

<b>LQES</b>	<b>MONOGRAFIA</b>
	<i><b>NANOESFERAS E A LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS</b></i>
	<i><b>Marcelo Mantovani Martiniano de Azevedo</b></i>

## **1. INTRODUÇÃO**

A tecnologia de liberação controlada de fármacos representa uma das fronteiras da ciência, a qual envolve diferentes aspectos multidisciplinares e pode contribuir muito para o avanço da saúde humana. Os sistemas de liberação, freqüentemente descritos como “drug delivery systems”, oferecem inúmeras vantagens quando comparados a outros de dosagem convencional. De fato, os trabalhos da literatura aqui escolhidos forneceram numerosas evidências do seguinte:

- i. Maior eficácia terapêutica, com liberação progressiva e controlada do fármaco, a partir da degradação da matriz;
- ii. Diminuição significativa da toxicidade e maior tempo de permanência na circulação;
- iii. Natureza e composição dos veículos variada e, ao contrário do que se poderia esperar, não há predomínio de mecanismos de instabilidade e decomposição do fármaco (bio-inativação prematura);
- iv. Administração segura (sem reações inflamatórias locais) e conveniente (menor número de doses);
- v. Direcionamento a alvos específicos, sem imobilização significativa das espécies bioativas;
- vi. Tanto substâncias hidrofílicas quanto lipofílicas podem ser incorporadas;

Estas novas estratégias para a veiculação incluem aplicações importantes da ciência de colóides, nas suas mais variadas formas (emulsões múltiplas e inversas, micro e nanogéis, lipossomas, micro e nanopartículas biodegradáveis, micro e nanocápsulas). Antes de considerarmos a utilização, a evolução e a variedade das nanopartículas aplicadas a estes sistemas, os quais implicam em dispositivos dirigidos a alvos específicos em organismos, é necessário avaliar a motivação que levou ao seu uso. Este trabalho também mostrará e discutirá novos desenvolvimentos nesta área, por utilização de nanopartículas como carregadores e as perspectivas para o futuro, juntamente com a devida avaliação crítica.

## 1.1. A MOTIVAÇÃO

Há um corrente interesse em materiais nanoestruturados devido ao seu potencial em várias áreas científicas e tecnológicas, como catálise, materiais optoeletrônicos, tribologia, liberação controlada de fármacos e bioencapsulação. Hoje em dia, este interesse envolve novos métodos de preparação muito interessantes, como por exemplo, a formação de nanopartículas sólidas a partir da liofilização de dispersões de polifosfato de alumínio, em meio aquoso, utilizando componentes de sistemas estritamente inorgânicos <sup>(1-5)</sup>.

Neste contexto, a utilização destes sistemas em liberação controlada de fármacos envolve um vasto campo de estudos e tem reunido muitos esforços, atualmente, na área de nanopartículas. Estes esforços estão representados pelas novas estratégias para a veiculação de ingredientes ativos <sup>(6-9)</sup>, os quais incluem aplicações importantes da ciência de polímeros e de soluções de surfactantes e o preparo de espécies coloidais, administração de vacinas de DNA <sup>(10,11)</sup>, além da utilização de técnicas transdérmicas <sup>(12,13)</sup>.

Este empenho por parte de pesquisadores do mundo todo se justifica, pois sistemas de liberação controlada oferecem várias vantagens quando comparados aos sistemas convencionais de administração de fármacos <sup>(14)</sup>. Nas formas de administração convencionais (spray, injeção, pílulas) a concentração da droga na corrente sanguínea apresenta um aumento, atinge um pico máximo e então declina. Desde que cada droga possui uma faixa de ação terapêutica acima da qual ela é tóxica e abaixo da qual ela é ineficaz, os níveis plasmáticos são dependentes das dosagens administradas. Este fato é problemático se a dose efetiva estiver próxima à dose tóxica. O objetivo dos sistemas de liberação controlada é manter a concentração do fármaco entre estes dois níveis por um tempo prolongado, utilizando-se de uma única dosagem <sup>(15,16)</sup>. A diferença de concentração plasmática efetiva em função do tempo, entre sistemas convencionais e de liberação controlada, pode ser melhor visualizado na Figura 1.

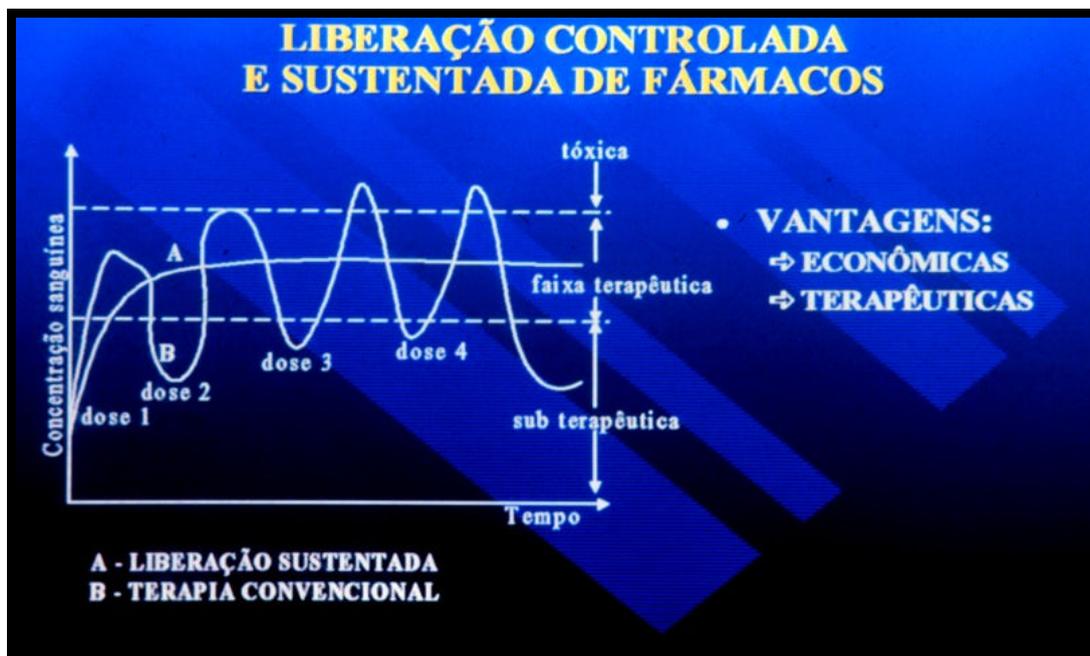
## 1.2. SISTEMAS DE NANOENCAPSULAMENTO DE FÁRMACOS

Como já vimos, sistemas de liberação controlada representam um desenvolvimento relativamente novo e, quanto à suas necessidades, têm o objetivo de prolongar e melhorar o controle da administração de fármacos.

Particularmente, a ciência e a tecnologia da nanoencapsulamento constituem um dos exemplos de como a aplicação de uma técnica em determinado campo pode ser estendida a outros (são as famosas "conexões"), aparentemente distantes <sup>(17)</sup>.

Os primeiros registros de tentativas de aplicação desta idéia datam dos anos 30, mas o primeiro produto com material encapsulado só surgiu em 1954. A empresa norte-americana Nacional Cash Register foi a pioneira ao comercializar um papel de cópia sem carbono ("no carbon

required”). Este papel recebia uma fina camada de microcápsulas (menores que 20  $\mu\text{m}$ ) contendo uma tinta incolor. Tal camada era recoberta com um reagente também incolor. A pressão da ponta do lápis sobre a superfície do papel rompia as microcápsulas, liberando a tinta incolor que, ao entrar em contato com o reagente, tornava-se colorida, produzindo uma outra folha com cópia idêntica ao que estava sendo escrito no primeiro papel.



