

**Secretaria de Estado da Saúde
Coordenadoria de Controle de Doenças
Instituto Adolfo Lutz**

**Curso de Especialização
Vigilância Laboratorial em Saúde Pública**

Bruno Martinho Araújo

**NOVAS FORMAS
FARMACÊUTICAS: USO DE
SISTEMAS POLIMÉRICOS
NANOPARTICULADOS NA
VETORIZAÇÃO DE
FÁRMACOS**

São Paulo

2019

Bruno Martinho Araújo

**NOVAS FORMAS
FARMACÊUTICAS: USO DE
SISTEMAS POLIMÉRICOS
NANOPARTICULADOS NA
VETORIZAÇÃO DE
FÁRMACOS**

*Trabalho de conclusão de curso de
especialização apresentado ao
Instituto Adolfo Lutz- Unidade do
Centro de Formação de Recursos
Humanos para o SUS/SP-Doutor
Antônio Guilherme de Souza como
requisito parcial para obtenção do
título de Especialista em Vigilância
Laboratorial em Saúde Pública*

*Orientador: Prof. Dra. Valéria
Adriana Pereira Martins*

São Paulo

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pelo Centro de Documentação – Coordenadoria de Controle de Doenças/SES-SP

©reprodução autorizada pelo autor, desde que citada a fonte

Araújo, Bruno Martinho

Novas formas farmacêuticas: uso de sistemas poliméricos nanoparticulados na vetorização de fármacos/ Bruno Martinho Araújo– São Paulo, 2019.

29 f. il

Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização-Vigilância Laboratorial em Saúde Pública)-Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, CEFOR/SUS-SP, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, 2019.

Área de concentração: Controle de qualidade físico-químico em medicamentos

Orientação: Prof. Dra. Valéria Adriana Pereira Martins

1-Cromatografia líquida; 2-Nanocápsulas; 3-Nanopartículas; 4-Sistemas de liberação de fármacos

SES/CEFOR/IAL-20/2019

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Características estruturais das nanopartículas.....	13
FIGURA 2 - Métodos de síntese por dispersão de polímeros pré-formados.....	17
FIGURA 3 - Métodos de síntese por polimerização de monômeros.....	20

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Métodos analíticos para sistemas nanoparticulados.....22

TABELA 2 - Aplicações terapêuticas dos sistemas nanoparticulados.....25

LISTA DE SIGLAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BPF – Boas Práticas de Fabricação

BVS – Biblioteca Virtual em Saúde

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

DPR – Desvio Padrão Relativo

LD – Limite de Detecção

LQ – Limite de Quantificação

MET – Microscopia Eletrônica de Transmissão

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

NLS – Nanopartículas Lipídicas Sólidas

NNL – Nanopartículas de Núcleo Lipídico

PBCA – Poli (butilcianoacrilato)

PEG – Polietilenoglicol

PFH - Perfluorohexano

PLA – Poli (ácido lático)

PLGA – Poli (ácido lático co-ácido glicólico)

PMAA – Poli (ácido metacrílico)

PVA – Acetato de polivinila

SciELO – Scientific Electronic Library Online

LISTA DE SÍMBOLOS

nm – nanômetro

rpm – rotações por minuto

µm – micrômetro

mm – milímetro

mL – mililitro

min - minuto

µL – microlitro

µg – micrograma

ng – nanograma

mg – miligrama

RESUMO

As nanopartículas poliméricas são novas formas farmacêuticas vantajosas para o tratamento de diferentes patologias, devido ao aumento de biodisponibilidade, redução dos efeitos colaterais e direcionamento eficiente do fármaco. Essas formulações apresentam propriedades físico-químicas específicas, que são determinantes para a liberação do fármaco e para a estabilidade das nanopartículas. Diferentes técnicas de síntese de nanopartículas poliméricas podem ser empregadas, tais como, dispersão de polímeros pré-formados, fluidos supercríticos e polimerização de monômeros, onde cada técnica apresenta vantagens e desvantagens em relação às características físico-químicas das nanopartículas obtidas ao final do processo de síntese. Em relação ao controle de qualidade dessas formulações, muitos métodos por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa foram desenvolvidos e validados. O levantamento bibliográfico para a realização deste trabalho foi feito nos portais da Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e Scielo, tendo como objetivo estudar o desenvolvimento e o controle de qualidade dessas novas formas farmacêuticas, bem como a sua aplicação no tratamento de doenças, gerando subsídios para futuros projetos de implantação de novas metodologias analíticas para a avaliação de medicamentos nanoparticulados no âmbito do Instituto Adolfo Lutz. Muitos desafios relacionados à estabilidade, à toxicidade, ao processo de produção e ao controle de qualidade ainda persistem atualmente, mas certamente serão contornados nos próximos anos e os medicamentos nanoparticulados estarão disponíveis como arsenal terapêutico para auxiliar no tratamento das mais diversas patologias.

Palavras-chave: cromatografia líquida, nanocápsulas, nanopartículas, sistemas de liberação de fármacos.

ABSTRACT

Polymeric nanoparticles are new pharmaceutical forms that are advantageous for the treatment of different pathologies, due to the increase of bioavailability, reduction of side effects and efficient targeting of the drug. These formulations present specific physicochemical properties, which are determinant for the release of the drug and for the stability of the nanoparticles. Different techniques of synthesis of polymeric nanoparticles can be employed, such as dispersion of preformed polymers, supercritical fluids and polymerization of monomers, where each technique has advantages and disadvantages in relation to Physicochemical characteristics of the nanoparticles obtained at the end of the synthesis process. In relation to the quality control of these formulations, many methods by high performance liquid chromatography in reverse phase were developed and validated. The bibliographical survey to accomplish this work was done in the portals of the Virtual Health Library (VHL) and Scielo, aiming to study the development and quality control of these new pharmaceutical forms, as well as their application in Treatment of diseases, generating subsidies for future projects of implantation of new analytical methodologies for the evaluation of nanoparticulate drugs in the scope of the Adolfo Lutz Institute. Many challenges related to stability, toxicity, production process and quality control still persist today, but will certainly be circumgaged in the coming years and nanoparticulate medicines will be available as an Arsenal Therapeutic to assist in the treatment of several pathologies.

