

NANOEMULSÕES COMO SISTEMAS DE LIBERAÇÃO PARENTERAL DE FÁRMACOS

Fernanda Bruxel, Manoela Laux, Luisa Bartmann Wild, Michelle Fraga, Leticia S. Koester e Helder F. Teixeira*

Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Ipiranga 2752, 90610-000 Porto Alegre - RS, Brasil

Recebido em 20/10/11; aceito em 29/3/12; publicado na web em 3/7/12

NANOEMULSIONS AS PARENTERAL DRUG DELIVERY SYSTEMS. Lipid nanoemulsions have recently been proposed as parenteral delivery systems for poorly-soluble drugs. These systems consist of nanoscale oil/water dispersions stabilized by an appropriate surfactant system in which the drug is incorporated into the oil core and/or adsorbed at the interface. This article reviews technological aspects of such nanosystems, including their composition, preparation methods, and physicochemical properties. From this review, it was possible to identify five groups of nanoemulsions based on their composition. Biopharmaceutical aspects of formulations containing some commercially available drugs (diazepam, propofol, dexamethasone, etomidate, flurbiprofen and prostaglandin E1) were then discussed.

Keywords: emulsion; parenteral; drug.

INTRODUÇÃO

A solubilização de fármacos de reduzida hidrossolubilidade visando sua administração parenteral representa um grande desafio na área de desenvolvimento de medicamentos. Diversas estratégias são descritas na literatura para esta finalidade, incluindo a modificação do pH do veículo, a adição de cossolventes ou, ainda, a formação de complexos de inclusão com ciclodextrinas.¹ Entretanto, limitações relacionadas à biocompatibilidade dos adjuvantes empregados, aos relatos de dor e de possível precipitação dos fármacos durante a administração podem ser considerados como fatores limitantes do uso destas abordagens. Neste contexto, sistemas nanoestruturados têm se mostrado promissores. Nanoemulsões lipídicas óleo em água têm sido empregadas há mais de 40 anos como fonte de calorias e ácidos graxos essenciais² e, mais recentemente, como sistemas de liberação de fármacos. A biocompatibilidade das matérias-primas empregadas para a sua obtenção (óleos de origem natural ou semissintética e fosfolipídeos) torna estes sistemas uma alternativa promissora para a administração de diversos tipos de moléculas.³ Nanoemulsões podem ser definidas como sistemas heterogêneos nos quais um líquido (a fase interna) é disperso em outro (a fase externa) na forma de gotículas, na presença de um agente emulsionante. Suas propriedades físico-químicas, influenciadas pela composição quali- e quantitativa e pelas condições de preparação, devem ser estritamente controladas, visando a administração por via parenteral e a estabilidade do sistema.^{4,5}

Existem na literatura algumas inconsistências relacionadas aos conceitos de nanoemulsões em relação às microemulsões. Apesar destes sistemas poderem apresentar características estruturais e visuais semelhantes em determinadas condições, diferenciam-se quanto a estabilidade termodinâmica. Contrariamente às nanoemulsões, as microemulsões são sistemas termodinamicamente estáveis. Entretanto, podem apresentar limitações para administração por via parenteral, pois suas propriedades são fortemente afetadas por alterações de temperatura e/ou diluições. Apesar da nomenclatura empregada, microemulsões apresentam geralmente tamanho de gotícula inferior às nanoemulsões, além de um aspecto translúcido.⁶⁻⁸

Apesar da instabilidade termodinâmica, as nanoemulsões são sistemas cineticamente estáveis e apresentam diversas potencialidades como sistemas carreadores de fármacos, especialmente para

aqueles de reduzida hidrossolubilidade. Estudos recentes descrevem a possibilidade de redução de toxicidade, aumento de atividade, janela terapêutica e biodisponibilidade e, em alguns casos, uma liberação controlada e direcionada de fármacos incorporados nesses sistemas.^{3,9,10} O direcionamento do fármaco a determinados tecidos pode ocorrer de forma passiva e/ou ativa.⁸ O direcionamento passivo ou natural baseia-se no fato das emulsões serem reconhecidas como corpos estranhos ao organismo e serem captadas por tipos celulares específicos, permitindo o direcionamento ao sistema fagocítico mononuclear; ou, ainda, no fato de alguns tecidos possuírem capilares fenestrados, isto é, com espaços intercelulares epiteliais maiores que capilares normais, permitindo a passagem e o acúmulo das nanoemulsões injetadas na corrente circulatória, como no caso de alguns tumores.^{8,11,12} Por outro lado, a inclusão de determinados ligantes à superfície das gotículas pode alterar esse perfil de distribuição como, por exemplo, através de reconhecimento por receptores das células alvo, caracterizando o direcionamento ativo do fármaco.^{8,11}

Neste contexto, o presente trabalho visa revisar aspectos tecnológicos do desenvolvimento de nanoemulsões lipídicas como um sistema para a administração parenteral de fármacos de reduzida hidrossolubilidade. Na segunda parte, são abordados aspectos biofarmacêuticos relacionados com a administração parenteral desses sistemas, destacando-se especialmente os resultados obtidos para produtos disponíveis no mercado.

ASPECTOS TECNOLÓGICOS

Uma vasta literatura descreve o desenvolvimento de nanoemulsões como sistemas de liberação para fármacos de reduzida hidrossolubilidade, pertencentes a diferentes classes terapêuticas, visando a obtenção de formulações de utilização parenteral. Na Tabela 1 estão representadas as estruturas químicas destes fármacos, bem como a composição e o método de preparo das nanoemulsões.

Composição das nanoemulsões

Como pode ser observado na Tabela 1, diversos componentes (óleos, tensoativos e adjuvantes) e vários métodos de preparo são empregados no desenvolvimento de nanoemulsões de uso parenteral. É importante ressaltar que apenas um número restrito de adjuvantes é aceito para a administração parenteral, devido aos rigorosos requisitos

*e-mail: helder.teixeira@ufrgs.br

Tabela 1. Exemplos da composição e método de obtenção de nanoemulsões como veículos para administração parenteral de fármacos

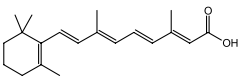
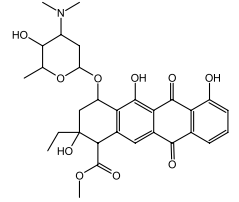
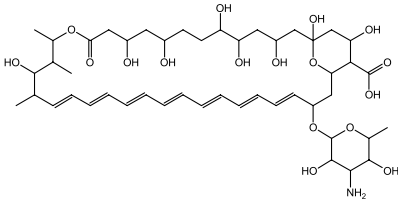
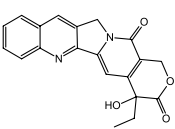
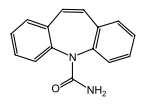
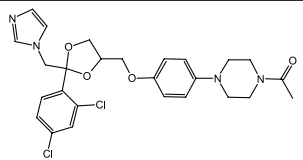
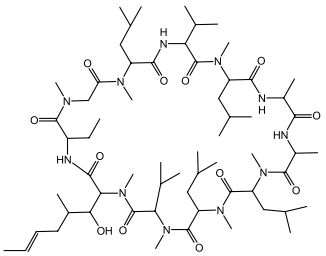
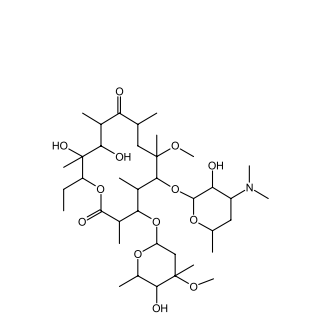
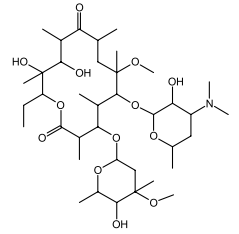
Fármaco	Óleo	Interface	Adjuvantes	Método	Ref.
Ácido trans-retinoico	 Óleo de soja	Fosfatidilcolina de gema de ovo + DSPE-PEG + DLPC + DMPC + DPPC + DSPC	-	S + HP	36
Aclacinomicina A	 Vitamina E	DSPE-PEG + Colesterol	Cloreto de sódio + Ácido fólico	IE	55,141
Anfotericina B	 Óleo de soja	Lecitina de gema de ovo purificada	NaOH + Glicerol	EE	142
	Óleo de soja ^(B)	Lecitina de gema de ovo ^(B) + Polissorbato 80	Glicerol ^(B) + α -tocoferol ^(B) + Oleato de sódio ^(B)	HP-S	143,144
	TCM	Lecitina de soja + Colesterol	-	S	48
	TCM	Lecitina de gema de ovo	-	EE	73,145,146
Camptotecina	 Esqualeno	Myverol™ (monoglicérides) + Poloxâmero 188	-	S	36
	Óleo de soja + Óleo de oliva	Lecitina de soja + Colesterol + Poloxâmero 188	Glicerol	S	147
	Óleo de soja	Lecitina de gema de ovo + PEG 400	Glicerol	M	148
Carbamazepina	 Óleo de rícino <i>ou</i> Óleo de rícino + TCM	Polissorbato 80 + Lecitina de soja <i>ou</i> Óleo de rícino polietoxilado (35)	Glicerol + NaOH	EE	45,46
	Óleo de rícino + TCM	Lecitina de soja + Poloxâmero 188	Glicerol + NaOH	EE	149
	Óleo de soja	Lecitina de soja + acilgliceróis	Glicerol	HP	150
	Óleo de soja ^(A) + TCM ^(A)	Lecitina de gema de ovo ^(A) <i>ou</i> Lecitina de gema de ovo ^(A) + Polissorbato 80	Glicerol ^(A) + α -tocoferol ^(A) + Oleato de sódio ^(A)	HP-S	70,143
Cetoconazol	 Óleo de soja ^(A) + TCM ^(A)	Lecitina de gema de ovo ^(A) + Polissorbato 80 + Poloxâmero 188	Glicerol ^(A) + α -tocoferol ^(A) + Oleato de sódio ^(A)	HP-S	71
Ciclosporina	 Óleo de soja	Lecitina de gema de ovo purificada	Glicerol	M	151
	 Óleo de soja + TCM + Succinato de tocoferol + Ácido oleico	Lecitina de gema de ovo + Poloxâmero 188	Glicerol + NaOH	HP	21
Claritromicina	 Vitamina E + TCM	Lecitina de gema de ovo + Óleo de rícino polioxiethylado (40) + Poloxâmero 188 + Polissorbato 80	L-cisteína + Glicerol + NaOH <i>ou</i> HCl	HP	17
	TCM + TCL	Lecitina de soja + Poloxâmero 188 + Polissorbato 80	L-cisteína + Glicerol + Oleato de sódio + NaOH <i>ou</i> HCl	HP	22
	Óleo de soja + Ácido oleico + Ácido hexanoico	Fosfatídeos de gema de ovo	Glicerol + NaOH	M	152

