- (22) <http://intechopen.com> - **Direct Dissolution of Cellulose: Background, Means and Applications**, consultado a 10 de agosto de 2015.
- (23) GARCÍA, A., LEONARDI, D., VASCONI, M. D., *et al.* - **Characterization of Albendazole-Randomly Methylated- β -Cyclodextrin Inclusion Complex and In Vivo Evaluation of Its Antihelminthic Activity in a Murine Model of Trichinellosis**. *PLOS ONE*, 9 (2014) 1-7.

- (24) PRADINES, B., GALLARD, J. F., IORGA, B. I., *et al.* - **Investigation of the complexation of albendazole with cyclodextrins for the design of new antiparasitic formulations.** *Carbohydrate Research*, 398 (2014) 50–55.
- (25) VO, C. L.-N., PARK, C., LEE, B.-J. - **Current trends and future perspectives of solid dispersions containing poorly water-soluble drugs.** *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 85 (2013) 799–813.
- (26) CALDERÓN, M., SOSNIK, A. **Polymeric soft nanocarriers as smart drug delivery systems: State-of-the-art and future perspectives.** *Biotechnology Advances*. (2015) 1-2.
- (27) TORRECILLA, J., RODRÍGUEZ-GASCÓN, A., SOLINÍS, M. Á., *et al.* - **Lipid Nanoparticles as Carriers for RNAi against Viral Infections: Current Status and Future Perspectives,** *BioMed Research International*, 2014 (2014) 1–17.

Anexos

Tabela 2 – Administrações realizadas aos 22 grupos de ratos para avaliar a atividade anti-convulsivante do DZP, da NMD e dos Lipo-NMD.

Grupo	Administração
1	Solução salina a 0.9% (m/V)
2	P400
3 e 4	5mg/kg de DZP e associação de DZP com P400
5, 6 e 7	Lipo em concentrações de 0.1, 1 e 10 mg/kg
8, 9 e 10	Lipo em concentrações de 0.1, 1 e 10 mg/kg e P400, 30min depois
11, 12 e 13	NMP em concentrações de 0.1, 1 e 10 mg/kg
14, 15 e 16	NMP em concentrações de 0.1, 1, 10 mg/kg e P400, 30min depois
17, 18 e 19	NMD-Lipo em concentrações de 0.1, 1 e 10 mg/kg
20, 21 e 22	NMD-Lipo em concentrações de 0.1, 1 e 10 mg/kg e P400, 30min depois

P400, 400mg/Kg de cloridrato de pilocarpina; **DZP**, Diazepam; **Lipo**, Lipossomas vazios; **NMP**, Nimodipina; **NMD-Lipo**, Lipossomas como transportadores da nimodipina.