Keywords: liquid chromatography, nanocapsules, nanoparticles, drug release systems.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. OBJETIVOS.....	12
3. MATERIAL E MÉTODOS	12
4. REFERENCIAL TEÓRICO	12
4.1. Nanopartículas poliméricas: definições	12
4.2. Propriedades físico-químicas dos sistemas nanoparticulados	13
4.2.1. Morfologia.....	13
4.2.2. Distribuição de tamanho de partícula	14
4.2.3. Distribuição de massa molar do polímero.....	14
4.2.4. Potencial zeta	14
4.2.5. pH.....	15
4.2.6. Taxa de associação do fármaco	15
4.3. Estabilidade dos sistemas nanoparticulados.....	15
4.4. Técnicas empregadas para a síntese de nanopartículas poliméricas ..	16
4.4.1. Dispersão de polímeros pré-formados.....	16
4.4.2. Tecnologia de fluídos supercríticos	19
4.4.3. Polimerização de monômeros	19
4.5. Controle de qualidade dos sistemas nanoparticulados	21
4.5.1. Importância do controle de qualidade de medicamentos.....	21
4.5.2. Métodos desenvolvidos para doseamento de sistemas nanoparticulados.....	22
4.5.3. Regulação sanitária de medicamentos.....	24
4.6. Aplicações terapêuticas dos sistemas nanoparticulados	25
5. CONCLUSÃO	26
REFERÊNCIAS	28

1. INTRODUÇÃO

As nanopartículas poliméricas são novas formas farmacêuticas promissoras capazes de administrar fármacos com maior eficiência em relação às outras formas farmacêuticas já existentes. As nanopartículas possuem tamanho que varia entre 1 a 1000 nm, são constituídas por polímeros ou copolímeros de origem natural ou sintética e sua composição ou organização estrutural as diferencia em dois grupos: as nanoesferas e as nanocápsulas. As nanoesferas são constituídas por uma matriz polimérica, na qual o fármaco está distribuído na matriz ou adsorvido à superfície da partícula. As nanocápsulas possuem uma estrutura semelhante a vesículas, nas quais o fármaco está dissolvido em um núcleo líquido e envolto por uma membrana polimérica (KARIM, R. *et al.*, 2016).

O desenvolvimento farmacotécnico dessas formas farmacêuticas se dá por diferentes métodos de síntese, os quais estão agrupados em três categorias: dispersão de polímeros pré-formados, tecnologia de fluídos supercríticos e polimerização de monômeros (JEEVANANDAM, J.; CHAN, Y. S.; DANQUAH, M. K., 2016).

Essas formas farmacêuticas apresentam inúmeras vantagens na administração de fármacos, pois além de permitirem o alcance ao sítio de ação com maior eficiência, também os protege contra degradações envolvendo pH, enzimas e alterações bioquímicas (JEEVANANDAM, J.; CHAN, Y. S.; DANQUAH, M. K., 2016). As nanopartículas são mais estáveis dentro dos sistemas biológicos, sendo assim, apresentam tempo de meia-vida maior do fármaco na circulação sanguínea, aumentando a biodisponibilidade e seu tempo de permanência nos tecidos-alvo, além de serem capazes de atravessar barreiras biológicas, como a barreira hematoencefálica (KARIM, R. *et al.*, 2016).

Além disso, sua estrutura permite o transporte de múltiplos fármacos, os quais são liberados em locais determinados, devido à possibilidade de conjugação das nanopartículas com ligandos específicos que interagem com o tecido-alvo (RICO, L. M. M., 2013). Isso possibilita uma maior vetorização de fármacos antibióticos, e principalmente, de anticancerígenos por administração parenteral, o que torna a sua distribuição mais seletiva, e consequentemente, aumenta o seu índice terapêutico (SCHAFFAZICK, S. R. *et al.*, 2003).

Entretanto, apesar das muitas vantagens que esses sistemas apresentam, ainda há limitações quanto ao seu uso terapêutico em humanos. Atualmente, existem poucos polímeros que podem ser utilizados sem oferecer riscos à saúde, uma vez que os seus produtos de degradação não podem ser tóxicos e devem ser eliminados facilmente pelo organismo. Outro fator limitante está relacionado à sua capacidade de transpor barreiras biológicas e causar potenciais riscos celulares, sendo que essa limitação depende principalmente da composição do nanocarreador, da sua concentração e de suas propriedades físico-químicas (KARIM, R. *et al.*, 2016).

Em baixas concentrações, os sistemas nanoparticulados possuem tendência para formar agregados, prejudicando a estabilidade da formulação e alterando a sua capacidade de aprisionamento do fármaco (JEEVANANDAM, J.; CHAN, Y. S.; DANQUAH, M. K., 2016). Em razão dessas limitações, além da ausência de materiais de referência e ensaios de toxicidade padronizados, torna-se difícil determinar o comportamento que esses sistemas apresentarão no organismo dos pacientes (KARIM, R. *et al.*, 2016).

Atualmente, não estão disponíveis na literatura estudos de toxicidade ou mesmo de estabilidade dessas formulações (KARIM, R., *et al.*, 2016), sendo assim, a produção dessas formulações de nanopartículas de acordo com as Boas Práticas de Fabricação (BPF) vigentes e o atendimento às normas de qualidade estabelecidas pelas agências regulatórias, ainda representam desafios a serem superados (JEEVANANDAM, J.; CHAN, Y. S.; DANQUAH, M. K., 2016).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) atua avaliando os dados técnicos necessários para a aprovação de produtos e serviços que são de interesse para a saúde pública e age através de ações de fiscalização, com o objetivo de verificar o cumprimento da legislação. Nesse sentido, o controle de qualidade de medicamentos é imprescindível, pois está inserido no contexto das BPF e engloba atividades de amostragem, especificações, ensaios necessários e relevantes desde a matéria-prima a ser empregada no processo produtivo até a liberação do produto final. O controle da qualidade não está limitado, portanto, às atividades exercidas em laboratório, mas sim, a todas as decisões relacionadas à qualidade do medicamento (CORRÊA, J. C. V., 2003).

Muitos métodos para análise de medicamentos nanoparticulados tem sido desenvolvidos e validados. Alguns desses métodos envolvem o uso de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em fase reversa, onde foi possível avaliar os resultados obtidos considerando os parâmetros de especificidade, linearidade, precisão, exatidão, robustez, limite de detecção e limite de quantificação (NAVES, L. N. *et al.*, 2014); (RODRIGUES, C. D.; KHALIL, N. M.; MAINARDES, R. M., 2014); (CHASSOT, J. M. *et al.*, 2015); (IANISKI, F. R. *et al.*, 2015); (LOPES, C. E. *et al.*, 2017); (YASIR, M.; SARA, U. V. S.; SOM, I., 2017).