Tabela 1. continuação

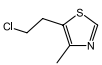
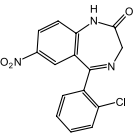
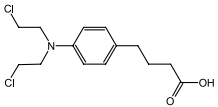
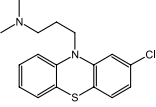
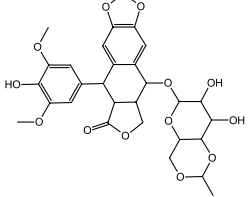
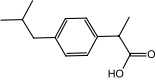
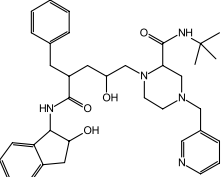
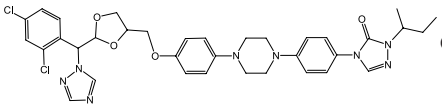
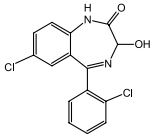
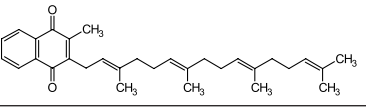
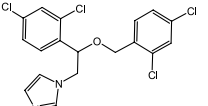
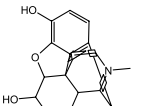
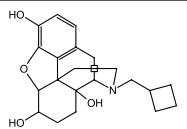
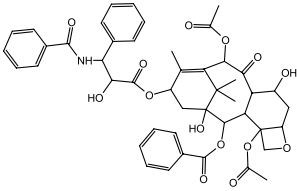
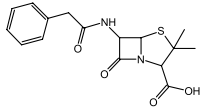
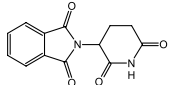
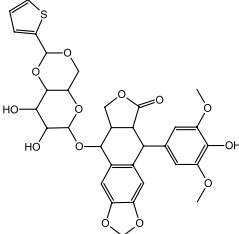
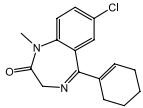
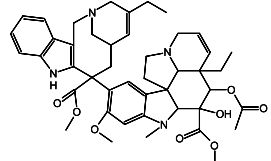
Fármaco	Óleo	Interface	Adjuvantes	Método	Ref.
Clometiazol 	Óleo de coco fracionado (TCM)	DMPC + DPPC	Glicerol + Tampão bicarbonato	HP	38
Clonazepam 	Óleo de rícino ou TCM	Lecitina de soja	Sorbitol + NaOH	HP	153
Clorambucil 	Óleo de soja	Fosfatidilcolina de gema de ovo + Colesterol	Glicerol	SE	14
Clorpromazina 	Óleo de soja	Lecitina de gema de ovo		M	92
Etoposido 	Óleo de soja	Lecitina de gema de ovo + Colesterol	Glicerol	S	79
Ibuprofeno 	TCM	Polissorbato 20 + Monooleato de sorbitano (Span 80)		IF	154
Indinavir 	Óleo de soja + Ácido oleico	Lecitina de gema de ovo + Colesterol + DSPE-PEG2000 ou DPPE-PEG 5000	Glicerol + α -tocoferol +	H + S	37
Itraconazol 	Óleo de soja ^(A) + TCM ^(A)	Lecitina de gema de ovo ^(A) ou Lecitina de gema de ovo ^(A) + Polissorbato 80	Glicerol ^(A) + α -tocoferol ^(A)	HP-S	69,71
Lorazepam 	Óleo de rícino ou TCM	Lecitina de soja	Sorbitol + NaOH	HP	153
	Óleo de soja purificado	Lecitina de soja purificada ou Poloxâmero 188	Glicerol	S	41
Menatretreona 	Óleo de soja + Óleo de linhaça	Lecitina de gema de ovo + Óleo de rícino hidrogenado (HCO-60) + PEG		M	91
Miconazol 	TCM	Lecitina de gema de ovo + Poloxâmero 188 + Ácido deoxicólico	Glicerol + α -tocoferol + NaOH	HP	155
Morfina 	Esqualeno	Fosfatidiletanolamina ou Fosfatidilcolina de soja hidrogenada + Poloxâmero 188 ou Colesterol		HP + S	10
Nalbufina 	Esqualeno ou Óleo de gergelim ou Óleo de soja ou Óleo mineral ou Óleo de coco	Fosfatidilcolina de gema de ovo + Polioxietileno oleiléter (Brij TM 98) ou Polioxietileno lauriléter (Brij TM 30) ou Estearilamina		HP + S	19

Tabela 1. continuação

Fármaco	Óleo	Interface	Adjuvantes	Método	Ref.
 Paclitaxel	Triacetina	Lecitina de soja purificada + Poloxâmero 188 + Oleato de etila	Glicerol	H	25
	Trioleína	Fosfatidilcolina de gema de ovo + Oleato de colesterila + Colesterol		S	156
	Óleo de pinha	Lecitina de gema de ovo + PEG		S	157
	Óleo de linhaça	Lecitina de gema de ovo ou DSPE-PEG2000		EE + SE	35
	Trioleína	Fosfatidilcolina de gema de ovo + Polissorato 80 + PEG-PE		S	158
	Trioleína	Fosfatidilcolina de gema de ovo + Oleato de colesterila + Colesterol		S	159
 Penicilina G-Benzatina	Óleo de soja ou TCM	Fosfatidilcolina de soja + Poloxâmero 188		EE	72
 Talidomida	Óleo de rícino	Lecitina de soja + Polissorato 80	Glicerol	EE	95
 Teniposido	Óleo de soja + TCM	Lecitina de gema de ovo + Poloxâmero 188 + Polissorato 80	Glicerol + NaOH	HP	43
 Tetrazepam	Óleo de rícino, ou TCM, ou Óleo de gergelim, ou Óleo de soja, ou Óleo de linhaça, ou Ácido oleico, ou Óleo de amêndoa	Lecitina de soja	Sorbitol + NaOH	HP	15,153
 Vinorelbina	TCM + Óleo de soja	Lecitina de gema de ovo + Poloxâmero 188 + Polissorato 80	Glicerol + Oleato de sódio + α -tocoferol + EDTA + L-Citeína + Sulfito de Sódio + NaOH ou HCl	HP	80

DLPC: Dilauroilfosfatidilcolina, DMPC: Dimiristoilfosfatidilcolina, DPPC: Dipalmitoilfosfatidilcolina, DPPE: Dipalmitoilfosfatidiletanolamina, DSPC: Diestearoilfosfatidilcolina, DSPE: Diestearoilfosfatidiletanolamina, PEG: polietilenoglicol, NaOH: Hidróxido de Sódio, HCl: Ácido Clorídrico. ^(A)Componentes do Lipofundin MCT 20%[®] (B.Braun). ^(B)Componentes do Lipofundin N 20%[®] (B.Braun). EE: Emulsificação Espontânea, HP: Homogeneização a alta pressão, H: Homogeneização, IF: Temperatura de inversão de fase, IE: Injeção de etanol modificado, MF: Microfluidização, S: Sonicação, SE: Sonicação de alta energia, HP-S: Homogeneização a alta pressão – Tecnologia SolEmuls[®].

desta via, em especial, relacionados à biocompatibilidade.^{2,5} A formulação ideal deve considerar a segurança de seus componentes, além de incorporar a dose requerida do fármaco e permanecer estável em função do tempo.¹³

Óleo

A fase oleosa das nanoemulsões normalmente é selecionada com base na solubilidade do fármaco a ser veiculado, na sua estabilidade, bem como na estabilidade da formulação desenvolvida.³ De maneira geral, um estudo de solubilidade do fármaco é a primeira etapa do estudo de desenvolvimento da formulação. Um excesso do fármaco é adicionado aos óleos selecionados, os quais são submetidos à agitação por um tempo determinado. A quantidade de fármaco solúvel no óleo é então determinada no sobrenadante após centrifugação ou filtração da mistura.¹⁴⁻¹⁷