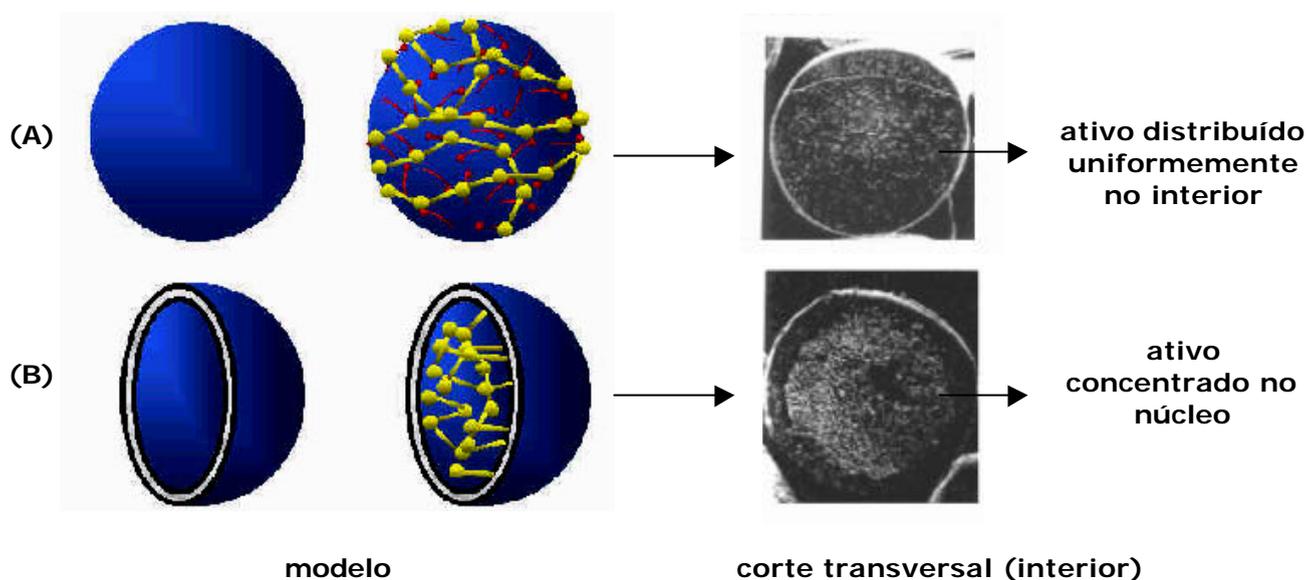
**Figura 1:** Perfis de liberação de drogas em função do tempo: convencional x controlada. (adaptado da Ref. 15).

É importante neste momento definirmos alguns termos relacionados a nanoencapsulamento. Estas estruturas variam grandemente <sup>(18)</sup> e vários tipos são possíveis. O termo nanopartículas é genérico, sendo usado de acordo com o tamanho da partícula a que se está referindo. Partículas com tamanho menor que 1  $\mu\text{m}$  são consideradas nanopartículas, enquanto que as partículas maiores são denominadas micropartículas. Existe uma certa controvérsia com relação ao tamanho limite para as micropartículas, uma vez que erroneamente alguns autores consideram partículas maiores que 1  $\mu\text{m}$  como micropartículas.

O termo nanopartículas aplicado à liberação controlada de fármacos é amplo e refere-se a dois tipos de estruturas diferentes, nanoesferas e nanocápsulas. Denominam-se esferas aqueles sistemas em que o fármaco encontra-se homogeneamente disperso ou solubilizado no interior da matriz polimérica. Desta forma obtém-se um sistema monolítico, onde não é possível identificar um núcleo diferenciado. Nanocápsulas, ao contrário, constituem os chamados sistemas do tipo reservatórios, onde é possível se identificar um núcleo diferenciado, que pode ser sólido ou

líquido. Neste caso, a substância encontra-se envolvida por uma membrana, geralmente polimérica, isolando o núcleo do meio externo.

Os métodos de obtenção são semelhantes, com diferenças no mecanismo de polimerização, como será visto adiante. A diferença morfológica entre a forma farmacêutica de nanoesfera (sistema polimérico matricial) e nanocápsula (sistema polimérico do tipo reservatório) está ilustrada na Figura 2.



**Figura 2:** Exemplos das diferentes formas farmacêuticas: (A) esfera (sistema matricial) e (B) cápsula (sistema reservatório) (adaptado da Ref. 19).

As pesquisas em torno da nanoencapsulamento foram embasadas pelo trabalho de Würster, por volta de 1950, com o processo patenteado de encapsulamento de finas partículas sólidas em leito fluidizado <sup>(20)</sup>. Em seguida vieram os processos de coacervação (inicialmente para encapsulamento de líquidos e tempos mais tarde como técnica preparativa de nanopartículas), implantes (primeiramente introduzidos nos anos 70) e aplicações transdérmicas (1980).

Na grande maioria dos trabalhos, os sistemas que se mostraram particularmente interessantes foram nanopartículas de polímeros biodegradáveis. Trata-se de um sistema em que o direcionamento do fármaco a sítios-alvo específicos do organismo é claramente identificável, sendo também bastante estável, não sendo reconhecido por macrófagos do sistema reticuloendotelial de defesa (dependendo de algumas modificações importantes, que veremos mais à frente). Trata-se, portanto, do melhor sistema ora disponível para se investigar o comportamento de carregadores coloidais em organismos vivos, estritamente ligados à liberação controlada de fármacos. Várias patentes relativas ao uso destes sistemas foram relatadas nos últimos anos, incluindo, por exemplo, nanopartículas ocas de proteínas com capacidade para biorechecimento molecular, auxiliadas por um transportador na liberação a células específicas,

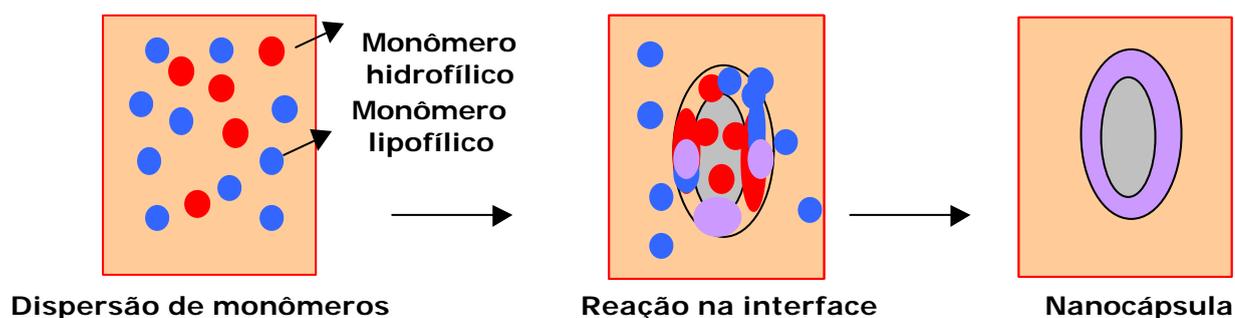
a preparação de nano e microesferas através de polimerização em micelas reversas <sup>(21)</sup> ou mesmo novas formulações de comprimidos com resistência gástrica, utilizando como componentes polivinilpirrolidona reticulado, alginato de sódio, goma xantana e bicarbonato de sódio, dirigindo-se a absorção ao trato gastrointestinal.

Há vários métodos diferentes de preparação <sup>(17,22)</sup> de sistemas nanoparticulados. Os mais destacados e utilizados são:

i. **Métodos Mecânicos:** se pensarmos em produção em larga escala, estes métodos podem ser úteis comercialmente. Um exemplo é o revestimento em leito fluidizado, em que partículas são mantidas em suspensão através de um fluxo de ar contínuo e são revestidas por atomização do material revestidor no leito de partículas suspensas. Existe também a centrifugação multiorifício, que utiliza centrifugação para lançar os núcleos através de uma membrana do material revestidor e o revestimento em turbinas, o qual consiste em revestir núcleos sólidos através da pulverização do material de revestimento, com fácil remoção do solvente pela corrente de ar. Entretanto, o método mecânico mais utilizado é o "Spray Drying" (secagem em spray), em que o fármaco, em solução ou dispersão, é nebulizado, juntamente com o material revestidor solubilizado ou fundido. Isto é feito em uma câmara de evaporação, causando a rápida solidificação das gotículas originando as partículas.

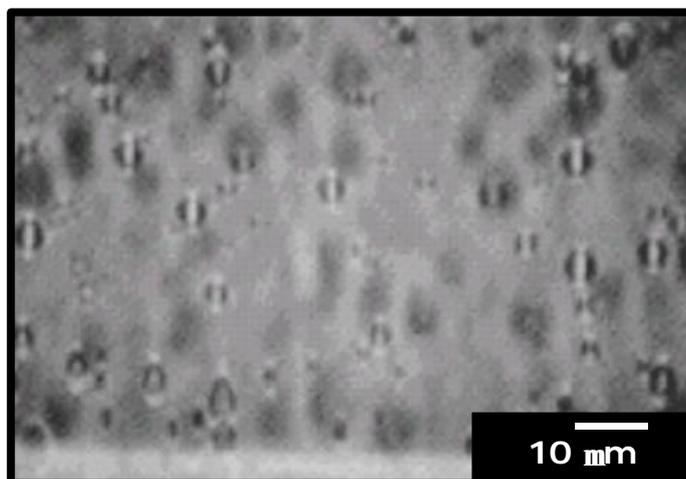
ii. **Métodos Físico-químicos:** de um modo geral, estes métodos estão baseados na dissolução de um fármaco, juntamente com um polímero, em determinado solvente, seguida pela adição, sob agitação constante, de um não-solvente à mistura. O não solvente causa a precipitação do polímero ou pode ocorrer também a separação de fases (muitas vezes chamados de processos de coacervação). Estes processos de coacervação podem ser divididos em simples (por mudança no pH, força iônica, temperatura) ou complexos (complexação entre dois polieletrólitos de carga oposta). É bom lembrar que existem casos em que a noção de coacervação não explica a separação de fases líquido-líquido, como é o caso de sistemas inorgânicos recentemente descobertos com polifosfato de sódio/nitrato de cromo/água, onde se tem separação de fases devida a grandes desvios da idealidade termodinâmica <sup>(23)</sup>.