2. OBJETIVOS

O objetivo desse trabalho foi estudar o desenvolvimento e o controle de qualidade dessas novas formas farmacêuticas, bem como a sua aplicação no tratamento de doenças, gerando subsídios para futuros projetos de implantação de novas metodologias analíticas para a avaliação de medicamentos nanoparticulados no âmbito do Instituto Adolfo Lutz.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O levantamento bibliográfico para a realização deste trabalho foi feito nos portais da Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e Scielo. No portal da BVS, a pesquisa foi realizada inserindo os termos: nanocápsulas AND “vetorização de fármacos”, com a utilização dos filtros: humanos, terapia e ano de publicação no período de 2014 a 2018, além desses, também foram inseridos os termos: nanocápsulas AND determinação OR CLAE, utilizando os filtros: inglês, farmácia, química e ano de publicação no período de 2014 até 2017. No portal Scielo, a pesquisa foi realizada inserindo os seguintes termos: sistemas nanoparticulados and caracterização e medicamentos and atenção básica.

4. REFERENCIAL TEÓRICO

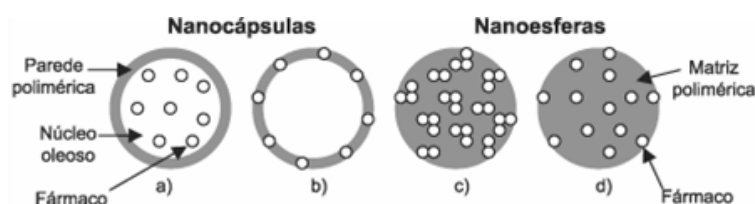
4.1. Nanopartículas poliméricas: definições

Entende-se por nanopartículas poliméricas os sistemas carreadores de fármacos caracterizados por possuírem um núcleo, no qual o conteúdo terapêutico ou de diagnóstico está distribuído, além de modificadores de superfície capazes de interagir com células de maneira altamente específica (RICO, L. M. M., 2013).

Esses sistemas consistem de partículas sólidas, coloidais, com diâmetro entre 1 a 1000 nm e são constituídos por polímeros hidrofóbicos biocompatíveis ou copolímeros de origem natural ou sintética. Podem ser empregados na administração de fármacos hidrofóbicos ou hidrofílicos, tanto micromoleculares quanto macromoleculares (KARIM, R., *et al.* 2016).

Há diferentes tipos de nanopartículas (Figura 1), sendo que o método de preparação empregado determina o tipo de partícula obtido, assim como também influencia em suas propriedades de liberação de fármacos (RICO, L. M. M., 2013). De acordo com a sua composição, as nanoesferas e as nanocápsulas possuem diferenças entre si. As nanocápsulas possuem um invólucro polimérico que envolve um núcleo oleoso, sendo que o fármaco pode estar dissolvido nesse núcleo ou adsorvido à parede polimérica. Já as nanoesferas são formadas por uma matriz polimérica, sem a presença de um núcleo oleoso, no qual o fármaco pode ficar retido ou adsorvido (SCHAFFAZICK, S. R. *et al.*, 2003).

Figura 1 – Características estruturais das nanopartículas



Fonte: Schaffazick, S. R. *et al.*, 2003.

4.2. Propriedades físico-químicas dos sistemas nanoparticulados

As propriedades físico-químicas desempenham importante papel no comportamento que as nanopartículas apresentarão com relação à liberação do fármaco no local de ação, bem como são determinantes para a avaliação da sua estabilidade (MEYAGUSKU, V. M., 2014). Essas propriedades compreendem: morfologia, distribuição de tamanho de partícula, distribuição de massa molar do polímero, potencial zeta, pH das suspensões e taxa de associação do fármaco (SCHAFFAZICK, S. R. *et al.*, 2003).

4.2.1. Morfologia

A avaliação morfológica das nanopartículas tem sido realizada, principalmente, através das técnicas de microscopia eletrônica de transmissão

(MET) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). A MET permite diferenciar nanocápsulas de nanoesferas, além de ser possível determinar a espessura da parede das nanocápsulas (SCHAFFAZICK, S. R. *et al.*, 2003). A MEV é empregada para avaliar a rugosidade e porosidade das partículas (MEYAGUSKU, V. M., 2014).

4.2.2. Distribuição de tamanho de partícula

As diferenças de tamanho de partícula podem existir conforme a sua composição quali-quantitativa e o método empregado na sua preparação. O diâmetro médio das nanocápsulas, por exemplo, pode ser influenciado pela natureza do óleo utilizado como núcleo. Outro fator capaz de influenciar o tamanho das partículas é a presença do fármaco durante o processo de nucleação, gerando partículas maiores e com ampla distribuição de tamanho (SCHAFFAZICK, S. R. *et al.*, 2003).

4.2.3. Distribuição de massa molar do polímero

A distribuição de massa molar do polímero é também uma característica importante, pois fornece informações relativas à influência que os componentes da formulação podem exercer sobre o processo de polimerização, sobre possíveis reações existentes entre o fármaco e o polímero, além de também ser possível avaliar a degradação do polímero no decorrer do tempo (SCHAFFAZICK, S. R. *et al.*, 2003).

4.2.4. Potencial zeta

O potencial zeta traduz as cargas superficiais presentes nas nanopartículas, as quais são determinantes para a estabilidade da partícula no meio de dispersão (IANISKI, F.R. *et al.*, 2015). Sendo assim, pode estar relacionado à dissociação dos grupos funcionais que estão presentes na partícula ou pela presença de íons ou moléculas iônicas no meio aquoso (MEYAGUSKU, V. M., 2014).

Os valores de potencial zeta podem ser positivos ou negativos, sendo dependentes das características superficiais da partícula (MEYAGUSKU, V. M., 2014). Uma boa estabilidade físico-química de uma suspensão coloidal está diretamente relacionada com altos valores de potencial zeta, uma vez que as forças

repulsivas evitam a agregação causada por colisões de nanopartículas adjacentes (SCHAFFAZICK, S. R. *et al.*, 2003).

O mecanismo de associação de fármacos com nanopartículas pode ser compreendido através da determinação do potencial zeta. O aumento na taxa de associação do fármaco reduz, em módulo, o valor desse potencial (SCHAFFAZICK, S. R. *et al.*, 2003).

4.2.5. pH

O monitoramento dos valores de pH de suspensões de nanopartículas está diretamente relacionado à estabilidade dessas formulações, uma vez que alterações de pH indicam que o polímero está em degradação. A redução do pH dessas formulações tem como causas tanto a ionização dos grupos carboxílicos que estão presentes no polímero, quanto à hidrólise, que está relacionada com a hidrofobicidade do poliéster (SCHAFFAZICK, S. R. *et al.*, 2003).

Em estudo realizado por Janicki *et al.* (2015), suspensões de nanocápsulas de polietileno glicol contendo meloxicam e placebo apresentaram, respectivamente, valores de pH $5,0 \pm 0,2$ e $5,2 \pm 0,1$, sendo que, a estabilidade dessas formulações estava dentro de uma faixa de pH que varia de 3,0 a 7,5.