Diversos óleos têm sido utilizados na composição de emulsões parenterais, como os triglicerídeos de cadeia longa (TCL) e os triglicerídeos de cadeia média (TCM). Os TCL são compostos por ácidos graxos com mais de 12 carbonos em sua estrutura, derivados de fontes vegetais, como óleos de soja, rícino e oliva. Os TCM são obtidos pela re-esterificação de ácidos graxos do óleo de coco fracionados (principalmente cáprico e caprílico) com glicerina.^{3,5} Ambos são aprovados para utilização parenteral pelo *Food and Drug Administration* (FDA) e muitas vezes são utilizados em combinação na nutrição parenteral, como no caso do Lipofundin MCT/LCT 10% e 20% (B. Braun).^{9,18} Conforme mostrado na Tabela 1, o TCL mais utilizado nas nanoemulsões carreadoras de fármacos é o óleo de soja. Entretanto, muitas vezes os TCM têm sido preferidos, por serem 100 vezes mais solúveis em água do que os TCL.^{5,18} O tamanho da cadeia hidrocarbonada, bem como o grau de saturação de suas ligações afeta

a capacidade de solubilização de alguns fármacos nos óleos.^{3,19,20} Dessa forma, muitas vezes misturas de óleos são utilizadas para se alcançar boas solubilização e emulsificação.^{15,17,21,22}

Óleos biocompatíveis alternativos, como a vitamina E e seus derivados, têm sido mais recentemente investigados para a liberação de fármacos, como paclitaxel, claritromicina e outros.^{13,17} Entretanto, apesar das vantagens da utilização da vitamina E, seus benefícios na utilização como fase oleosa são ainda controversos, principalmente considerando-se a administração crônica.^{4,13,23} Recentemente, a utilização de mono e diglicerídeos de cadeia média tem sido relatada.²⁴ Estes óleos apresentam como vantagens um maior potencial solubilizante que óleos fixos e TCM, além de serem mais facilmente emulsificáveis. Entretanto, sua segurança para utilização parenteral a longo prazo deve ainda ser estabelecida.³ Relatos sobre a utilização de substâncias sintéticas ou semissintéticas, como triacetina juntamente com oleato de etila, são menos frequentes na literatura.²⁵ A utilização de esqualeno como fase oleosa forma nanoemulsões estáveis com pequeno diâmetro de gotícula.¹⁹ Estudos clínicos têm sido realizados visando demonstrar a segurança do esqualeno¹⁰ e vários outros óleos pela via parenteral, na busca de produtos estáveis e biocompatíveis.

A vitamina E também tem sido utilizada como antioxidante em emulsões, em quantidades inferiores a 1%.^{26,27} Apesar da L-cisteína também ter sido citada na literatura para este fim,^{17,22} a utilização do -tocoferol é mais frequente. Inclusive, sua incorporação foi descrita em duas emulsões lipídicas de administração parenteral comerciais (Lipofundin® e Trivé 1000®).^{18,26}

Interface

A seleção de emulsificantes adequados, capazes de formar mono ou multicamadas entorno das gotículas oleosas, de forma a reduzir a tensão interfacial e/ou aumentar a repulsão entre as gotículas, é um dos principais fatores relacionados à estabilidade do sistema de liberação.^{8,28,29}

Os fosfolípidos mais comumente utilizados no preparo de sistemas de liberação lipídicos podem ser originários de fontes naturais, como as lecitinas, ou semissintéticos, como dioleilfosfatidiletanolamina (DOPE) e diestearilfosfatidilcolina (DSPC).³⁰⁻³³ As lecitinas podem ser de origem animal (gema de ovo) ou vegetal (soja) e são biocompatíveis e biodegradáveis.^{3,5} São constituídas por misturas de fosfolípidos, contendo principalmente fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina, que não apresentam carga em pH fisiológico. Entretanto, lípidos contendo grupamentos polares negativamente carregados neste pH também estão presentes, como fosfatidilserina, fosfatidilglicerol e ácido fosfatídico. Embora compreendam apenas 1-2% dos fosfolípidos das lecitinas, são de grande importância na estabilidade a longo prazo das emulsões, por conferirem um potencial zeta final negativo à interface, permitindo a repulsão eletrostática entre as gotículas dispersas.^{30,31} Elas podem conter ainda em sua composição lisofosfolípidos (lisofosfatidilcolina e etanolamina) e ácidos graxos livres, provenientes da degradação (hidrólise da ligação éster) dos fosfolípidos, cujos níveis devem ser controlados devido principalmente ao seu potencial hemolítico.^{30,32} O uso de fosfolípidos sintéticos também tem sido descrito como constituintes de nanoemulsões de utilização parenteral.³⁴⁻³⁸

Assim como a composição das lecitinas, suas propriedades físico-químicas podem variar significativamente, dependendo da fonte e da pureza do emulsificante. Fosfatidilcolina com cadeias hidrocarbonadas saturadas e curtas são emulsificantes mais potentes do que aquelas com cadeias insaturadas e longas, por conduzirem a diâmetros de gotículas menores, formando emulsões mais estáveis.^{39,40} Entre as lecitinas de grau parenteral disponíveis comercialmente, com cerca de 80 a 90% de fosfolípidos neutros, podem-se citar Lipoid® E80 (Lipoid® AG) e Ovothin® 180 (Lucas-Meyer).³¹

Apesar dos tensoativos de origem natural serem preferidos aos sintéticos, por apresentarem resultados adequados de emulsificação,⁴¹ agentes emulsionantes auxiliares têm sido empregados para conferir maior estabilidade à emulsão (Tabela 1). Tensoativos não iônicos do grupo dos polioxâmicos e polioxietileno-sorbitanos (Tweens) têm se mostrado promissores em combinação com os fosfolípidos, pois levam à formação de filmes mistos compactos, conferindo maior estabilidade à formulação.^{10,42,43} Entretanto, reações hemolíticas e alterações no diâmetro de gotícula de nanoemulsões estabilizadas por Tween 80, durante a autoclavagem, limitam sua utilização de forma isolada.⁴⁴ Os derivados do óleo de ricino polioxietilado (Cremophor®EL) também têm merecido considerável atenção para uso parenteral,^{17,45,46} mas a ocorrência de hemólise e toxicidade tem sido descrita para alguns destes compostos.⁴⁷ A presença de colesterol como cossurfactante tem sido relatada em alguns estudos, com o objetivo de fornecer maior rigidez à monocamada de surfactantes e, assim, aumentar a estabilidade das emulsões.^{14,48}

Existe, ainda, a possibilidade de adicionar-se tensoativos aniônicos, como ácido deoxicólico ou ácido oleico, por exemplo, visando conferir maior carga negativa à interface e, conseqüentemente, maior repulsão eletrostática entre as gotículas.^{8,9} A adição de lípidos catiônicos, como estearilamina, oleilamina, DOTAP, DOTMA, DOPE, entre outros, contendo grupamentos amino em suas estruturas, visam a administração de ácidos nucleicos. Estes sistemas não serão abordados neste artigo, mas têm sido recentemente revisados.^{49,50}

A adição de polímeros hidrofílicos às nanoemulsões, como Tween 80, ou derivados de polietilenoglicol (PEG) ligados covalentemente à fosfatidiletanolamina, pode resultar no prolongamento do tempo de circulação das emulsões na corrente sanguínea e menor biodistribuição, o que pode ser atribuído à barreira estérica formada pelos polímeros em relação às proteínas.^{12,51-54} Entretanto, a eficiência desta estratégia depende da concentração, do tamanho e da rigidez das cadeias PEG adicionadas.^{51,53,54} A adição a estas cadeias, de agentes que podem ser especificamente reconhecidos por determinados receptores do organismo, pode direcionar os sistemas aos órgãos que os contêm.^{11,55} Por exemplo, Shiokawa e colaboradores⁵⁵ mostraram que a modificação da superfície de emulsões com folato em baixas concentrações, ligado a cadeias PEG suficientemente longas, é uma maneira efetiva de direcioná-las a tumores,⁵⁵ visto que receptores de folato são expressos abundantemente em grande parte das células tumorais humanas.⁵⁶ Vários pesquisadores têm estudado a adição de diversos ligantes a outros sistemas de liberação, como ácido hialurônico, transferrina e anticorpos monoclonais,⁵³ mas que ainda não foram aplicados às nanoemulsões, abrindo perspectivas no desenvolvimento destes sistemas.