A copolimerização interfacial, pelo contato entre os monômeros na interface, forma nanocápsulas, conforme ilustrado na Figura 3.



**Figura 3:** Método de copolimerização interfacial para se preparar nanocápsulas.

Métodos mais recentes envolvem a formação de nanopartículas a partir de fluidos supercríticos, em emulsões do tipo  $\text{H}_2\text{O}/\text{CO}_2$  supercrítico, conforme ilustrado na Figura 4 (neste caso, não é qualquer surfactante que pode se utilizado, pois deve ter boa solubilidade em  $\text{CO}_2$ , com fracas forças de dispersão das cadeias, como por exemplo, um perfluorpoliéter <sup>(24)</sup>).

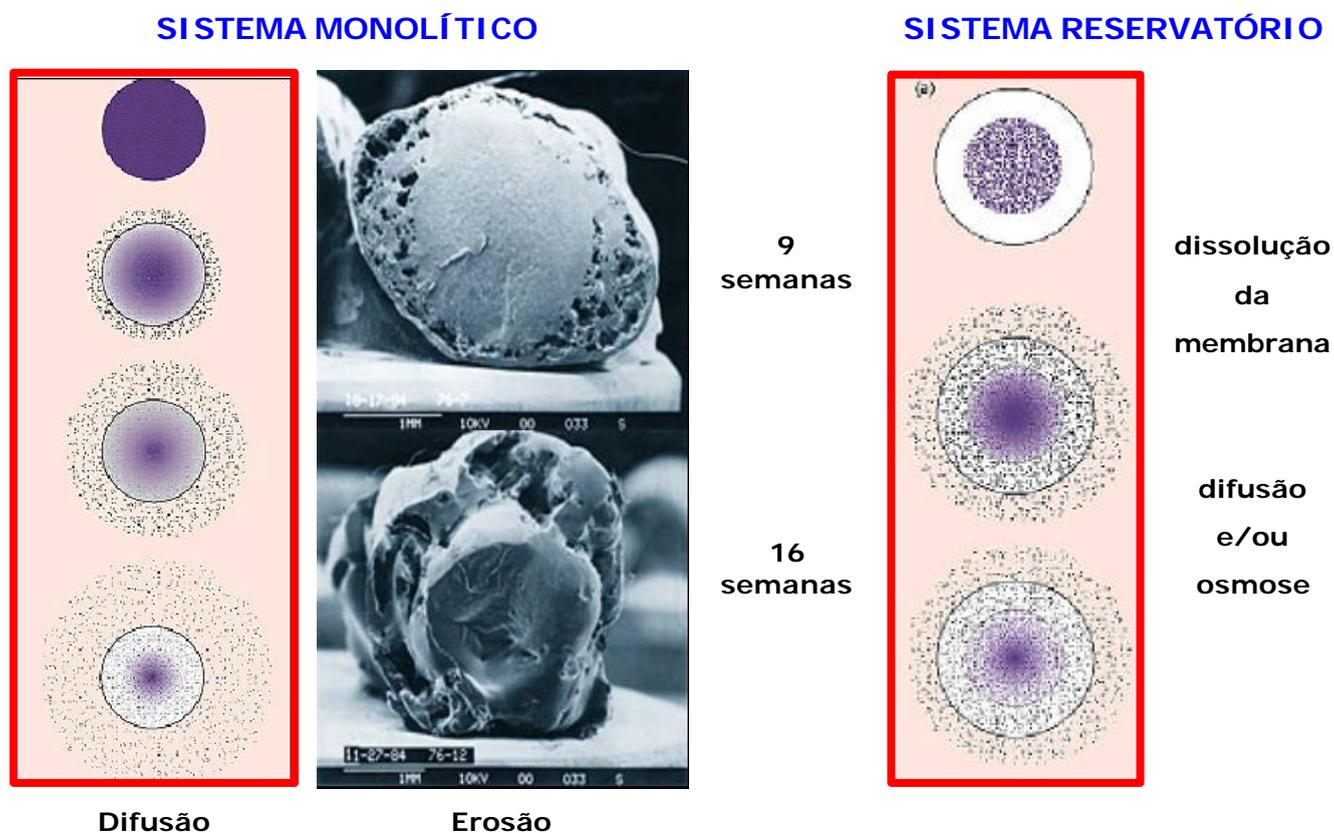


**Figura 4:** Imagem de emulsão supercrítica, formada por  $\text{H}_2\text{O}/\text{CO}_2$  supercrítico, utilizando o surfactante  $\text{CF}_3-(\text{O}-\text{CF}_2-\text{CF}-(\text{CF}_3)_n-(\text{O}-\text{CF}_2)-\text{COO}-\text{NH}_4^+$  (adaptado da Ref. 24).

Outro ponto importante a se tratar são os mecanismos pelos quais estas nanopartículas podem sofrer biodegradação no organismo humano. Se a matriz polimérica não degrada dentro do corpo ela deve ser cirurgicamente removida, implicando em um alto custo e risco para o paciente. Por exemplo, já havia registros no passado de sistemas alternativos para administração de vacinas <sup>(25)</sup>. Estes pesquisadores demonstraram que a produção de anticorpos em camundongos imunizados com uma única dose de um antígeno contido numa matriz polimérica não degradável, mantinha-se por mais de seis meses em níveis comparados aos dos camundongos imunizados por duas vezes com o mesmo antígeno. Entretanto, a aplicação desta estratégia suscitou a preocupação sobre os possíveis efeitos adversos que a presença deste material no organismo poderia ocasionar criando-se, desta forma, a necessidade de remoção cirúrgica do implante, após a liberação do antígeno. Neste sentido, a síntese de polímeros biodegradáveis contribuiu para a melhoria destes sistemas, visto que eles não requerem remoção cirúrgica e apresentam poucos efeitos colaterais. Matrizes poliméricas biodegradáveis já são biocompatíveis e degradáveis, isto é degradam *in vivo* em fragmentos menores que podem ser excretados pelo corpo. Estes produtos de degradação não são tóxicos, e não devem criar nenhuma resposta inflamatória. Outra característica importante é a degradação ocorrer em um razoável período de tempo, requerido pela aplicação.

Os sistemas de liberação controlada do tipo polimérico são classificados de acordo com vários mecanismos, já conhecidos há algum tempo <sup>(26)</sup>. Os sistemas controlados por difusão são os mais comuns e dois tipos são descritos. No primeiro, o agente bioativo (fármaco) forma uma partícula interna (caroço) envolvida por uma barreira de difusão inerte. Estes sistemas incluem membranas, cápsulas, nanocápsulas, lipossomas e fibras ocas. O segundo tipo é um sólido monolítico no qual o agente ativo é disperso ou dissolvido em um polímero inerte e a difusão do fármaco é a etapa limitante, sendo a taxa de liberação dependente da escolha do polímero.

Os sistemas controlados quimicamente fazem uso da bioerosão de polímeros, resultando na absorção dos resíduos pelo organismo. Bioerosão polimérica pode ser definida como a conversão do material insolúvel em água em um material solúvel. A droga também pode estar ligada covalentemente ao polímero e ser liberada por cisão da ligação por ação da água ou de enzimas. Nos sistemas controlados por solvente o agente ativo está dissolvido ou disperso na matriz polimérica e não se difunde através da matriz. Para que ocorra a difusão, o polímero deve se intumescer (por exemplo, com água), abaixando a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) e tornando o material mais plástico. Deste modo, o fármaco contido na matriz pode se difundir para o meio externo. As diferentes formas de liberação controlada mencionadas estão sumariadas na Figura 5 <sup>(27)</sup>.