4.2.6. Taxa de associação do fármaco

A quantidade de fármaco associado às nanopartículas é difícil de ser determinada devido ao seu tamanho reduzido. Além disso, outros fatores influenciam a quantidade de fármaco que se associa às nanopartículas, tais como: características físico-químicas do fármaco, pH do meio, características da superfície da partícula, natureza do polímero, quantidade de fármaco adicionado na formulação, ordem de adição do fármaco na formulação, ou seja, antes ou após a formação das nanopartículas, natureza do óleo utilizado (nas nanocápsulas) e o tipo de tensoativo adsorvido à superfície do polímero (SCHAFFAZICK, S. R. *et al.*, 2003).

4.3. Estabilidade dos sistemas nanoparticulados

Suspensões de nanopartículas são estáveis por períodos relativamente curtos, pois aglomerados de partículas podem se formar, e consequentemente, ocorrer sedimentação. Diversos fatores podem interferir na estabilidade dessas

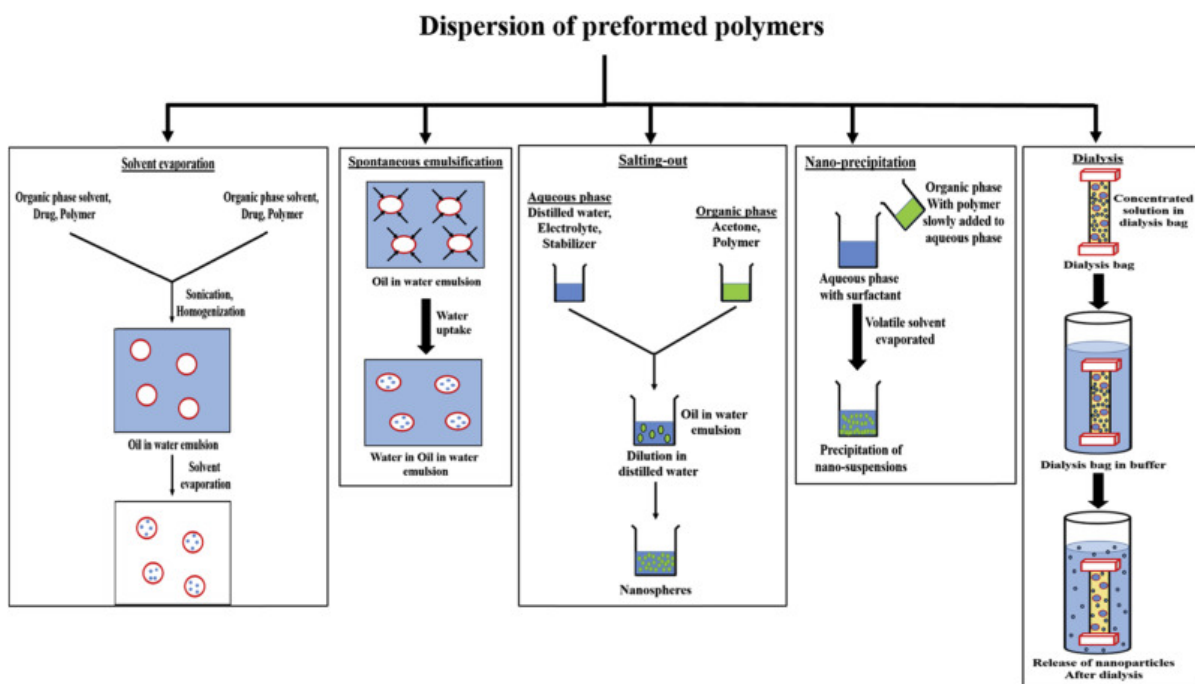
formulações, dificultando a sua produção em escala industrial. Por exemplo, a adsorção de moléculas ativas à superfície das nanopartículas, a presença de tensoativo adsorvido, a estabilidade química do polímero, do fármaco, ou de outras matérias-primas, a liberação prematura da substância ativa e a proliferação microbiana. Nesse sentido, técnicas de liofilização e nebulização estão sendo aplicadas com o objetivo de evitar ou retardar esses fatores interferentes na estabilidade dos sistemas nanoparticulados (SCHAFFAZICK, S. R. *et al.*, 2003).

4.4. Técnicas empregadas para a síntese de nanopartículas poliméricas

4.4.1. Dispersão de polímeros pré-formados

Através do emprego da técnica de dispersão de polímeros pré-formados, é possível a preparação de nanopartículas poliméricas com melhor biodistribuição e melhores propriedades farmacocinéticas, homogeneidade química e estrutural e biodegradação controlada. Os polímeros utilizados para a preparação de nanopartículas através dessa técnica são o poli (ácido láctico) PLA, poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) PLGA e poli (ϵ -caprolactona) (JEEVANANDAM, J.; CHAN, Y. S.; DANQUAH, M. K., 2016). Há diversos métodos de síntese por dispersão de polímeros pré-formados cujas etapas estão esquematizadas na figura abaixo (Figura 2) e serão abordados resumidamente nos tópicos a seguir.

Figura 2 – Métodos de síntese por dispersão de polímeros pré-formados



Fonte: Jeevanandam, J.; Chan, Y. S.; Danquah, M. K., 2016.

4.4.1.1. Método de síntese por evaporação do solvente

Este método consiste na preparação de uma emulsão óleo/água (O/A), na qual a fase orgânica é constituída por solvente orgânico apolar e o polímero, juntamente com a substância ativa, são incorporados através de dissolução ou dispersão. O tensoativo utilizado é do tipo O/A, como, por exemplo, o acetato de polivinila (PVA) e incorporado na emulsão, juntamente com a fase aquosa. Logo após o processo de emulsificação, a formulação é homogeneizada em alta pressão, ou através de ultrassom. Finalmente, o solvente orgânico é removido por evaporação, e ocorre a precipitação do polímero e, conseqüentemente, a formação das nanoesferas (SOUTO, E. B.; SEVERINO, P.; SANTANA, M. H. A., 2012).

4.4.1.2. Método de síntese por emulsificação espontânea

Neste método, as nanopartículas poliméricas presentes na fase oleosa, são formadas utilizando solventes solúveis em água, como, por exemplo, acetona ou metanol, juntamente com solventes orgânicos insolúveis em água, como, o diclorometano ou clorofórmio. Entre as duas fases criadas, aplica-se uma turbulência interfacial, a qual se dá pela difusão espontânea do solvente solúvel em água,

originando as nanopartículas. Neste processo, o tamanho de partícula gerado é menor, à medida que a concentração do solvente solúvel em água aumenta (JEEVANANDAM, J.; CHAN, Y. S.; DANQUAH, M. K., 2016).