Fase aquosa

Em relação à fase aquosa da emulsão, podem ser incorporados agentes conservantes, reguladores de pH e agentes de tonicidade. O agente conservante, apesar de não ser frequentemente utilizado nos estudos iniciais, é normalmente adicionado na fase aquosa externa da emulsão, vulnerável à contaminação. A escolha do antimicrobiano adequado é crítica para a manutenção da estabilidade das formulações. Os conservantes derivados do ácido *p*-hidroxibenzoico, como o metilparabeno, apesar de eficientes, necessitam de doses muito elevadas, devido ao fenômeno de partição para a fase oleosa da formulação.⁵⁷ O mesmo ocorre com o álcool benzílico e o ácido benzoico.⁵⁸ Além disso, os parabenos podem interagir com tensoativos não iônicos, interferindo na atividade desses dois componentes.⁵⁹ Os compostos de amônio quaternário, apesar de sua alta solubilidade em água e limitada tendência à partição para a fase oleosa, apresentam carga positiva capaz de neutralizar a carga negativa da superfície das gotículas estabilizadas por

lecitinas, gerando um efeito desestabilizador nas emulsões. Sulfitos, benzoato de sódio e ácido ascórbico também não são indicados, já que requerem um pH muito reduzido para apresentarem atividade, limitando novamente a estabilidade das formulações e sua aplicação parenteral.^{58,60} Entretanto, foi observada (Tabela 2) a utilização de metabissulfito de sódio em emulsão comercialmente disponível (Propofol Emulsion® - Baxter), cujo pH é mantido entre 4,5 e 6,6 unidades. Este decréscimo no pH tende a reduzir o potencial zeta do produto, quando comparado à formulação comercial Diprivan®.⁶⁰

A osmolaridade de produtos de administração parenteral deve ser idealmente próxima à osmolaridade sanguínea, o que pode ser alcançado com a ajuda de eletrólitos (cloreto de sódio), glicerol, dextrose ou sorbitol.³⁰ Normalmente, a tonicidade de emulsões é ajustada com glicerol,⁵ como observado nas Tabelas 1 e 2, apesar da existência de relatos de um potencial hemolítico superior para o glicerol, em relação ao sorbitol e xilitol.⁶¹ Agentes iônicos e açúcares redutores (glicose), entretanto, podem interagir com proteínas, resultando em coloração marrom e/ou separação de fases da emulsão.³⁰ A adição de eletrólitos implica na interação com coloides estabilizados por repulsão eletrostática, podendo acarretar em limitações acerca da estabilidade do sistema.³¹

Outro fator importante na estabilidade e aplicabilidade da emulsão para a via parenteral é o ajuste do pH, que normalmente ocorre com auxílio de soluções de hidróxido de sódio (NaOH) e ácido clorídrico (HCl) diluídos, como se pode verificar na Tabela 1, para valores entre 7 e 8 unidades de pH.⁵ Normalmente, agentes tampões não são adicionados a estas formulações.

Técnicas de preparação

Os aspectos teóricos sobre as diferentes técnicas de preparação de emulsões submicrométricas foram recentemente revisados⁶² e podem ser divididos basicamente em métodos de alta e baixa energia.⁶³ Os métodos que empregam alta energia incluem a microfluidização, homogeneização à alta pressão e sonicação, requerem equipamentos específicos para a obtenção de diâmetros reduzidos.^{63,64} Em estudos laboratoriais, a produção ocorre normalmente em duas etapas: a primeira consiste na produção de uma emulsão grosseira para, em uma segunda etapa, reduzir o diâmetro de gotícula.⁶⁵

O método mais amplamente descrito para obtenção de nanoemulsões carreadoras de fármacos é a homogeneização à alta pressão (Tabela 1), o qual consiste na passagem de uma dispersão grosseira por um orifício, sob pressão elevada, em turbulência intensa, produzindo então uma emulsão com um diâmetro de gotícula extremamente pequeno.⁶⁴⁻⁶⁶ A microfluidização baseia-se na utilização de uma bomba que força a passagem da emulsão através de uma série de microcanais.⁶⁴ A sonicação, bem estabelecida em escala laboratorial, também tem sido frequentemente descrita para o preparo de emulsões de uso parenteral (Tabela 1). Seu princípio consiste na aplicação do ultrassom, produzindo ondas interfaciais instáveis e rompendo as gotículas primárias em gotículas de tamanho nanométrico.⁶⁷ As características de uma formulação preparada com o auxílio deste método dependem principalmente da pré-emulsão utilizada.⁶⁸ Existe ainda uma tecnologia de alta energia patenteada, denominada de SolEmuls®, cujo princípio básico consiste na combinação de uma suspensão do fármaco a uma emulsão já disponível no mercado (Lipofundin® ou Intralipid®, por exemplo). Com agitação à alta velocidade forma-se uma dispersão híbrida de gotículas de óleo e partículas de fármaco em água.⁶⁹ Essa tecnologia tem sido descrita para obtenção de nanoemulsões de anfotericina B,⁶⁶ carbamazepina,^{66,70} itraconazol^{69,71} e cetoconazol,⁷¹ conforme apresentado na Tabela 1.

Os métodos de alta energia são muito efetivos na redução do diâmetro de gotícula, mas suas condições de operação podem ser

inadequadas para fármacos lábeis e macromoléculas, para os quais são indicados métodos de baixa energia, como os de emulsificação espontânea, de difusão de solvente e de inversão de fase de temperatura.^{63,64} Alguns autores têm utilizado a emulsificação espontânea,^{45,46,72-74} na qual os constituintes da fase interna são solubilizados em um solvente orgânico e vertidos na fase aquosa, com posterior retirada do solvente, geralmente por destilação sob pressão reduzida.^{74,75}

Em resumo, dependendo do método, o processo de emulsificação pode ser influenciado por diversos fatores; então, as condições de operação devem ser otimizadas visando a obtenção da emulsão com as características desejadas.⁶⁵

Taxa de associação do fármaco

Após a incorporação do fármaco na nanoemulsão, é necessário verificar a taxa de associação do fármaco na nanoestrutura formada. A fração de fármaco incorporada às nanoemulsões é geralmente apresentada na forma de porcentagem de associação, calculada através da subtração das concentrações total e livre, em relação a concentração total.^{12,14,22,45,76}

Muitos métodos simples têm sido utilizados para detectar o fármaco não associado, como a visualização de cristais livres em microscópio óptico,⁶⁹⁻⁷¹ ou a simples filtração em membranas de 0,45 µm.⁷⁷ Entretanto, outras técnicas mais precisas têm sido descritas, como a centrifugação, que exige a validação do tempo (que pode ser teoricamente calculado) e da velocidade de centrifugação, de forma a garantir que somente os cristais livres precipitem, em totalidade, para serem posteriormente lavados, dissolvidos em solvente adequado e quantificados.^{48,70,78} Alguns autores têm utilizado também a cromatografia em coluna Sephadex, visando a separação das frações contendo o fármaco livre e associado, para posterior quantificação por cromatografia de alta eficiência.^{12,55}

Existem ainda as técnicas que se baseiam na passagem do fármaco livre através de membranas de tamanho de poro conhecido: a ultrafiltração/centrifugação, que é a mais utilizada, e a microdiálise. Na ultrafiltração/centrifugação, o fármaco livre é quantificado no ultrafiltrado (contendo parte da fase aquosa) através de diferentes métodos analíticos, após a centrifugação.^{14,22,45,76,79,80} A microdiálise baseia-se na difusão passiva do fármaco livre conforme o gradiente de concentração, através da membrana semipermeável.^{81,82} Nestas técnicas, os parâmetros também devem ser previamente validados, assim como a membrana selecionada, a fim de garantir ausência de adsorção não específica sobre a mesma.⁸³ Considerando-se que resultados diferentes têm sido observados para diferentes métodos,⁸² é importante que sejam feitas comparações somente entre dados provenientes de uma mesma técnica de avaliação.

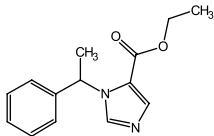
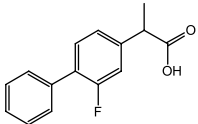
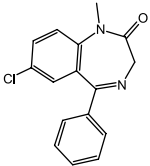
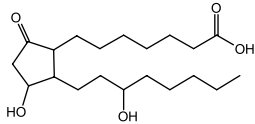
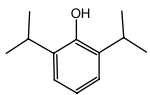
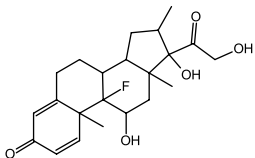
Propriedades físico-químicas

A caracterização da estrutura formada em sistemas dispersos, como as nanoemulsões, é muitas vezes difícil. Com a necessidade da diluição prévia da amostra, podem ocorrer reorganizações moleculares ou transições de fase, constituindo-se uma limitação para a caracterização do sistema.⁸⁴ Portanto, torna-se necessária a utilização de métodos complementares, para um melhor entendimento das estruturas formadas.