**Figura 5:** Formas de liberação do ativo: nanoesferas e nanocápsulas (adaptado da Ref. 27).

### 1.3. MATERIAIS UTILIZADOS: POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS

A aplicação de materiais poliméricos para propósitos médicos está crescendo muito rápido e tem sido evidenciada em diversos campos como engenharia de tecidos, implante de dispositivos médicos e órgãos artificiais, próteses, oftalmologia, odontologia, reparo ósseo e outros.

Sistemas poliméricos de liberação de drogas são largamente utilizados e não só permitem uma liberação lenta e gradual do ingrediente ativo, como também podem possibilitar o direcionamento a alvos específicos do organismo, como sítios de inflamação ou tumor. Polímeros biologicamente degradáveis incluem portanto <sup>(28)</sup>:

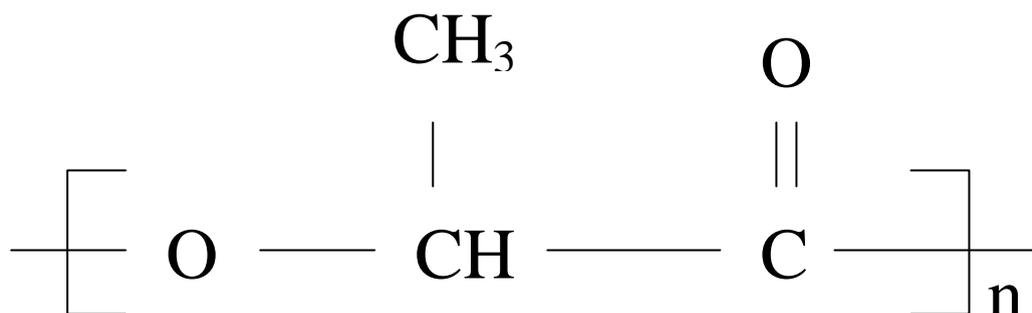
i. **Polímeros naturais:** são sempre biodegradáveis como, por exemplo, o colágeno, a celulose e a quitosana e são muito utilizados como matrizes em liberação de fármacos. Um exemplo é a aplicação de quitosana enxertada com poli(ácido acrílico), formando um copolímero, na confecção de nanoesferas para se estudar a liberação controlada em função do tempo, utilizando-se de eosina, um corante solúvel em água, como marcador <sup>(29)</sup>.

ii. **Polímeros naturais modificados:** um problema encontrado em polímeros naturais é que eles freqüentemente levam muito tempo para degradar. Isto pode ser resolvido adicionando-se grupos polares às cadeias, que por serem mais lábeis podem diminuir o tempo de degradação. Exemplos destas modificações podem ser a reticulação de gelatina utilizando-se formaldeído, a reticulação de quitosana utilizando-se glutaraldeído, levar celulose a acetato de celulose. Modificações enzimáticas também são utilizadas, como a modificação de quitosana por tirosinase.

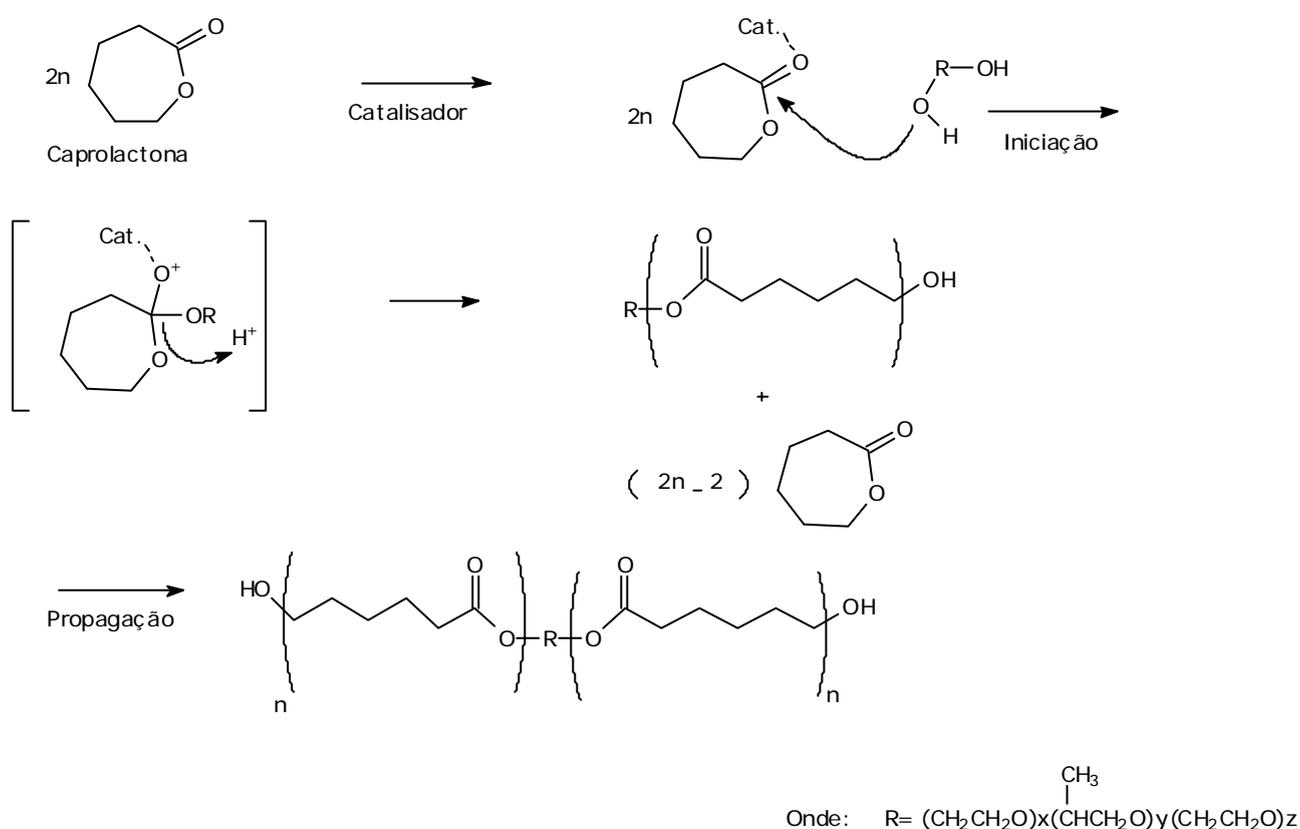
iii. **Polímeros sintéticos:** são também largamente utilizados, como, por exemplo, poli(etileno), poli(álcool vinílico), poli(ácido acrílico), poli(acrilamidas), poli(etilenoglicol), poliésteres. No caso dos poliésteres, estes são mais utilizados pelo químico e têm no poli(glicolide) o polímero alifático linear mais simples. O monômero glicolide é sintetizado a partir da dimerização do ácido glicólico e a polimerização por abertura de anel leva a materiais de alta massa molar, com aproximadamente 1-3% do monômero residual.

Na prática, copolímeros de glicolide com l-lactide e dl-lactide são os mais utilizados em sistemas de liberação controlada, com vantagens. Uma delas é o menor tempo de degradação. Este menor tempo de degradação se explica devido à amorfização provocada pela quebra da regularidade entre as cadeias na presença do monômero em copolímeros de l-lactide com 25—70% em glicolide. Uma estrutura típica de um polímero biodegradável é a do poli(ácido láctico), que está apresentada na Figura 6.

São também preparados copolímeros-bloco compostos de PEO-PPO-PEO (Pluronic, um copolímero-bloco relativamente hidrofílico) e poli( $\epsilon$ -caprolactona) (hidrofóbico) obtido a partir da abertura de anel de  $\epsilon$ -caprolactona na presença de PEO-PPO-PEO e catalisador octoato estanhoso, conforme esquematizado na Figura 7 <sup>(30)</sup>.



**Figura 6:** Estrutura da poli(ácido láctico).



**Figura 7:** Etapas da preparação de copolímeros-bloco compostos de PEO-PPO-PEO (relativamente hidrofílico) e poli(ε-caprolactona) (hidrofóbico) (adaptado da Ref. 30)

Os polímeros hidrofílicos, ou que possuem heteroátomos na cadeia, que são amorfos e que tem menor massa molar são mais facilmente degradados que polímeros hidrofóbicos, com predominância de ligações C-C, cristalinos e de mais alta massa molar.