4.4.1.3. Método de síntese por *salting-out*

No método de síntese por *salting-out*, uma emulsão O/A é preparada, pela adição de uma fase interna, constituída por uma solução do polímero em solvente orgânico polar, na qual a substância ativa está dispersa ou dissolvida, a uma fase externa, composta por uma solução de eletrólito ou não eletrólito e um tensoativo, por exemplo, o PVA. Em seguida, a emulsão é submetida à agitação intensa, em temperatura ambiente. A precipitação do polímero, com a consequente formação das nanoesferas, ocorre após a diluição da emulsão em um volume adequado de água deionizada, permitindo que ocorra a difusão do solvente para a fase externa. Por fim, as nanoesferas são separadas do excesso de eletrólito e do tensoativo por processos de ultracentrifugação e ultrafiltração, obtendo-se uma dispersão aquosa de nanoesferas (SOUTO, E. B.; SEVERINO, P.; SANTANA, M. H. A., 2012).

4.4.1.4. Método de síntese por nanoprecipitação

Neste método, a precipitação ou deposição interfacial do polímero pré-formado ocorre na interface de uma emulsão O/A. A fase interna é composta pelo polímero dissolvido num solvente orgânico polar, onde a substância ativa se encontra dispersa ou dissolvida. A fase externa é constituída por uma solução aquosa, que contém um tensoativo do tipo O/A, por exemplo, o PVA ou um poloxâmero. A emulsificação ocorre após a dispersão da fase interna na fase externa, em agitação magnética, a qual forma um sistema opalescente. As nanopartículas são formadas após a remoção em pressão reduzida do solvente orgânico (SOUTO, E. B.; SEVERINO, P.; SANTANA, M. H. A., 2012).

A nanoprecipitação é um método simples, rápido e reproduzível que permite obter tanto nanoesferas quanto nanocápsulas (JEEVANANDAM, J.; CHAN, Y. S.; DANQUAH, M. K., 2016). As nanoesferas são obtidas quando a substância ativa está dissolvida ou dispersa na solução polimérica. Já as nanocápsulas são obtidas quando a substância ativa é dissolvida em óleo, e este óleo é emulsificado na

solução polimérica antes da dispersão da fase interna na fase externa no processo de emulsificação (SOUTO, E. B.; SEVERINO, P.; SANTANA, M. H. A., 2012).

4.4.1.5. Método de síntese por diálise

O método de diálise é simples e efetivo para a síntese de nanopartículas poliméricas pequenas e bem distribuídas. O método consiste em dissolver o polímero em um solvente orgânico, e em seguida, submetê-lo a diálise contra um solvente não miscível. Este método apresenta desvantagens importantes, como, por exemplo, a instabilidade das nanopartículas e a baixa eficiência na incorporação da substância ativa (JEEVANANDAM, J.; CHAN, Y. S.; DANQUAH, M. K., 2016).

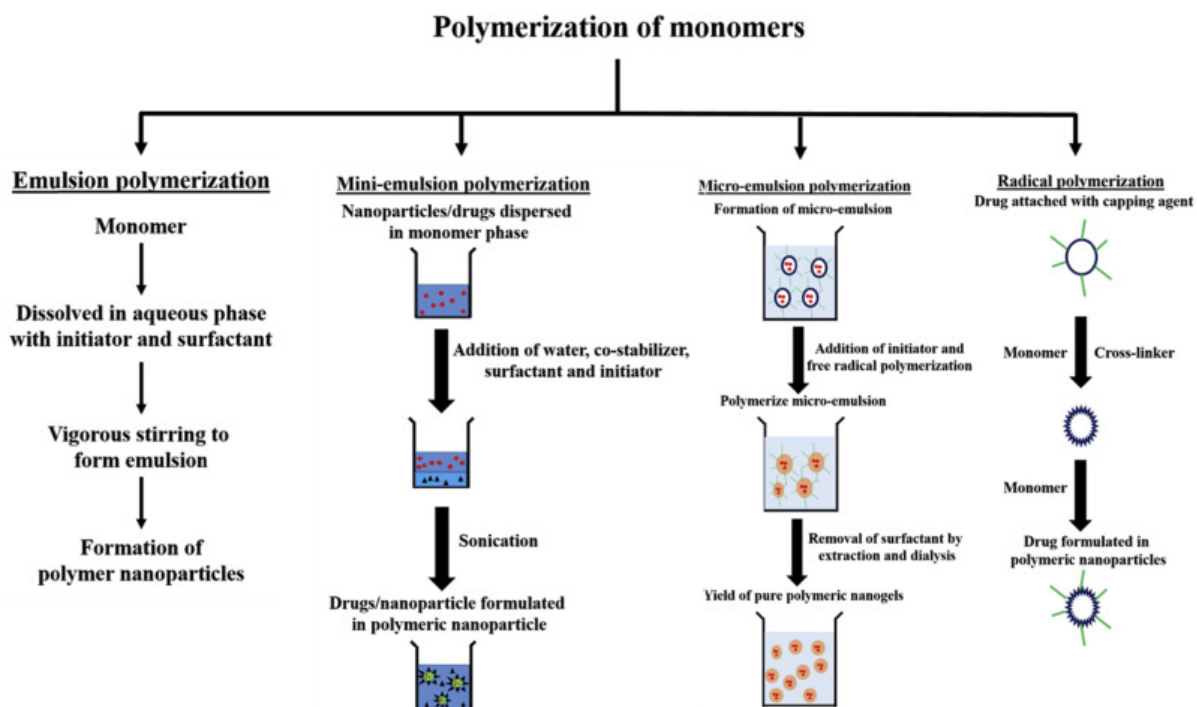
4.4.2. Tecnologia de fluídos supercríticos

Este método permite a síntese de nanopartículas poliméricas sem a necessidade de utilização de solventes tóxicos prejudiciais ao meio-ambiente. O processo de síntese consiste em dissolver os solutos em um fluído supercrítico para formar uma solução, e em seguida, fazê-la atravessar por um capilar. A produção de nanopartículas bem dispersas é facilitada pela supersaturação, pela rápida redução de pressão na expansão e pela nucleação homogênea. A principal desvantagem no emprego desse método deve-se à baixa solubilidade que os polímeros de alto peso molecular apresentam nos fluídos supercríticos. Sendo assim, a utilização desses polímeros nesse processo torna-se mais difícil (JEEVANANDAM, J.; CHAN, Y. S.; DANQUAH, M. K., 2016).

4.4.3. Polimerização de monômeros

Há diferentes processos existentes para a síntese de nanopartículas poliméricas por meio da polimerização de monômeros. Dentre elas: a emulsificação, a mini-emulsificação, a micro-emulsificação e a polimerização radical controlada (JEEVANANDAM, J.; CHAN, Y. S.; DANQUAH, M. K., 2016). Esses processos estão esquematizados na figura abaixo (Figura 3), e serão abordados a seguir.