Diâmetro de gotícula

A determinação do diâmetro de gotícula e da sua distribuição é uma análise fundamental nas nanoemulsões de uso parenteral. De fato, os limites de diâmetro são relacionados à segurança de uso da formulação (pois a presença de gotículas micrométricas aumenta o risco de embolia), bem como à estabilidade do sistema (cuja desestruturação

Tabela 2. Exemplos representativos de nanoemulsões de uso parenteral disponíveis comercialmente

Fármaco	Produto	Composição	Comercialização	Vantagens
Etomidato 	Etomidate- [®] Lipuro	Óleo de soja +TCM + Lecitina de gema de ovo + Glicerol + Oleato de sódio	B. Braun (Diversos países)	Redução de efeitos adversos
Flurbiprofeno (axetil) 5% 	Ropion [®]	Óleo de soja + Lecitina de gema de ovo + Glicerol	Kaken Pharmaceuticals Co. (Japão)	Redução de efeitos adversos
Diazepam 0,5% 	Diazemuls [®]	Óleo de soja + Monoglicérides acetilados + Lecitina de gema de ovo + Glicerol + NaOH	Kabi-Pharmacia (Diversos países)	Redução de efeitos adversos
Prostaglandina E ₁ 1,8% 	Liple [®]	Óleo de soja + Lecitina de gema de ovo + Glicerol + Ácido oleico	Green Cross Co./Mitsubishi Tanabe Pharma Co. (Japão)	Melhora da farmacocinética
Propofol 1% ou 2% 	Diprivan [®]	Óleo de soja + Lecitina de gema de ovo + Glicerol + Edetato dissódico + NaOH	AtraZeneca/APP Pharmaceuticals (Diversos países)	Melhora da farmacocinética e redução de efeitos adversos
Dexametasona (palmitato) 0,4% 	Limethason [®]	Óleo de soja + Lecitina de gema de ovo + Glicerol	Green Cross Co./Mitsubishi Tanabe Pharma Co. (Japão, Alemanha)	Redução de efeitos adversos

é manifestada pela fusão de gotículas, levando à coalescência). Em geral, emulsões contendo os menores diâmetros (200-500 nm) tendem a ser fisicamente mais estáveis.^{2,13,85}

O diâmetro é influenciado pela composição quali- e quantitativa das formulações e pelo método de preparo utilizado. Um aumento de 10% na concentração de óleo pode aumentar o diâmetro significativamente.^{42,85} A composição da interface, bem como a quantidade de tensoativos e cotensoativos, também têm demonstrado influenciar esta característica.^{44,86}

As técnicas utilizadas para a determinação do diâmetro médio podem ser: espalhamento de luz dinâmico ou estático, espectroscopia de correlação de fótons ou, ainda, técnicas microscópicas como a microscopia eletrônica de transmissão e varredura, de força atômica ou criofratura.^{2,42,60,87}

Potencial zeta

O potencial zeta desempenha um papel importante na estabilização de emulsões, pois reflete o potencial superficial das gotículas. Este potencial depende do grau de ionização do agente emulsificante e, portanto, é pH dependente.⁵ A presença de lipídeos ionizados parece ter um efeito favorável na estabilidade do sistema,^{75,86} enquanto a adição de tensoativos não iônicos não afeta o potencial de superfície.⁴⁴ A redução da carga resultante (em módulo) da ordem de 40 mV para valores inferiores a 25 mV tende a provocar um aumento na taxa de floculação e coalescência das formulações.⁸⁸ Determinações de potencial zeta são realizadas com aparelhos de eletroforese Doppler,

como o Zetasizer, ou eletroforese de *moving-boundary*, através da determinação da mobilidade eletroforética.⁵

Viscosidade

Nanoemulsões caracterizam-se como líquidos de reduzida viscosidade, apresentando geralmente um comportamento reológico do tipo Newtoniano. A avaliação da viscosidade é de grande importância, uma vez que a administração parenteral de emulsões muito viscosas costuma ser dolorosa ao paciente.^{85,88} Esse parâmetro é influenciado pela composição das emulsões, como a concentração e natureza dos óleos e tensoativos, e pelo diâmetro das gotículas.^{85,88,89} Entretanto, geralmente em formulações contendo 10-20% de fase interna não se observa o efeito do diâmetro de gotícula na viscosidade.⁸⁹ Para sua determinação, utilizam-se normalmente viscosímetros capilares.^{15,41,45}

pH

A determinação do pH de uma nanoemulsão pode ser indicativo de sua estabilidade e aplicabilidade para a via parenteral. A faixa farmacopeica de pH proposta para emulsões injetáveis encontra-se entre 6 e 9 unidades.² O valor de pH fornece informações sobre a estabilidade do sistema, pois sua redução pode indicar a presença de ácidos graxos livres na formulação, provenientes da hidrólise do sistema tensoativo (fosfolipídeos), e dos triglicérides do núcleo oleoso.⁵ O pH reflete ainda as condições de armazenamento e processamento das formulações. Quando a esterilização por calor é empregada, por exemplo, observa-se redução em seus valores durante o aquecimento.^{2,18}

Estabilidade

Nanoemulsões são sistemas cineticamente estáveis⁶ e algumas características iniciais da formulação podem fornecer uma ideia da estabilidade do sistema, como os valores de potencial zeta, a porcentagem de cremagem obtida após procedimento de centrifugação, ou pelo TurbiScan, um equipamento de caracterização óptica. Estas técnicas fornecem informações interessantes sobre a estabilidade global de emulsões, principalmente para comparação de formulações.⁸⁸ Entretanto, considerando-se que diversos fatores podem alterar a estrutura do sistema ao longo do tempo, modificando o potencial zeta ou a rigidez da camada de emulsificantes, devem ser realizados estudos de estabilidade a longo prazo.⁷⁰ A determinação da estabilidade a longo prazo de uma emulsão pode ser um grande desafio, visto que é regida por diversas forças, como a formação de uma barreira mecânica entre as gotículas de óleo e a fase aquosa (formadas pelos emulsificantes) e as forças de repulsão eletrostática entre as gotículas.²⁸ Quando uma destas forças é rompida, a tendência final do sistema é separar completamente a fase oleosa da aquosa, com diversos estágios de instabilização intermediários: floculação, que ocorre quando as forças de atração são superiores às de repulsão, gerando uma aproximação das gotículas; cremagem, promovida pelas forças gravitacionais, ocasionando a união e migração das gotículas para a superfície da emulsão e, coalescência, que é a união das mesmas em gotas maiores até a completa separação de fases. Destes processos, apenas os dois primeiros são reversíveis.^{28,31,63} A instabilização destes nanosistemas pode ter consequências de maior ou menor significância, desde alterações na liberação e/ou degradação do fármaco, até embolia durante administração endovenosa.^{2,28}

Diversos fatores estão envolvidos no processo de instabilização, como os físicos (temperatura, agitação, congelamento e descongelamento) ou químicos (pH, presença de eletrólitos, peroxidação lipídica), além da contaminação por micro-organismos e da própria composição do sistema.^{2,18,28} Além do aumento do tamanho das gotículas e alterações no potencial zeta das gotículas, a redução do pH também está amplamente relacionada aos fenômenos, principalmente à degradação de triglicerídeos e fosfolípidos.^{32,90} Diacil-fosfatidilcolinas e -fosfatidiletanolaminas são hidrolisadas aos seus derivados monoacil- (liso) e ácidos graxos livres. Um esquema representativo é apresentado na Figura 1. Os liso derivados degradam-se então a compostos glicerofosforilados, que formam mais ácidos graxos livres. Os triglicerídeos também sofrem hidrólise a mono e diglicerídeos, embora de forma mais lenta que os fosfolípidos, cuja hidrólise segue cinética de primeira ordem, podendo provocar a redução de até 55% da massa lipídica inicial em 3 meses.^{32,90} A presença de ácidos graxos livres está principalmente relacionada à redução do pH³³ e do potencial zeta da emulsão até um determinado valor, visto que pelo menos uma parte dos ácidos graxos livres formados permanecem ionizados na interface das gotículas da emulsão.³²

Cinética de liberação

Considerando que a metabolização de emulsões leva algumas horas, pode ocorrer uma liberação relativamente lenta, gradual e prolongada de fármacos lipofílicos incorporados nestes sistemas.^{11,36,76,80} A liberação pode ser prolongada, porém é mais rápida que outros sistemas lipídicos como, por exemplo, as nanopartículas lipídicas sólidas.³⁶ A liberação lenta evita picos de concentrações plasmáticas que ocorrem quando o fármaco é injetado na forma de solução, evitando assim muitos efeitos adversos.¹¹

A cinética de liberação a partir de nanoemulsões tem sido demonstrada ser de ordem zero^{10,36,76} ou primeira ordem.⁴⁵ Depende

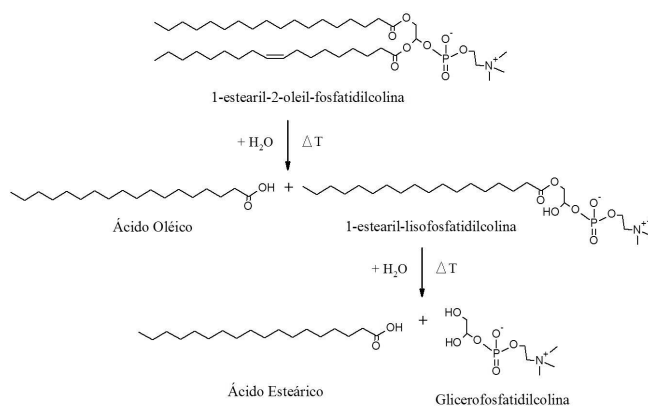


Figura 1. Representação da rota de degradação de fosfolípidos

principalmente da composição das formulações e das propriedades do fármaco, que vão determinar sua localização no sistema óleo/água e, conseqüentemente, a velocidade com que será liberado.^{10,22,91,92}

Em relação às propriedades do fármaco, os mais lipofílicos tendem a estar solubilizados na fase oleosa, enquanto fármacos menos lipofílicos tendem a se localizar também na interface das nanoemulsões^{22,91} e podem ser rapidamente liberados quando possuem um coeficiente de distribuição de Nernst desfavorável.^{11,91} Wang e colaboradores demonstraram a liberação mais lenta de pró-fármacos da morfina em relação à liberação da própria morfina, em uma mesma formulação, devido à maior lipofilia dos primeiros.¹⁰ Além disso, o pKa do fármaco, juntamente com o pH do meio de liberação, devem definir seu grau de ionização e, conseqüentemente, sua liberação. Há também influência do tamanho da molécula, visto que quanto maior o peso molecular de um fármaco, menor parece ser sua taxa de liberação.⁹² Informações relevantes sobre a associação e liberação de compostos incorporados em nanoemulsões também podem ser obtidas a partir de seu coeficiente de partição (log P), que pode ser definido como o logaritmo calculado da relação da solubilidade de um soluto entre *n*-octanol e água. Portanto, este parâmetro está relacionado à composição da fase oleosa da emulsão e à solubilidade do fármaco na mesma. Os valores de log P podem ser obtidos experimentalmente ou calculados através de programas específicos.⁹¹ A Figura 2 apresenta os valores de log P calculados dos fármacos listados na Tabela 1.