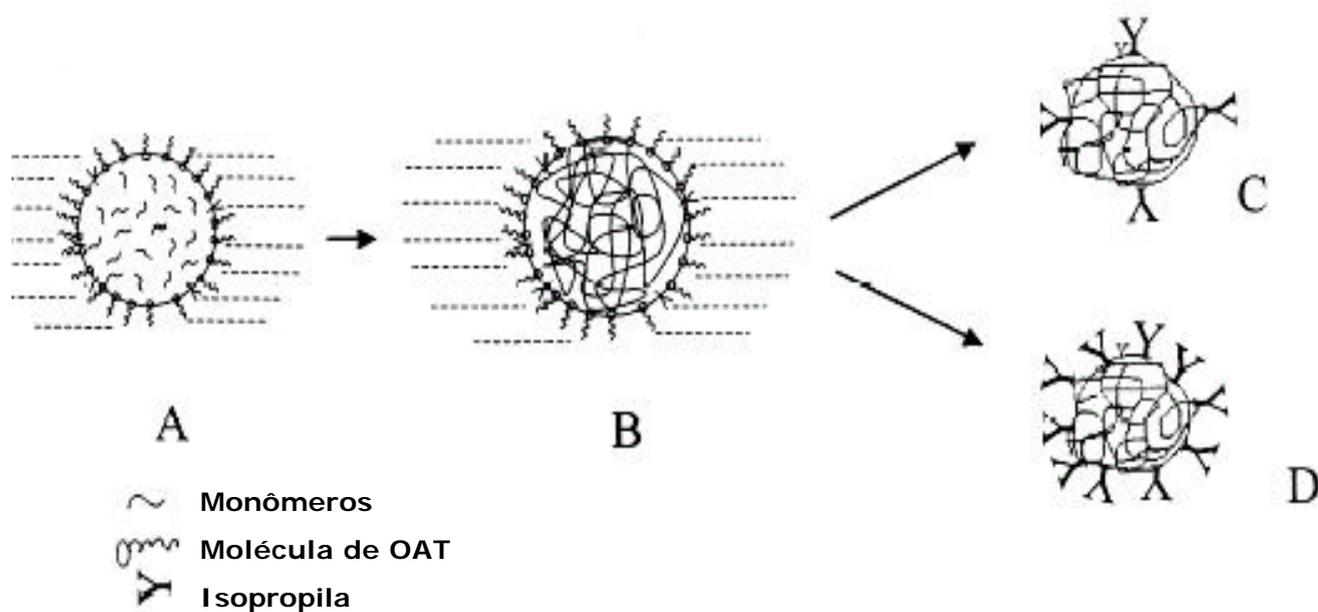
## 2. DESENVOLVIMENTO

Quanto à motivação que levou à descoberta e ao estudo dos sistemas de liberação controlada de fármacos, como já vimos, deve-se lembrar que, do ponto de vista do tratamento clínico, o controle de concentração terapêutica é importante, e foi, ao lado do direcionamento do fármaco a alvos específicos, um dos principais objetivos de todas estas pesquisas. Exploremos este conceito de concentração terapêutica. Para termos uma idéia do grau fundamental que uma liberação sustentada possui, imaginemos uma situação bastante comum da administração de analgésicos em pacientes com câncer terminal: nos casos em que a concentração da droga estiver abaixo da concentração terapêutica, o que é inerente a sistemas convencionais, o paciente experimentará dor (é a fase em que temos os “vales” como visto no gráfico da Figura 1). Por outro lado, os picos de concentração são prejudiciais em outro sentido: conferem uma dose que atinge níveis tóxicos no plasma. Portanto, em primeira instância, sistemas nanoparticulados são muito úteis na manutenção da dose terapêutica em níveis seguros, da diminuição dos picos e vales plasmáticos, além de conferir proteção e economia de fármaco. Neste contexto, como bem frisado na introdução, sistemas de liberação controlada representam um desenvolvimento relativamente novo e, quanto à suas necessidades, têm o objetivo de prolongar e melhorar o controle da administração de fármacos.

A preparação de nanopartículas passa a ser crucial e se concentra em dois pontos: modificações (aprimoramentos) que criem novas rotas ou melhorem outros métodos e funcionalização química das partículas.

No primeiro caso, um método de preparação interessante foi patenteado no Brasil <sup>(31)</sup>. Trata-se da aplicação da técnica de “Spray Drying” envolvendo a adição de partículas de SiO<sub>2</sub> antes da secagem, na preparação de nanocápsulas ou nanoesferas para encapsulação de diclofenaco, conhecido antiinflamatório. Com isto se consegue maior estabilidade da dispersão, melhor distribuição do tamanho das partículas, e uma viabilidade industrial para a produção das nanopartículas, evitando-se o processo de liofilização.

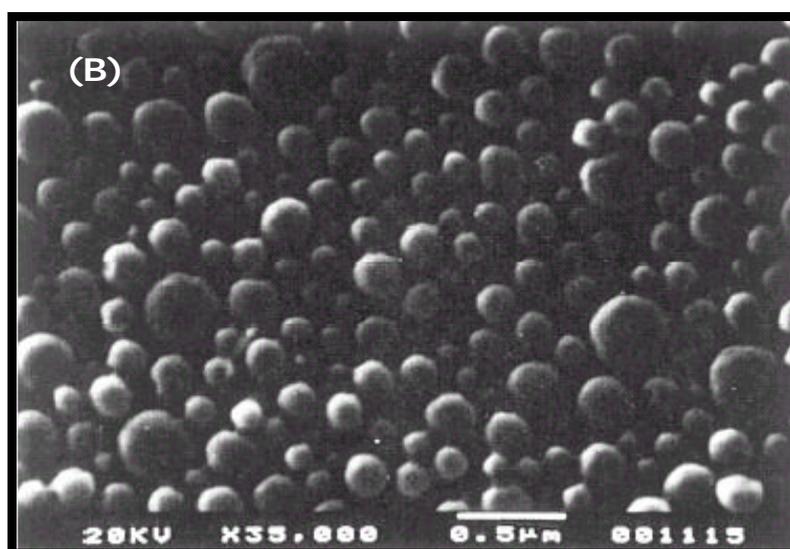
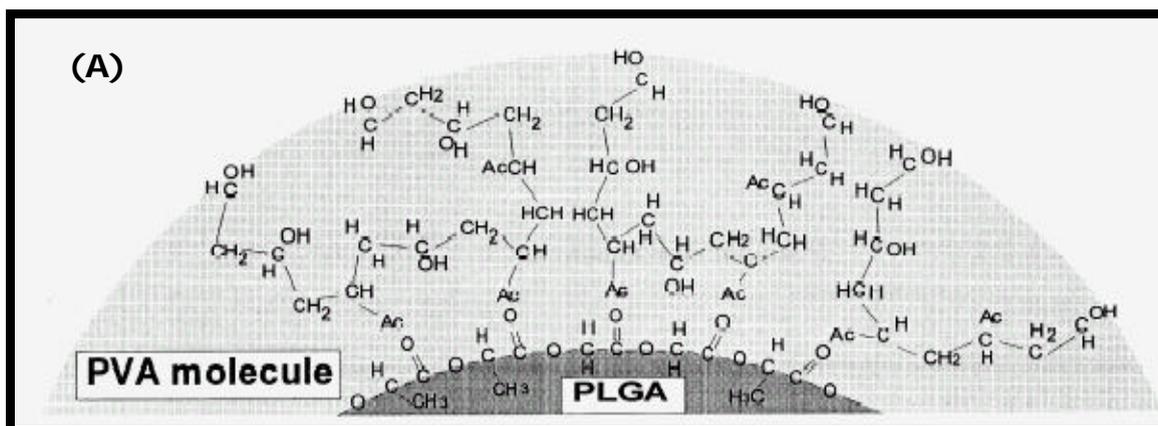
Modernamente, têm sido obtidas nanoesferas a partir de micelas poliméricas utilizando-se de hidrogéis de polivinilpirrolidona com isopropilacrilamida, pois foi verificado que seu tempo na circulação sanguínea era mais longo <sup>(32)</sup>. Um hidrogel é uma rede de polímeros hidrofílicos que são reticulados e que tem a propriedade de intumescer em ambientes abundantes em água <sup>(32)</sup>. A preparação destas nanoesferas é possível dentro de núcleos aquosos de gotas de micelas inversas e permite uma modulação precisa da distribuição de tamanho das partículas (preparadas com diâmetro menor que 100 nm). Desde que a reação de polimerização e subsequente encapsulação ocorre em núcleos aquosos, é possível encapsular moléculas hidrofílicas. A superfície destas partículas já é hidrofóbica, como mostrado na Figura 8, com maior tempo na circulação sanguínea.



**Figura 8:** Diagrama esquemático de preparação das nanopartículas copoliméricas. A: dissolução de monômero e reticulador em micela reversa de OAT; B: polimerização do monômero dentro do núcleo aquoso da micela; C, D: nanoesferas com mais e menos grupos isopropila projetados para o exterior, respectivamente (Adaptado da Ref. 33).