Figura 3 – Métodos de síntese por polimerização de monômeros



Fonte: Jeevanandam, J.; Chan, Y. S.; Danquah, M. K., 2016.

4.4.3.1. Emulsificação

Este método difere da emulsificação convencional por não utilizar agentes emulsionantes. Sendo assim, é considerado um método de síntese atóxico para a produção de nanopartículas. Os reagentes comumente utilizados incluem: água, persulfato de potássio e monômeros, como, por exemplo, o vinil. Entretanto, a principal limitação deste método é o aumento do tamanho da nanopartícula, que ocorre devido à ausência de agentes emulsionantes (JEEVANANDAM, J.; CHAN, Y. S.; DANQUAH, M. K., 2016).

4.4.3.2. Mini-emulsificação

A mini-emulsificação é diferente do método anterior por utilizar um co-estabilizador de baixo peso molecular para a formação do polímero. Além disso, são também utilizados na formulação: água, mistura de monômeros, surfactante e um iniciador. Devido ao uso de surfactantes, as propriedades das nanopartículas são alteradas, sendo necessária a utilização de estabilizantes durante o processo de polimerização (JEEVANANDAM, J.; CHAN, Y. S.; DANQUAH, M. K., 2016).

4.4.3.3. Micro-emulsificação

As nanopartículas poliméricas obtidas por meio deste método possuem propriedades interessantes, tais como: baixíssima tensão interfacial, área interfacial larga e capacidade de solubilizar compostos hidrofílicos e hidrofóbicos, tornando-as termodinamicamente estáveis em viscosidade baixa. Diferentes fatores afetam a cinética de polimerização, bem como as propriedades das nanopartículas poliméricas, os quais são: a concentração e o tipo de iniciador, surfactante, monômero e a temperatura da reação (JEEVANANDAM, J.; CHAN, Y. S.; DANQUAH, M. K., 2016).

4.4.3.4. Polimerização radical controlada

Este procedimento de polimerização é capaz de controlar a massa molar, a distribuição de massa molar, a arquitetura e a função dos polímeros. Sua principal vantagem se dá pela capacidade de reduzir a polidispersão do polímero. Por outro lado, a complexidade desse processo, seu alto custo e a presença de resíduos dos agentes de controle no produto, são as principais desvantagens (JEEVANANDAM, J.; CHAN, Y. S.; DANQUAH, M. K., 2016).

4.5. Controle de qualidade dos sistemas nanoparticulados

4.5.1. Importância do controle de qualidade de medicamentos

O controle de qualidade de medicamentos tem papel fundamental na garantia da segurança e eficácia terapêutica, abrangendo atividades que assegurem que a liberação do produto seja feita somente após a realização de ensaios pertinentes ao medicamento, e que, estes ensaios expressem resultados confiáveis de forma a garantir a sua qualidade (LA ROCA, M. F. *et al.*, 2007).

No contexto das BPF, o controle de qualidade de medicamentos deve ser contínuo e não se limitar somente aos ensaios laboratoriais, pois é igualmente importante garantir a qualidade dos insumos que serão utilizados no processo produtivo, bem como, do medicamento disponível no mercado (CORRÊA, J. C. V., 2003).

Sendo assim, outras atividades relacionadas aos medicamentos, tais como, distribuição, transporte, armazenagem, comercialização e manipulação, se

realizadas inadequadamente, interferem de maneira significativa na qualidade do medicamento (COSTA, E. A. *et al.*, 2017).

4.5.2. Métodos desenvolvidos para doseamento de sistemas nanoparticulados

Com o objetivo de obter resultados confiáveis, os métodos analíticos empregados para a análise de medicamentos devem ser validados, seguindo normas nacionais, internacionais e sistemas da qualidade, que asseguram que o método analítico em questão é adequado para a finalidade pretendida (LA ROCA, M. F. *et al.*, 2007).

Ao longo dos últimos anos, muitos estudos foram realizados com o objetivo de desenvolver e validar metodologias analíticas para doseamento de fármacos incorporados aos sistemas nanoparticulados. Alguns desses métodos são apresentados na tabela 1, que resume o doseamento de diferentes fármacos por análises simples de cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa.

Tabela 1 – Métodos analíticos para sistemas nanoparticulados

Fármaco/ Sistema Carreador	Preparo da amostra	Condições cromatográficas	Resultados	Referências
Lupeol nanocápsulas poliméricas	Extração sólido-líquido com etanol. Centrifugação a 3000 rpm por 5 minutos. Filtração em membrana (0,45 µm).	Coluna C8 Chromospher (250 x 4,0 mm, 5 µm); Fase Móvel: acetonitrila- metanol (0,1% ácido acético) (95:5 v/v); Fluxo: 1,2 mL/min.; Vol. de injeção: 20 µL; Temperatura: 35 °C; Leitura: 210 nm	Método seletivo; robusto; linear, na faixa de 10 a 250 µg/mL e coeficiente linear de 0,9996; preciso e exato, desvio padrão relativo (DPR) inferior a 5%; limite de detecção (LD) de 7 µg/mL; limite de quantificação (LQ) de 10 µg/mL.	Naves, L. N. <i>et al.</i> , 2014.
Anfotericina B nanopartículas de poli (ácido lático)- polietilenoglicol (PLA-PEG)	Extração sólido-líquido com metanol. Filtração em membrana (0,22 µm).	Coluna C18 Xterra Waters® (250 x 4,6 mm, 5 µm); Fase Móvel: ácido acético 9%-acetonitrila (40:60 v/v); Fluxo: 1 mL/min.; Vol. de injeção: 20 µL; Temperatura: 25 °C; Leitura: 408 nm	Método seletivo; robusto; linear, na faixa de 1 a 20 µg/mL e coeficiente linear de 0,9998; preciso e exato, DPR 0,59%; LD: 18 ng/mL; LQ: 55 ng/mL.	Rodrigues, C. D.; Khalil, N. M.; Mainardes, R. M., 2014.