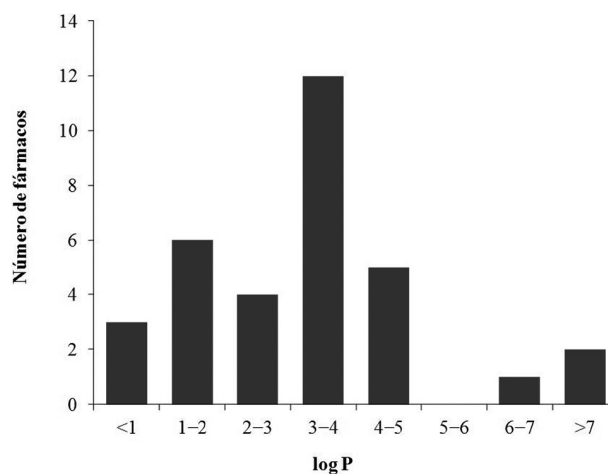


Figura 2. Valores de log P (logaritmo do coeficiente de partição entre *n*-octanol e água) calculados para fármacos formulados na forma de nanoemulsões, apresentados na Tabela 1. Dados obtidos através de programa computacional ChemAxon (versão 5.4 online chemicalize.org)

Como pode ser observado, os valores de log P de fármacos veiculados em nanoemulsões estão mais frequentemente compreendidos entre 3 e 4. Sakaeda e Hirano verificaram que compostos com log P inferiores e próximos de 5 são liberados rapidamente das gotículas oleosas após administração intravenosa, enquanto compostos com log P superiores (próximos a 9,5) são seletivamente liberados ao fígado, baço e pulmões.⁹¹ Isto ocorre provavelmente porque os compostos mais lipofílicos tendem a permanecer incorporados nas gotículas oleosas, sendo captados juntamente com o veículo pelo sistema fagocítico mononuclear e, então, dirigidos aos órgãos citados. Hirano e colaboradores sugeriram valores de log P superiores a 8 como ideais para incorporação em emulsões de uso parenteral.^{91,93} Verifica-se na prática, entretanto, que apenas um dos fármacos estudados apresenta log P próximo de 8. Assim, partindo-se da proposta desses autores de avaliação de log P, as formulações não devem ser determinantes para a obtenção de uma liberação prolongada, pelo menos para os fármacos apresentados na Tabela 1.

Por outro lado, além da fase oleosa, os emulsificantes presentes na formulação também podem influenciar fortemente a liberação dos fármacos incorporados. Wang e colaboradores demonstraram que nanoemulsões isentas de cotenoatoativos liberaram a morfina mais rapidamente que formulações contendo poloxâmero, mas de forma similar às emulsões contendo colesterol.¹⁰ Além disso, observou-se que a presença de poloxâmeros de diferentes pesos moleculares altera o perfil de liberação de diversos compostos incorporados em nanoemulsões.⁹² Interfaces mais rígidas, como as formadas por fosfolípidos sintéticos como diestearoilfosfatidiletanolamina, conduzem a uma liberação mais lenta do fármaco a partir das nanoemulsões, quando comparadas a interfaces mais fluidas, formadas por fosfolípidos como dipalmitoilfosfatidiletanolamina.³¹

O desenvolvimento de um método de avaliação da liberação a partir de um sistema coloidal é complexo, particularmente, para emulsões que possuem uma fase dispersa líquida.⁹² A dificuldade técnica envolve a separação do fármaco presente na fase interna do fármaco já liberado na fase externa.⁹⁴ Diversos métodos têm sido utilizados, como as técnicas da bolsa de diálise convencional⁵⁵ e reversa,⁹⁵ célula de Franz^{10,36} e ultrafiltração/centrifugação.⁷⁶ Nesta última técnica, amostras são diluídas e mantidas em temperatura e agitação constantes, quando alíquotas são retiradas em intervalos de tempo pré-determinados e submetidas ao processo de ultrafiltração/centrifugação, para quantificação do fármaco no ultrafiltrado.⁷⁶ Huang e colaboradores utilizaram célula de difusão de Franz para avaliar a liberação de camptotecina a partir de diversos sistemas lipídicos, utilizando uma membrana de celulose, em condições *sink* no meio receptor.³⁶ A técnica de diálise tem sido amplamente utilizada e foi recentemente revisada por Ferronato e colaboradores.⁹⁴ Os autores verificaram que para o método de diálise convencional, diversos trabalhos apresentam como resultado uma liberação lenta do fármaco num longo período de análise, indicando que os sistemas apresentam características de liberação prolongada. Já o método da bolsa de diálise reversa conduz à obtenção de perfis de liberação que parecem refletir um pouco melhor as condições *in vivo*, quando são testadas emulsões para via intravenosa.^{76,94}

Além das características do fármaco (como log P, peso molecular e pKa) e da composição das formulações (em especial do óleo e sistema emulsificante), diversos fatores relacionados às condições utilizadas para estudar a cinética de liberação de fármacos a partir de nanoemulsões podem influenciar os resultados, tais como, temperatura, intervalo de retirada de amostras, concentração do analito, fator de diluição, pH do meio de liberação, etc.^{92,94,96,97}

ASPECTOS BIOFARMACÊUTICOS

As nanoemulsões são rapidamente capturadas por fagócitos

mononucleares do sistema retículo endotelial após administração intravenosa *in vivo*, acumulando-se preferencialmente no fígado e baço e, em menores proporções, nos rins, pulmões, coração (órgãos altamente irrigados) e cérebro.^{11,22,51,79,98} Entretanto, o comportamento biofarmacêutico de nanoemulsões no organismo depende do fármaco veiculado, de sua solubilidade na fase oleosa da formulação, do local de liberação desejado e da composição do sistema de liberação formulado.

Para grande parte dos fármacos lipofílicos incorporados em nanoemulsões, após administração parenteral, obtém-se uma maior concentração plasmática (ASC) em relação à forma de solução.^{14,79,99,100} Além disso, um aumento no volume de distribuição, com redução do *clearance*, leva a um aumento no tempo de meia-vida.^{14,77,79} Entretanto, em muitos casos, os perfis farmacocinéticos são mantidos para as duas formas farmacêuticas, como para o ácido transretinoico,⁷⁷ claritromicina,²² nalbufina¹⁹ e vinorelbina.⁸⁰ Sakaeda e Hirano verificaram que a área sob a curva (ASC) de compostos altamente lipofílicos (log P superior a 8) era semelhante à ASC das gotículas de óleo da formulação, sugerindo que estes compostos podem permanecer incorporados mesmo após injeção intravenosa.⁹¹

No caso de antitumorais, por exemplo, geralmente a farmacocinética se caracteriza por rápida distribuição e lenta eliminação. Quando os fármacos são administrados na forma de nanoemulsão, podem apresentar maior atividade e menor toxicidade em relação à forma de solução, visto que se acumulam principalmente nos tumores, onde o endotélio dos capilares é fenestrado, permitindo a passagem de partículas de até 400 nm.^{12,14,79,93}

A toxicidade das nanoemulsões depende da utilização de excipientes biodegradáveis e biocompatíveis, como discutido. Assim, o metabolismo proposto para esses sistemas, baseado nas suas semelhanças aos quilomicrons, ocorre basicamente através da ligação de apolipoproteínas na superfície das gotículas.¹¹ Uma parte dos triglicerídeos pode ser hidrolisada pela lipoproteína lipase, presente no endotélio capilar, tecido adiposo, coração e musculatura esquelética, liberando ácidos graxos livres, diglicerídeos e glicerol nos tecidos adjacentes; ou, então, elas podem simplesmente ser captadas e metabolizadas pelo fígado.¹⁰¹

O *clearance* de uma emulsão do organismo é intrínscio à relação entre suas propriedades físico-químicas e a resposta fisiológica do sistema fagocítico mononuclear.¹⁰¹ Sistemas de menor tamanho de gotícula são mais dificilmente reconhecidos como partículas estranhas pelo organismo e permanecem mais tempo em circulação (menor *clearance*).^{99,102} A adição de polímeros hidrofílicos às nanoemulsões, como derivados de polietilenoglicol (PEG), permite a redução da adesão de opsoninas à superfície das nanoestruturas.^{52,54} A adição de poloxâmero 188 também reduz a adsorção de proteínas, como imunoglobulinas e fibrinogênio, mas ainda permite a adsorção de proteínas de menor tamanho, como apolipoproteínas e albumina, dependendo das cargas que estão disponíveis na superfície do nanocarreador.¹⁰³ Considerando-se que o processo de opsonização é essencial para a fagocitose e consequente captação desses sistemas pelas células do sistema fagocitário, a presença de polímeros hidrofílicos permite um prolongamento do tempo de circulação das emulsões na corrente sanguínea, caracterizando os sistemas denominados furtivos.^{51,52,54}

O desenvolvimento de uma nanoemulsão não é apenas um meio adequado de solubilizar uma molécula, mas sim um fator essencial para a obtenção dos efeitos clínicos desejados.¹⁰⁴ Diversas nanoemulsões contendo fármacos incorporados já estão comercialmente disponíveis há mais de duas décadas (Tabela 2). Para a maior parte dos fármacos, a estratégia utilizada visa a redução dos efeitos adversos,^{27,28,105,106} mantendo um efeito farmacológico alto ou superior, possibilitando a utilização de menores doses^{5,107} e melhorando a farmacocinética da molécula.¹⁰⁴ Considerações sobre alguns destes fármacos são apresentadas a seguir.