No segundo caso, as pesquisas em funcionalização química de superfície de nanopartículas muitas possibilidades estão sendo testadas. A adsorção de polímeros na superfície das nanopartículas é um fenômeno importante (ênfase química muito discutido em nosso curso, a famosa funcionalização), pois pode alterar sua hidrofobicidade, facilitando sua redispersão em água, o que é importante para efeitos de utilização em injeções além de alterar o direcionamento a alvos específicos do organismo, o que veremos mais a seguir. Na Figura 9a há uma representação esquemática de grupos hidroxila de moléculas de PVA fixadas a grupos acetil do PLGA, via ligação de grupos hidrofóbicos. As nanoesferas produzidas pelo método de evaporação de solvente, visualizadas por SEM <sup>(34)</sup>, estão ilustradas na Figura 9b.

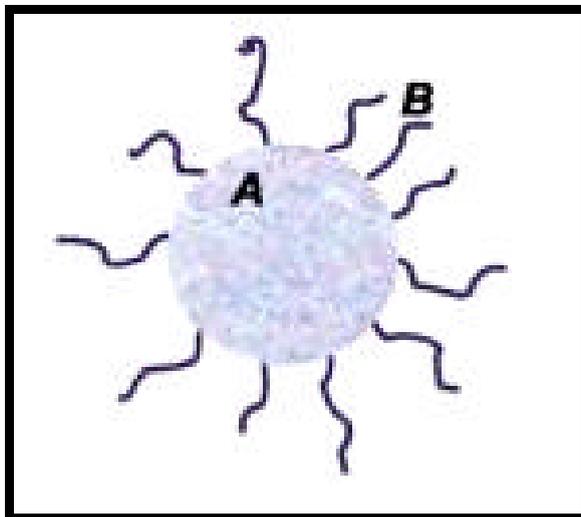
Os novos sistemas carregadores coloidais para liberação controlada e dirigida de fármacos procuram mudar a distribuição da substância ativa, aumentando a permanência na circulação sistêmica para que se alcance maior eficácia terapêutica, com doses menores, e baixa toxicidade. Logo, o potencial terapêutico destes dispositivos biodegradáveis encapsulando o ingrediente ativo depende do tempo de circulação na corrente sanguínea e, principalmente, do destino in vivo do carregador, que deve ser direcionado a alvos específicos (freqüentemente designados por “drug targets”) <sup>(35)</sup>. Entretanto, existe uma barreira importante para ser superada: o sistema reticuloendotelial <sup>(36)</sup>.



**Figura 9:** (A) Representação esquemática da orientação de PVA ligadas a moléculas de PLGA, na superfície de nanoesferas de PLGA. (B) Imagem obtida por SEM (topografia) de nanoesferas de PLGA. (adaptado da Ref. 34)

Após administração intravenosa de nanoesferas, assim como de outros carregadores coloidais, as proteínas do plasma conhecidas como opsoninas (imunoglobulinas IGM e IGG, relacionadas à resposta imune inata do organismo), são rapidamente adsorvidas na superfície das partículas. Esta adsorção de opsoninas leva ao rápido reconhecimento pelas células do reticuloendotelial (macrófagos, principalmente no baço e células de Kuppfer, no fígado) e conseqüente fagocitose das partículas, especialmente no fígado (60-90%), baço (2-20%), medula óssea (0,1-1%) e quantidades variadas nos pulmões<sup>(37)</sup>. Em função da existência destas barreiras, investigações estão sendo feitas recentemente, no sentido de reduzir a captura das partículas coloidais pelo sistema reticuloendotelial e assim aumentar a concentração destes veículos no sangue e conseqüentemente no alvo desejado<sup>(38-40)</sup>.

Uma das mais promissoras entre as várias estratégias que foram tentadas é utilizar nanopartículas que tenham em sua superfície cadeias de polímeros anfífilicos como por exemplo, o poli(óxido de etileno), PEO, como representado esquematicamente na Figura 10 <sup>(41)</sup>.



**Figura 10:** Nanoesfera sólida. (A) matriz contendo o fármaco e (B) cadeias de PEO (adaptado da Ref. 41)

Isto pode ser feito pela utilização de copolímeros-bloco <sup>(42)</sup> como, por exemplo, PEO-PLA, em que a porção hidrofóbica (PLA) forma a matriz polimérica (nanopartícula) enquanto que a porção hidrofílica forma a cobertura. A presença destes polímeros sobre a superfície da partícula decresce a adsorção de opsoninas e subsequente fagocitose, ou seja, o carregador não é reconhecido pelo sistema de defesa do organismo. Uma aplicação destes sistemas é a utilização de nanopartículas sólidas que encapsulem drogas anticâncer para serem direcionadas mais facilmente ao alvo.

Trabalhos importantes têm sido realizados com nanoesferas na liberação de fármacos para o cérebro <sup>(43)</sup>. A difusão passiva de substâncias através das células endoteliais do cérebro é dependente da massa molar e da lipofilicidade dos compostos. Entretanto, um grande número de espécies ativas que possuem lipofilicidade favorável e que normalmente deveriam ser capazes de transpor estas células, não o conseguem. Isto ocorre devido à existência de uma eficiente “bomba de efluxo”, incluindo transportadores aniônicos orgânicos (como P-glicoproteínas, às vezes referidas como proteína de resistência multi-droga). Estes sistemas são conhecidos como barreira hematoencefálica (“blood-brain barrier”), os quais representam um grande obstáculo para várias drogas, incluindo antibióticos, antioncoplásticos, e uma variedade de drogas atuantes no SNC (sistema nervoso central). Uma das possibilidades de vencer esta barreira é a utilização de nanoesferas para o transporte, por exemplo, de neuropeptídeos, para o tratamento de tumores

cerebrais. Para isto, as nanopartículas devem ser injetadas por via intravenosa e devem ser cobertas por uma camada de polisorbato para que possam mimetizar lipoproteínas de baixa densidade e, podendo assim interagir com receptores de LDL e difundir pelas células endoteliais do cérebro. Um número de possibilidades existe para explicar o mecanismo de transporte até as células cerebrais:

- i. um aumento na retenção de nanopartículas nos vasos capilares cerebrais combinada à adsorção nas paredes destes capilares. Isto pode criar um alto gradiente de concentração que aumentaria o transporte através das células endoteliais;
- ii. fluidização da membrana celular devido à ação do surfactante adsorvido na nanoesferas, que causa certa solubilização dos componentes lipídicos, aumentando a permeabilidade à droga;
- iii. as nanopartículas poderiam ocasionar um pequeno espaçamento entre as junções das células endoteliais e parte da droga liberada pelas partículas poderia difundir por este espaço e permear pelas membranas celulares;
- iv. endocitose de parte das nanopartículas pelas células endoteliais, seguida da liberação do ativo;
- v. permeação de nanopartículas com drogas ligadas pela membrana das células;
- vi. inibição do sistema de efluxo pela ação do polisorbato cobrindo as nanoesferas, especialmente P-glicoproteínas;

Logo, pode-se deduzir que as propriedades de superfície das partículas são fatores chave que determinam a permanência na circulação sistêmica e, aumentam a biodisponibilidade do ingrediente ativo. Entretanto, com a metodologia de se modificar a superfície de nanopartículas, não se conseguiu ainda evitar totalmente a ação, ainda que menor, do sistema reticuloendotelial.

### **3. CONCLUSÃO**

A nanotecnologia pode ser vista como a criação de materiais funcionais, dispositivos e sistemas através do controle da matéria na escala de nanômetros, implicando em sistemas que apresentem novos fenômenos e propriedades, que são dependentes do tamanho. Neste contexto “drug delivery systems” se enquadram perfeitamente e se valem destes novos fenômenos dependentes do tamanho (facilitando adsorção e difusão intermembranas, com alta adesão devido à superplasticidade destas partículas) e intrinsecamente também dependentes da funcionalização química, que envolve todos os métodos de preparação e suas modificações. Vimos que a grande motivação que levou ao estudo destas estruturas nanométricas aplicadas a sistemas biológicos foram as suas inúmeras vantagens como o direcionamento a alvos específicos, liberação progressiva do fármaco, menor toxicidade, menor número de doses (conveniência), diminuição dos picos plasmáticos, proteção e economia de fármaco.