Dipropionato de beclometasona suspensão de nanocápsulas	Extração sólido-líquido com metanol. Filtração em membrana (0,45 µm).	Coluna C18 Phenomenex® (250 x 4,6 mm, 5 µm); Fase Móvel: metanol-água (70:30 v/v); Fluxo: 1 mL/min.; Vol. de injeção: 50 µL; Temperatura: 25 °C; Leitura: 254 nm	Método seletivo; robusto; linear, na faixa de 5 a 25 µg/mL e coeficiente linear de 0,9993; preciso e exato, DPR abaixo de 2%; LD: 0,16 µg/mL; LQ: 0,54 µg/mL.	Chassot, J. M. <i>et al</i> , 2015.
Meloxicam nanocápsulas PEGuiladas	Extração líquido-líquido com metanol. Centrifugação a 4000 rpm por 10 minutos.	Coluna C18 Phenomenex® Luna (250 x 4,6 mm, 5 µm); Fase Móvel: metanol-ácido fosfórico (1% v/v) pH 2,5 (70:30 v/v); Fluxo: 1 mL/min.; Vol. de injeção: 20 µL; Temperatura: 25 °C; Leitura: 360 nm (DAD)	Método seletivo; robusto; linear, na faixa de 1 a 40 µg/mL e coeficiente linear de 0,9999; preciso e exato, DPR abaixo de 2%; LD: 0,59 mg/mL; LQ: 1,78 mg/mL.	Ianiski, F. R. <i>et al</i> , 2015.
Haloperidol nanopartículas lipídicas sólidas	Extração líquido-líquido com álcool isopropílico. Centrifugação a 4000 rpm por 10 minutos.	Coluna C18 Cosmosil (250 x 4,6 mm, 5 µm); Fase Móvel: dihidrogenofosfato de potássio-acetonitrila-trietilamina pH 3,5 (10:90:0,1 v/v); Fluxo: 2 mL/min.; Vol. de injeção: 20 µL; Temperatura: 25 °C; Leitura: 230 nm	Método seletivo; robusto; linear, na faixa de 1 a 16 µg/mL e coeficiente linear de 0,9995; preciso e exato, DPR abaixo de 2%; LD: 0,045 µg/mL; LQ: 0,135 µg/mL.	Yasir, M.; Sara, U. V. S.; Som, I., 2017.
Halcinoniida nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) / nanopartículas de núcleo lipídico (NNL)	Filtração em membrana (0,45 µm).	Coluna C18 Inertsil® ODS3 GL Sciences (150 x 4,6 mm, 5 µm); Fase Móvel: metanol-água (85:15 v/v); Fluxo: 1 mL/min.; Vol. de injeção: 20 µL; Temperatura: 25 °C; Leitura: 239 nm	Método seletivo; robusto; linear, na faixa de 10 a 40 µg/mL e coeficiente linear de 0,9994; preciso e exato, DPR abaixo de 2%; LD: 0,04 µg/mL; LQ: 0,14 µg/mL.	Lopes, C. E. <i>et al</i> , 2017.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

De acordo com os dados apresentados na tabela anterior, os métodos para doseamento e identificação de fármacos veiculados por sistemas poliméricos nanoparticulados são reprodutíveis e de fácil implantação no laboratório de ensaios físicos e químicos em medicamentos do Instituto Adolfo Lutz, necessitando apenas validar parcialmente as metodologias descritas anteriormente.

Além disso, os insumos utilizados para o preparo da amostra, bem como aqueles necessários ao atendimento das condições cromatográficas descritas, são também utilizados para a análise de outras formas farmacêuticas convencionais,

sem haver, portanto, a necessidade de investimento em novos materiais ou equipamentos.

Sendo assim, os métodos apresentados atenderam de maneira satisfatória os parâmetros de seletividade, linearidade, precisão, exatidão e robustez para o doseamento de fármacos de diferentes classes terapêuticas, incorporados em nanocápsulas, suspensões de nanocápsulas ou nanopartículas, as quais foram formuladas por diferentes métodos de síntese.

4.5.3. Regulação sanitária de medicamentos

A regulação sanitária de medicamentos surgiu de uma necessidade de combater medicamentos ineficazes e desnecessários, os quais colocavam em risco a saúde da população. Ainda hoje, a regulação sanitária de medicamentos é um grande desafio, pois medicamentos de má qualidade, falsificados ou que possuem outras irregularidades são muito comuns no mercado (COSTA, E. A. *et al.*, 2017).

Dentre as diferentes ações que fazem parte da regulação sanitária de medicamentos, a fiscalização é o principal instrumento para a verificação da conformidade da empresa responsável pela fabricação do medicamento, suas condições sanitárias de funcionamento, bem como, o cumprimento das normas de fabricação, distribuição e comercialização de seus produtos, os quais devem atender às especificações de qualidade declaradas no registro do medicamento (CORRÊA, J. C. V., 2003).

No Brasil, a ANVISA é o órgão responsável pela regulação sanitária de medicamentos, e suas ações têm como objetivo a promoção da qualidade, a segurança e eficácia dos medicamentos. Também abrange a formulação de normas e padrões, bem como, todo o processo de registro do produto, desde a autorização de ensaios clínicos, o licenciamento de instalações e pessoal, o controle de qualidade e o monitoramento de reações adversas ao medicamento, emissão de alertas e recolhimento de produtos (COSTA, E. A. *et al.*, 2017).

Em relação aos sistemas nanoparticulados, sua regulação por parte das agências regulatórias é um desafio no Brasil e no mundo, pois muitos desses sistemas não possuem estudos de toxicidade, além disso, devido à necessidade de mais estudos *in vivo*, não se sabe exatamente como as propriedades dos

nanocarreadores são afetadas quando estão presentes em sistemas biológicos (KARIM, R. *et al.*, 2016).

4.6. Aplicações terapêuticas dos sistemas nanoparticulados

A aplicação dos sistemas nanoparticulados apresenta diversas vantagens terapêuticas promissoras, sendo a vetorização de fármacos anticancerígenos e antibióticos a principal delas. A administração parenteral destes fármacos em sistemas nanoparticulados garante uma distribuição mais seletiva, e consequentemente um aumento no índice terapêutico. Fármacos causadores de irritações gastrointestinais podem ser incorporados a estes sistemas, como, por exemplo, anti-inflamatórios não esteroides (diclofenaco, indometacina, etc.), diminuindo seus efeitos colaterais, e consequentemente, aumentando a adesão ao tratamento. Além desses, os fármacos que sofrem degradação no trato gastrointestinal, como as proteínas e hormônios, tem sua biodisponibilidade aumentada quando incorporados a estes sistemas (SCHAFFAZICK, S. R. *et al.*, 2003).

A Tabela 2 apresenta de forma resumida alguns exemplos de aplicação terapêutica na administração de fármacos, em forma de nanocápsulas ou nanopartículas, bem como os resultados e limitações observados nesses estudos.

Tabela 2 – Aplicações terapêuticas dos sistemas nanoparticulados

Aplicação	Sistema carreador	Resultados	Limitações	Referências
Administração de doxorubicina	Nanocápsulas de poli (ácido metacrílico) – perfluorohexano (PMAA-PFH)	Nanocápsulas uniformes, pequenas e leves capazes de penetrar tecidos tumorais. Alta eficiência de encapsulação (93,5%). O PFH incorporado aumentou o sinal gerado pelo ultrassom, garantindo aplicações de diagnóstico e terapia por imagem.	Foram realizados somente estudos <i>in vitro</i> e pré-clínicos.	Yang, P. <i>et al.</i> , 2014.
Administração de camptotecina em células de glioblastoma	Nanocápsulas	O tratamento apresentou melhores resultados após 40h, em comparação à administração de camptotecina livre. Liberação controlada do fármaco, impedindo sua degradação rápida.	Foi realizado somente estudo <i>in vitro</i> .	Parekh, G. <i>et al.</i> , 2014.