Diazepam

A alta lipofilia do diazepam (ansiolítico e sedativo) faz com que seja necessário o uso de solventes (como propilenoglicol, fenil carbinol e etanol) para a dissolução do fármaco nas preparações aquosas convencionais (Valium® e Stesolid®), causando dor e tromboflebite ao paciente durante a injeção.^{27,108,109} O desenvolvimento de uma nanoemulsão, comercialmente disponível sob nome de Diazemuls® (Kabi-Pharmacia), permitiu a redução destes efeitos adversos,^{27,108,110} mantendo fases de distribuição e eliminação semelhantes ao Valium®.^{5,111} Entretanto, doses maiores de Diazemuls® são necessárias para se obter o mesmo efeito de Valium®, visto que este conduz a maiores frações livres de diazepam no plasma.¹⁰⁸

Etomidato

A solução de uso intravenoso de etomidato (hipnótico de curta duração), devido a problemas de estabilidade, contém em sua composição 35% de propilenoglicol (Hypnomidate®).^{112,113} Devido à presença deste solvente de alta osmolaridade, a administração de Hypnomidate® está relacionada a diversos efeitos adversos, como hemólise, trombose, tromboflebite e dor no local de aplicação.^{114,115} Desenvolveu-se então uma nanoemulsão contendo 2 mg/mL de etomidato em Lipofundin TCM, com osmolaridade mais próxima à fisiológica (cerca de 400 mosmol/kg).¹¹⁶ Comercialmente disponível nos continentes asiático e europeu, sob o nome de Etomidate-Lipuro (B. Braun), a emulsão permitiu a redução das sequelas venosas e hemolíticas, além da dor no momento de aplicação.¹¹²⁻¹¹⁴

Propofol

A farmacocinética e farmacodinâmica do propofol (anestésico) são complexas. Ocorre uma rápida distribuição inicial do fármaco (2-3 min, com alta variabilidade entre pacientes) e redução de suas concentrações a níveis subterapêuticos em poucos minutos. Entretanto, por ser um fármaco muito lipofílico, possui um alto volume de distribuição e sua eliminação completa do organismo pode levar dias.¹¹⁷

Devido à ocorrência de efeitos anafiláticos relacionados ao Cremophor EL, presente na formulação original de propofol, desenvolveu-se uma nanoemulsão como veículo para este fármaco, contendo em sua composição óleo de soja (TCL), glicerol, lecitina de gema de ovo e edetato dissódico. Este veículo permitiu a redução do volume de distribuição do fármaco, acelerando seus processos de *clearance* pelos órgãos responsáveis. Reduziu ainda a dose necessária para produzir o efeito desejado, permitindo um rápido início e recuperação do efeito anestésico, quando comparado a uma solução não lipídica (etanólica), gerando, assim, maior segurança na administração, devido ao menor acúmulo contínuo do fármaco, e eliminando a necessidade de ajuste constante de dose.¹⁰⁴ Sua comercialização foi aprovada em 1989 nos Estados Unidos, sob o nome de Diprivan® a 1 ou 2% (AstraZeneca/APP Pharmaceuticals).^{28,118} No Brasil, estão disponíveis Lipuro 1% (B. Braun) e Diprivan 1 e 2% (AstraZeneca), além do genérico a 1% (Eurofarma Laboratórios).¹¹⁹ As diversas formulações genéricas atualmente disponíveis são constituídas por um fator adicional de variabilidade de resposta entre indivíduos na indução da anestesia por propofol, além das características farmacocinéticas do próprio fármaco¹¹⁷ e das diferenças de perfil lipoproteico de cada paciente, devido à alta ligação do propofol ao LDL e albumina.¹²⁰

Devido a efeitos adversos relacionados à dor no local de injeção e ao aumento dos níveis de triglicéridos após administração por longos períodos,²⁸ algumas alterações na formulação de Diprivan® têm sido propostas, algumas já inclusive sendo comercializadas, como o

Propofol®Lipuro (B. Braun), que contém como núcleo oleoso uma mistura de TCM e TCL.¹²¹ A adição de TCM à formulação permitiu a redução da dor no momento da injeção, devido à maior incorporação do fármaco no núcleo oleoso e menor quantidade de propofol livre na fase aquosa externa da emulsão.^{114,120,122} Além disso, permitiu a redução da proporção de TCL, responsável pela elevação dos triglicéridos plasmáticos, principalmente quando administrados por infusão contínua, por longos períodos de tempo, ou concomitantemente com a nutrição parenteral total.^{121,123}

As formulações alternativas têm sido desenvolvidas como, por exemplo, a incorporação de maior concentração de propofol (6%) na nanoemulsão,¹²³⁻¹²⁵ a incorporação em microemulsões (Aquafof™ 1%, Daewon Pharmaceutical Co.),^{126,127} ou o desenvolvimento de um pró-fármaco do propofol em forma de solução (Aquavan®).¹²⁸ Entretanto, a estratégia da mistura de TCM e TCL no núcleo oleoso parece ainda prevalecer sobre as outras.

Palmitato de dexametasona

Apesar da excelente atividade anti-inflamatória da dexametasona, o uso clínico de corticosteroides é limitado pelos inúmeros efeitos colaterais.^{105,129,130} Para contornar estes inconvenientes, podem-se utilizar pró-fármacos lipofílicos que, no organismo, são gradualmente hidrolisados ao metabólito ativo (apresentando assim, efeito anti-inflamatório prolongado). A vantagem consiste na utilização de doses menores do que as utilizadas na forma convencional hidrossolúvel (fosfato de dexametasona), reduzindo os riscos de efeitos adversos.⁵ Considerando-se que as nanoemulsões são captadas por células inflamatórias do sistema fagocítico mononuclear, foram utilizadas como veículo para o pró-fármaco lipofílico da dexametasona (palmitato), estando comercialmente disponível como Limethason® (Green Cross Co./Mitsubishi Tanabe Pharma Co.).^{5,105,130}

Limethason® mostrou ótimos resultados no tratamento de artrite reumatoide, síndrome de West, doenças inflamatórias e outras doenças autoimunes.^{107,130} Enquanto a solução de fosfato de dexametasona se distribui rapidamente em tecidos ricos em água, como os músculos, a nanoemulsão se acumula principalmente nos tecidos inflamados de órgãos como fígado e baço. O perfil de biodistribuição é diferente, mesmo que o padrão de eliminação seja similar entre ambas.¹³⁰ Limethason® suprime mais de 80% da atividade fagocitária dos macrófagos na concentração de 0,03 mg/mL, enquanto Decadron® somente 30%, em uma concentração 10 vezes maior.^{5,130}

Flurbiprofeno

O flurbiprofeno (anti-inflamatório não esteroide de uso oral) é um fármaco lipofílico utilizado para tratamento de artrite reumatoide e outras doenças inflamatórias associadas ou não ao câncer.^{52,106,131} A não disponibilidade da via oral e/ou os diversos efeitos gastrointestinais causados por estes medicamentos exigem muitas vezes a utilização da via parenteral. Considerando-se as graves irritações locais causadas pelo sal sódico de flurbiprofeno, desenvolveu-se um pró-fármaco de flurbiprofeno (axetil), lipofílico e solúvel em óleo de soja,¹⁰⁶ que foi incorporado em nanoemulsões de uso parenteral (Ropion, Kaken Pharmaceuticals Co., Lipfen, GreenCross Co.), comercialmente disponibilizadas no mercado japonês a partir de 1992.^{52,106} A administração de Ropion manteve os parâmetros farmacocinéticos tempo de meia-vida e tempo de residência médio, mas resultou em um aumento na ASC e redução do *clearance*, quando comparado à solução. A incorporação do fármaco não esterificado em nanoemulsões contendo oleato de etila, lecitina de gema de ovo e DSPE-PEG levou a um menor acúmulo do fármaco em órgãos como fígado e baço, devido à menor captação pelo sistema fagocítico mononuclear.⁵²