A aplicação de materiais poliméricos biodegradáveis para propósitos médicos tem sua importância para estes sistemas, como vimos. Entretanto, é importante se fazer aqui uma

distinção entre alguns termos aplicados a esta classe de polímeros. Muitos materiais utilizados em aplicações biomédicas são ditos biocompatíveis. No caso de implantes, biocompatível significa que o polímero, após implantado, torna-se isolado dos tecidos do corpo por uma encapsulação natural de colágeno. Portanto, eles são realmente rejeitados pelo corpo, mas não induzem um efeito danoso, graças ao biofilme gerado em sua superfície. Entretanto, existem os polímeros biologicamente degradáveis, que tendem a se fragmentar em unidades menores dentro do corpo. Dois tipos de materiais podem ser incluídos neste caso: os biodegradáveis e os bioabsorvíveis. Estritamente falando, polímeros biodegradáveis são aqueles que degradam em fragmentos menores devido à ação de enzimas no organismo, enquanto que o termo bioabsorvível refere-se a polímeros menos estáveis à presença de água.

A preparação e funcionalização das nanopartículas utilizadas como carregadores são os pontos importantes da contribuição dos químicos. Vimos exemplos claros deste fato como a aplicação da técnica de "Spray Drying" envolvendo a adição de partículas de SiO<sub>2</sub> antes da secagem, obtenção de nanoesferas a partir de micelas poliméricas utilizando-se de hidrogéis de polivinilpirrolidona com isopropilacrilamida e a modificação química da superfície das partículas, utilizando-se da adsorção de polímeros, como grupos hidroxila de moléculas de PVA fixadas a grupos acetil do PLGA, via ligação de grupos hidrofóbicos.

#### **Análise crítica do passado recente e o que nós podemos esperar para o futuro.**

Aqui vou procurar desenvolver alguns pensamentos, exprimindo algumas idéias pessoais, a respeito da nanobiotecnologia (em particular, os sistemas de liberação controlada de fármacos), no meio científico e em nossas vidas, sem a mínima pretensão de abranger todos os fatos (que são muitos e se desenvolvem rapidamente, em várias áreas diferentes), mas com o intuito apenas de expor opiniões e analisar algumas possíveis correntes de incerteza relacionadas a estas tecnologias.

No texto apresentado foi exposta uma parte das inúmeras vantagens relacionadas a sistemas de liberação controlada de fármacos. De fato, ademais da eficácia terapêutica, ela é conveniente ao paciente, seja do ponto de vista de seu conforto e adesão ao tratamento, seja do menor custo em hospitais, com menor necessidade de internações, remoções cirúrgicas de implantes e complicações pós-cirúrgicas. Entretanto nada foi exposto a respeito de possíveis desvantagens associadas a estes tratamentos. Uma dificuldade seria interromper a ação farmacológica do medicamento, no caso de intoxicação ou alguma intolerância, inclusive com risco de acúmulo do fármaco se não for acompanhada a sua farmacocinética. Isto já não é problemático no caso das medicações transdérmicas, em que é possível retirá-las. Outros importantes fatores são as diferenças individuais, fazendo com que sejam necessários vários estudos farmacocinéticos e farmacodinâmicos, pois não se pode ter certeza de reprodutibilidade (variações de idade, estado

de saúde, metabolismo, como por exemplo, a variação de volume de esvaziamento gástrico ou uma velocidade de liberação mais lenta ou pouca absorção no intestino)

Muito se comenta que o custo elevado dos polímeros biodegradáveis pode ser um empecilho, com o que concordo, em parte. Em parte porque se pode diminuir este custo utilizando-se de blendas poliméricas (i.e., por extrusão de um polímero sintético com amido), viabilizando um pouco mais a obtenção de polímeros biodegradáveis de menor preço.

A possibilidade de re-patenteamento de fármacos mais antigos, pela reformulação em micro/nanoesferas é uma realidade. Mas, às vezes, nos deparamos com situações um tanto quanto estranhas: por exemplo, hoje há esforços para se encapsular diclofenaco, um antiinflamatório, (o que já se conseguiu, com sucesso). Entretanto, hoje se desenvolveu o CELEBRA, medicamento dito de última geração e que não provoca os habituais problemas gástricos e é o primeiro destinado a combater especificamente a enzima COX-2, inibindo-a. O medicamento é indicado para portadores de artrite reumatóide e osteoartrite. Infelizmente ainda o custo deste medicamento é um pouco mais elevado que o do diclofenaco.

Aspectos éticos importantes estão envolvidos, como o risco do bioterrorismo utilizar nanopartículas como vetores. A nanociência mostra ferramentas novas em busca de aplicações, trazendo algo efetivamente novo e mudando velhos paradigmas de visão de mundo, trazendo impactos reais para a sociedade, como nanotubos de carbono fazendo conexão elétrica entre fios de platina, nanocircuitos ("a conquista do ano"), estruturas supramoleculares, automontagem ... Os desenhos de engrenagens realizadas com átomos de carbono, de hidrogênio e nitrogênio (os "nanosystems") beneficiando nanomáquinas estarão muito distantes? Segundo Richard P. Feynman <sup>(44)</sup> (1959), "há muito espaço lá embaixo". Esta revolução tecnológica é um desafio para o Brasil, pois os riscos são elevados em termos de volume de investimento, mas como podemos ser competitivos, principalmente na área de medicamentos com as nossas "bibliotecas de compostos" e na área de processos biotecnológicos com microorganismos, os ganhos podem ser enormes: o "nanomundo" é extremamente "espaçoso"... para todos.

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) MONTEIRO, V. A. R., DE SOUZA, E. F., DE AZEVEDO, M. M. M., GALEMBECK, F. Aluminum polyphosphate nanoparticles: Preparation, particle size determination, and microchemistry. **J. Colloid Interf. Sci.**, v.2, n.217, p.237-248, 1999.
- (2) DURAN, N., DE OLIVEIRA, A. F., DE AZEVEDO, M. M. M. Processo de obtenção de micro e nanoesferas de poli( $\epsilon$ -caprolactona) na incorporação de isoniazida, composto com atividade antimicobacteriana. **PIBr 0204125-1**, 2002.

- (3) GALEMBECK, F., LIMA, E. C. O., BEPPU, M. M., DE SOUZA, E. F., MASSON, N., SASSAKI, R. M., MONTEIRO, V. A. R., PELIZZETI, E. editor. **Fine Particles Science and Technology: From Micro to Nanoparticles**. Amsterdam: Kluwer, 1996. 275p.
- (4) MOSQUEIRA, V. C. F., LEGRAND, P., GULIK, A., BOURDON, O., GREF, R., LABARRE, D., BARRATT, G. Relationship between complement activation, cellular uptake and surface physicochemical aspects of novel PEG-modified nanocapsules. **Biomaterials.**, v.22, n.22, p.2967-2979, 2001.
- (5) WEI A, PUSZTAY S. V., STAVENS K. B., ANDRES R. P. Nanoparticles engaged in cross-linked resorcinarene shells. **Abstr. Pap. Am. Chem. S.**, v.220, 100-IEC Part 1, 2000.
- (6) KAWASHIMA, Y. Preface nanoparticulate systems for improved drug delivery. **Adv. Drug Delivery Rev.**, v.1, n.47, p.1-2, 2001.
- (7) DIEHL, C. Stable skin treatment preparation for treating vitiligo, containing plant extract having reductase, catalase and superoxide dismutase activity in nanosphere carrier to give high bioavailability. **Wopat 200193887-A**, 2001.
- (8) OTT, G., SINGH, M., BRIONES, M., SENAWAN, E., UGGOZZOLI, M., O'HAGAN, D.T. J. A cationic sub-micron emulsion (MF59/DOTAP) is an effective delivery system for DNA vaccines. **J. Control. Release**, v. 1-3, n.79, p.1-5, 2002.
- (9) LIMA, K.M., RODRIGUES-JÚNIOR, J. M. Poly-DL-lactide-co-glycolide microspheres as a controlled release antigen delivery system. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.2, n.32, p.171-180, 1999.
- (10) CABRAL, E. C. M., ZOLLNER, R. L., SANTANA, M. H. Preparation, characterization and *in vivo* assays of liposomes and microspheres (PLGA) useful for desensitization therapy in allergy. **First Brazilian Winter School on Nanobiotechnology-Rede Nanobiotec.**, p.171-172, 2002.
- (11) LIMA, K.M., SILVA, C.L., RODRIGUES-JÚNIOR, J.M. Microesferas biodegradáveis. **Biotecnol. Cienc. Desenv. (Brasil)**, v.2, p. 10-13, 2000.
- (12) YANO, H., HIRAYAMA, F., KAMADA, M., ARIMA, H, UEKAMA, K. J. Colon-specific delivery of prednisolone-appended alpha-cyclodextrin conjugate: alleviation of systemic side effect after oral administration. **J. Control. Release**, v.1-3, n.79, p.103-112, 2002.
- (13) JAIN, A. K., THOMAS, N. S., PANCHAGNULA, R. Transdermal drug delivery hydrochloride. I. Effect of terpenes. **J. Control. Release**. v.1-3, n.79, p.93-101, 2002.
- (14) DUMITRIU, S. em **Polymeric biomaterials** , Marcel Dekker: New York, 1994.
- (15) Ghandehari, H. Phar 535: controlled drug release. Disponível em <[https://rxsecure.umaryland.edu/courses/PHAR535/lecture\\_handouts/Intro\\_CR/Introducao%20to%20Controlled%20Drug%20Delivery.pdf](https://rxsecure.umaryland.edu/courses/PHAR535/lecture_handouts/Intro_CR/Introducao%20to%20Controlled%20Drug%20Delivery.pdf)>. Acesso em julho de 2003.