Administração de doxorubicina em glioblastoma multiforme	Nanopartículas de poli (butil cianoacrilato) (PBCA)	Redução do tumor, não apresentou neurotoxicidade, redução de necrose. Capaz de passar pela barreira hematoencefálica, concentrações terapêuticas significativas encontradas em cérebro de ratos.	Foram realizados somente estudos <i>in vitro</i> e pré-clínicos.	Karim, R. <i>et al.</i> , 2016.
Transporte intracelular de proteínas	Nanopartículas de sílica	Transporte eficiente, garantindo estabilidade às proteínas.	Pode ser sequestrada por endossomos, baixa liberação no citosol. Realizado estudo <i>in vitro</i> .	Ray, M. <i>et al.</i> , 2017.
	Nanopartículas de ouro	Versatilidade, proteção contra atividade enzimática.	Suscetível a ser sequestrado por endossomos, Realizado estudo <i>in vitro</i> .	
	Nanocápsulas-nanopartículas estabilizadas	Rápida liberação no citosol, liberação intracelular.	Realizado estudo <i>in vitro</i> .	

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

5. CONCLUSÃO

Os sistemas nanoparticulados representam um avanço muito importante na terapia de doenças complexas, como é o caso do câncer, bem como em tratamentos mais simples, sendo capaz de melhorar a biodisponibilidade de determinados fármacos suscetíveis à degradação no trato gastrointestinal e, até mesmo reduzindo os efeitos adversos já conhecidos de muitos outros, dada pela sua capacidade de direcionar o fármaco de modo mais eficiente.

No entanto, por serem formas farmacêuticas complexas, muitos desafios precisam ser considerados. Em primeiro lugar, a ausência de estudos mais detalhados sobre o comportamento dos polímeros nos sistemas biológicos impede uma compreensão mais clara da segurança, toxicidade e a estabilidade dessas formulações. Em segundo lugar, ainda torna-se necessário um maior desenvolvimento no processo de produção dessas formulações, já que muitos deles são inviáveis em escala industrial, devido, principalmente ao grau de complexidade e alto custo. E por fim, a ausência de materiais de referência e padronizados dificulta o controle de qualidade dessas formulações, tornando-se difícil a sua reprodução por parte dos laboratórios oficiais.

Portanto, apesar das dificuldades técnicas apresentadas, com o avanço das pesquisas nesse tema, certamente estas serão contornadas e em um breve futuro, os medicamentos nanoparticulados estarão disponíveis como arsenal terapêutico para auxiliar no tratamento das mais diversas patologias.

REFERÊNCIAS

- COSTA, E. A. *et al.* Situação sanitária dos medicamentos na atenção básica no Sistema Único de Saúde. [S.l.]. **Revista Saúde Pública**, v. 51, supl. 2, p. 1-12, 2017.
- LOPES, C. E. *et al.* **A simple HPLC method for the determination of halcinonide in lipid nanoparticles**: development, validation, encapsulation efficiency, and *in vitro* drug permeation. [S.l.]. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 53, n. 2, p. 1-9, 2017.
- RAY, M. *et al.* Intracellular delivery of proteins by nanocarriers. Londres. **Nanomedicine**, v. 12, n. 8, p. 941-952, 2017.
- YASIR, M.; SARA, U. V. S.; SOM, I. Development of a new HPLC method for *in vitro* and *in vivo* studies of Haloperidol in solid lipid nanoparticles. [S.l.]. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 53, n. 2, p. 1-13, 2017.
- JEEVANANDAM, J.; CHAN, Y. S.; DANQUAH, M. K. **Nano-formulations of drugs**: recent developments, impact and challenges. [S.l.]. **Biochimie**, v. 128-129, p. 99-112, 2016.
- KARIM, R. *et al.* **Nanocarriers for the treatment of glioblastoma multiforme**: current state-of-the-art. [S.l.]. **Journal of Controlled Release**, v. 227, p. 23-37, 2016.
- CHASSOT, J. M. *et al.* Stability-indicating RP-HPLC method for determination of beclomethasone dipropionate in nanocapsule suspensions. [S.l.]. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 51, n. 4, p. 803-810, 2015.
- IANISKI, F. R. *et al.* Validation of high performance liquid chromatography method for determination of meloxicam loaded PEGylated nanocapsules. [S.l.]. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 51, n. 4, p. 823-832, 2015.
- MEYAGUSKU, V. M. **Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas lipídicas sólidas contendo ciprofloxacino**. 2014. 96f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, Araraquara, 2014.
- NAVES, L. N. Desenvolvimento de método analítico de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para quantificação de Lupeol em nanocápsulas poliméricas. [S.l.]. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 3, p. 473-478, 2014.

PAREKH, G. *et al.* Layer-by-layer nanoencapsulation of camptothecin with improved activity. [S.l.]. **Int J Pharm.**, v.465, p. 218-227, 2014.

RODRIGUES, C. D.; KHALIL, N. M.; MAINARDES, R. M. Determination of amphotericin B in PLA-PEG blend nanoparticles by HPLC-PDA. [S.l.]. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 4, p. 859-868, 2014.

YANG, P. *et al.* Stimuli-responsive biodegradable poly(methacrylic acid) based nanocapsules for ultrasound traced and triggered drug delivery system. [S.l.]. **Biomaterials**, v. 35, p. 2079-2088, 2014.

RICO, L. M. M. **Sistemas nanoparticulados e a vetorização de fármacos no tratamento do cancro**. 2013. 68f. Dissertação (Mestrado) – Universidade do Algarve, Faro, 2013.

SOUTO, E. B.; SEVERINO, P.; SANTANA, M. H. A. Preparação de nanopartículas poliméricas a partir de polímeros pré-formados – parte II. [S.l.]. **Polímeros**, v. 22, n. 1, p. 101-106, 2012.

LA ROCA, M. F. *et al.* **Desenvolvimento e validação de método analítico: passo importante na produção de medicamentos**. [S.l.]. **Rev. Bras. Farm.**, v. 88, n. 4, p. 177-180, 2007.

CORRÊA, J. C. V. **Qualidade dos medicamentos comercializados no Brasil segundo dados do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde e do Instituto Adolfo Lutz**. 2003. 152f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

SCHAFFAZICK, S. R. *et al.* Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. [S.l.]. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.