- (16) Farrel, S. Hesketh, R. P. An introduction to drug delivery for Chemical Engineers. Disponível em <<http://engineering.eng.rowan.edu/~hesketh/hesketh/cee%20drug%20delivery.pdf>> Companies involved in polymeric drug delivery.htm > Acesso em julho de 2003.
- (17) Filho, N. A., de Oliveira, A. G. Sistemas de micro/nanoencapsulamento de fármacos. Disponível em <<http://www.farmabrasil.hpg.ig.com.br/fisqui9.htm>> Acesso em julho de 2003.
- (18) LIM, F. em **Biomedical Application of Microencapsulation**, CRC Press, Inc.: Boca Raton, USA, 1985.
- (19) Lambert, G. Oligonucleotide and Nanoparticles Page. Disponível em <<http://perso.clubinternet.fr/ajetudes/nano/index.html>> Acesso em dezembro de 2003.
- (20) WURSTER, D. E. Air suspension coating process in vertical tower - having coarse and fine screened grid to induce cyclic flow in suspended bed due to unequal air flow **US3253944-A**, 1964.
- (21) AKKARA, J. A., JOHN, V. T., KAPLAN, D. L., MCPHERSON, G. L. Controlled polymerization in reversed micelles to form microspheres used for encapsulation of bioactives for controlled release, luminescent materials, and ferrites for superparamagnetic properties **US6022500-A**, 2000.
- (22) SOPPIMATH, K. S., AMINABHAVI, T. M., KULKARNI, A. R., RUDZINSKI, W. E. J. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. **J. Control. Release.** v.1, n.70, p.1-20, 2001.
- (23) DE AZEVEDO, M. M. M., BUENO, M. I. M. S., DAVANZO, C. U., GALEMBECK, F. Coexistence of liquid phases in the sodium polyphosphate-chromium nitrate-water system. **J. Colloid Interf. Sci.**, v.1, n.248, p.185-193, 2002.
- (24) LEE, C. T., PSATHAS, P. A., JOHNSTON, K. P. Water-in-carbon dioxide emulsions: Formation and stability **Langmuir**, v.20, n.15, p.6781-6791, 1999.
- (25) PREIS, I., LANGER, R.S. A single-step immunization by sustained antigen release. **J. Immunol. Methods**, v.28, n.2, p.193-197, 1979.
- (26) PEPPE, N. A. in **Hydrogels in Medicine and Pharmacy**, CRC Press, Inc.: Boca Raton, 1987.
- (27) Brannon-Peppas, L. Polymers in Controlled Drug Delivery. Disponível em <<http://www.devicelink.com/mpb/archive/97/11/003.html>> Acesso em novembro de 2002.
- (28) Middleton, J. C., Tripton, A. J. Synthetic Biodegradable Polymers as Medical Devices. Disponível em <http://www.devicelink.com/mpb/archive/98/03/002.html> Acesso em novembro de 2002.

- (29) NASCIMENTO A., LARANJEIRA M.C., FAVERE, V. T., JOSUE A. Impregnation and release of aspirin from chitosan/poly(acrylic acid) graft copolymer microspheres. **J Microencapsul.**, v.3, n.5 p.679-684, 2001.
- (30) HA, J. C., LEE, Y. M., KIM, S. Y. J. Poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide) (pluronic)/poly(epsilon-caprolactone) (PCL) amphiphilic block copolymeric nanospheres - I. Preparation and characterization **J. Control. Release.**, v.62, n.3 p.381-392, 2000.
- (31) LINCK BASSANI, K. MULLER, C. R. POHLMANN, A., GUTERRES, S., TAVARES DALLA COSTA, T. C., LINCK, B. V., RAFFIN, P. A., STANIKUASKI, G. S., TAVARES DA COSTA, T. C. Spray-drying colloidal suspensions of polymer nanocapsules or nanospheres, e.g. containing drug such as diclofenac, including addition of silicon dioxide before drying to improve suspension stability **PIBr9906081-A**, 2001.
- (32) GAUR, U., SAHOO, S. K., DE, T. K., GHOSH, P. C., MAITRA, A. E GHOSH, P. C. Biodistribution of fluoresceinated dextran using novel nanoparticles evading reticuloendothelial system. **Int J Pharm.**, v.202, n.1, p.1-10, 2000.
- (33) PARK, K. Recent developments in hydrogels – Preface. **Adv. Drug Delivery Rev.**, v.54, n.1, p.1, 2002.
- (34) MURAKAMI, H., KOBAYASHI, M., KAMADA, M., TAKEUCHI, H., KAWASHIMA, Y. Preparation of poly(DL-lactide-co-glycolide) nanoparticles by modified spontaneous emulsification solvent diffusion method. **Int. J. Pharm.**, v.187, p.143, 1999.
- (35) BROOKING, J., DAVIS, S. S., ILLUM, L. Transport of nanoparticles across the rat nasal mucosa. **J Drug Target**, v.9, n.4, p.267-279, 2001.
- (36) LOCKMAN, P. R., MUMPER, R. J., KHAN M. A., ALLEN, D. D. The transport of choline. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, v.28, n.7, p.749-771, 2002.
- (37) SHERSTOV A.YU., KIVMAN G.YA., VASSILIEV A.YE., GELPERINA S.E., ANTROPOV A.S., ANISSIMOVA E.V., GULYAEV A.E. Interaction of nanoparticle-bound ampicillin with the leucocytes of peripheral blood **Abstr. III Conf. Pharm.Sci. Clin. Pharmacol., Jerusalem. p.26**, 1996.
- (38) KREUTER J, SHAMENKOV D, PETROV V, RAMGE P, CYCHUTEK K, KOCH-BRANDT C, ALYAUTDIN R. Apolipoprotein-mediated transport of nanoparticle-bound drugs across the blood-brain barrier. **J Drug Target**, v. 10, n.4, p.317-325, 2002.
- (39) DAYTON, P. A., FERRARA, K.W. Targeted imaging using ultrasound. **J. Magn. Reson. Imaging**, v.16, n.4, p.362-377, 2002.
- (40) DAVDA, J., LABHASEWAR, V. Characterization of nanoparticle uptake by endothelial cells. **Int. J. Pharm.**, v.233, n.1, p.51-59, 2002.
- (41) UCHEGBU, I. F. Parenteral drug delivery: 1. **Pharm. J.**, v.263, p.309,1999.

- (42) KWON, G. S. Block copolymer micelles as drug delivery systems. **Adv. Drug Delivery Rev.**, v.54, n.2, p.167, 2002.
- (43) KREUTER, J. Nanoparticulate systems for brain delivery of drugs. **Adv. Drug Delivery Rev.**, v.47, n.1, p.65-81, 2001.
- (44) FEYNMAN, R. P. **There's Plenty of Room at the Bottom.** Disponível em <[http://lqes.iqm.unicamp.br/institucional/vicencia\\_lqes/vivencia\\_lqes\\_biblioteca\\_nanotecnologia\\_conf-feynman.html](http://lqes.iqm.unicamp.br/institucional/vicencia_lqes/vivencia_lqes_biblioteca_nanotecnologia_conf-feynman.html)> Acesso em novembro de 2002.

Esta monografia de **Marcelo Mantovani Martiniano de Azevedo** corresponde à avaliação do curso *Tópicos Especiais em Química Inorgânica IV - Introdução à Nanotecnologia: Um Enfoque Químico* ministrado pelo **Prof. Oswaldo Luiz Alves** e foi apresentada oralmente em sessão pública ao Instituto de Química da UNICAMP, no primeiro Workshop do Curso, em 09 de dezembro de 2002.