Prostaglandina E

A prostaglandina E1, sintetizada em diversos locais do organismo, é reponsável por diversos efeitos fisiológicos, como vasodilatação, redução da pressão sanguínea, angiogênese e inibição da agregação plaquetária.^{132,133} Quando administrada para tratamento de diversas doenças, possui um curto tempo de meia-vida, sendo necessárias altas doses, levando a inúmeros efeitos adversos, como hipotensão, diarreia, irritação e dor local.^{98,132} Neste contexto, foram disponibilizadas no mercado, em 1975, PGE1 complexada a ciclodextrinas e, em 1985, PGE1 incorporada em nanoemulsões lipídicas (Liple®, Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation; Palux®, Taisho Pharmaceutical).^{107,134} As formulações lipídicas são utilizadas para tratamento de diversas doenças cardiovasculares, pois se acumulam nas paredes dos vasos lesionados, transportando o fármaco ao sítio da lesão vascular, além de protegê-lo de sua rápida inativação pelos pulmões.¹³²⁻¹³⁵

Apesar de algumas vantagens na utilização das nanoemulsões em relação aos complexos com ciclodextrinas,^{132,134} estudos demonstram a fraca retenção da PGE1 nas estruturas lipídicas.^{97,133} Em pH da fase externa inferiores a 5, o fármaco está preferencialmente localizado na interface das gotículas (>97%), enquanto em pH mais elevados se encontra mais ionizado e tende à fase aquosa.^{97,136,137} Como na prática clínica as nanoemulsões são frequentemente diluídas em outros fluidos para a administração, resultando em alterações no efeito farmacológico esperado,^{96,97,138} diversos pesquisadores têm estudado modificações na formulação,^{133,138} ou desenvolvido novos sistemas carreadores (nanopartículas poliméricas).¹³⁹ A substituição da PGE1 por seu pró-fármaco AS013 resultou em maior estabilidade química do fármaco na emulsão e, assim, em um efeito mais prolongado.^{133,140} Outras nanoemulsões de PGE1 contendo óleo de oliva como núcleo oleoso também já estão disponíveis comercialmente no Japão (Alyprost®, Nippon Chemiphar, e Prink®, Taiyo Yakuin).¹³⁸ Apesar de todos os estudos em andamento, a nanoemulsão originalmente desenvolvida ainda é clinicamente muito vantajosa, sendo o tratamento de escolha para diversas patologias.^{96,138}

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os sistemas de liberação lipídicos são constituídos de lipídeos naturais e/ou sintéticos, com grande variedade de aplicações nas áreas farmacêutica e biomédica. A versatilidade das matérias-primas empregadas (como fosfolipídeos e lipídeos catiônicos) tem originado diferentes sistemas carreadores, especialmente para compostos insolúveis, como lipossomas, nanopartículas, discos, fragmentos de bicamada de lipídeos sintéticos e, ainda, sistemas nanoemulsionados, que foram abordados nesse trabalho de revisão.^{2,3,34} De acordo com a literatura consultada, uma grande variedade de óleos e tensoativos tem sido utilizada no desenvolvimento de nanoemulsões de uso parenteral. Nanoemulsões constituídas de triglicerídeos de cadeia longa (óleo de soja) estabilizadas por lecitina de gema de ovo representam a combinação mais descrita do núcleo oleoso, mantendo-se uma composição similar à que originou as primeiras nanoemulsões de uso parenteral como, por exemplo, o Intralipid (Baxter). Tal seleção se justifica pela biocompatibilidade destas matérias-primas, utilizadas frequentemente na nutrição parenteral há mais de 40 anos, ilustrando a segurança de seu uso.

A partir dessa formulação base, foi possível identificar diferentes propostas de formulações nanoemulsionadas especialmente baseadas na modificação de componentes da interface. Na Figura 3 propõe-se uma representação esquemática dessas formulações classificadas em 5 grupos diferentes. As primeiras nanoemulsões baseavam-se na formulação das emulsões utilizadas na nutrição parenteral, com

a incorporação do fármaco em seu núcleo oleoso e/ou adsorção na interface fosfolipídica (Figura 3A). Entretanto, devido especialmente a problemas relacionados à estabilidade dos sistemas, surgiu a necessidade do desenvolvimento de formulações estabilizadas por uma mistura de agentes tensoativos, sendo adicionadas de emulsificantes não iônicos (Figura 3B) ou iônicos (Figura 3C).⁸ A rápida eliminação destes sistemas após a administração intravenosa levou ao surgimento das emulsões contendo fosfolipídeos ligados a polímeros hidrofílicos, como o polietilenoglicol (Figura 3D), que podem ainda ser acopladas por ligantes específicos (Figura 3E) visando um direcionamento ativo a determinados órgãos.^{8,53}

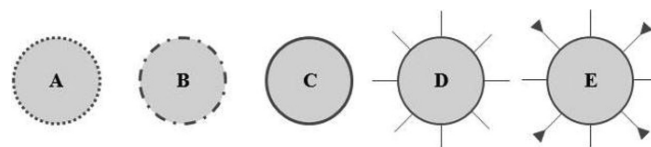


Figura 3. Representação esquemática dos diferentes tipos de nanoemulsões lipídicas de diferentes composições contendo: (A) apenas fosfolipídeos como tensoativos; (B) fosfolipídeos adicionados de um tensoativo não iônico; (C) fosfolipídeos adicionados de tensoativos iônicos (aniônico ou catiônico); (D) polímeros hidrofílicos e (E) ligantes nas extremidades dos polímeros hidrofílicos

Observa-se que fármacos lipofílicos de diversas classes terapêuticas têm sido incorporados em nanoemulsões de uso parenteral. Também têm sido apresentados relatos de pró-fármaco visando aumentar a hidrofobicidade da molécula para uma melhor incorporação no veículo de liberação. Dependendo das propriedades físico-químicas do fármaco veiculado, este pode se encontrar solubilizado no núcleo oleoso e/ou adsorvido na interface.

A incorporação de fármacos de reduzida hidrossolubilidade em nanoemulsões permite a obtenção de algumas vantagens em relação às preparações convencionais (obtidas por solubilização), incluindo um aumento da segurança e redução de efeitos adversos (como irritação, dor no local de injeção e tromboflebite), ou aumento da atividade e melhora da farmacocinética do fármaco, tornando o sistema muito promissor para determinadas situações. O efeito biológico final da formulação no organismo dependerá de suas propriedades físico-químicas, das propriedades químicas do fármaco incorporado e da resposta fisiológica de reconhecimento do organismo, através do sistema fagocítico mononuclear.

Em conclusão, esse trabalho de revisão demonstra o interesse de nanoemulsões lipídicas como sistemas de liberação parenteral para fármacos hidrofóbicos. As propriedades físico-químicas e biofarmacêuticas são fortemente influenciadas pelas composições qualitativa e quantitativa dos sistemas desenvolvidos.

REFERÊNCIAS

1. Strickley, R. G.; *Pharm. Res.* **2004**, *21*, 201.
2. Driscoll, D. F.; *Pharm. Res.* **2006**, *23*, 1959.
3. Date, A. A.; Nagarsenker, M. S.; *Int. J. Pharm.* **2008**, *355*, 19.
4. Hung, C. F.; Fang, C. L.; Liao, M. H.; Fang, J. Y.; *Int. J. Pharm.* **2007**, *335*, 193.
5. Klang, S.; Benita, S. Em *Design and evaluation of submicron emulsions as colloidal drug carriers for intravenous administration*; Benita, S., ed.; Overseas Publishers Association: Amsterdam, 1998.
6. Anton, N.; Vandamme, T.; *Pharm. Res.* **2010**, *28*, 978.
7. Oliveira, A. G.; Scarpa, M. V.; Correa, M. A.; Cera, L. F. R.; Formariz, T. P.; *Quim. Nova* **2004**, *27*, 131.
8. Tamilvanan, S.; *Int. J. Pharm.* **2009**, *381*, 62.
9. Tamilvanan, S.; *Progress Lipid Res.* **2004**, *43*, 489.

10. Wang, J. J.; Sung, K. C.; Yeh, C. H.; Fang, J. Y.; *Int. J. Pharm.* **2008**, *353*, 95.
11. Müller, R. H.; Heinemann, S.; *Pharmazeutische Industrie* **1993**, *55*, 853.
12. Wang, J.; Maitani, Y.; Takayama, K.; *J. Pharm. Sci.* **2002**, *91*, 1128.
13. Constantinides, P. P.; Tustian, A.; Kessler, D. R.; *Adv. Drug Delivery Rev.* **2004**, *56*, 1243.
14. Ganta, S.; Paxton, J. W.; Baguley, B. C.; Garg, S.; *Int. J. Pharm.* **2008**, *360*, 115.
15. Jumaa, M.; Muller, B. W.; *Drug Dev. Ind. Pharm.* **2001**, *27*, 1115.
16. Kale, A. A.; Patravale, V. B.; *AAPS PharmSciTech.* **2008**, *9*, 966.
17. Lu, Y.; Wang, Y.; Tang, X.; *Int. J. Pharm.* **2008**, *346*, 47.
18. Floyd, A. G.; *Pharmaceutical Science & Technology Today* **1999**, *2*, 134.
19. Wang, J. J.; Sung, K. C.; Hu, O. Y. P.; Yeh, C. H.; Fang, J. Y.; *J. Controlled Release* **2006**, *115*, 140.
20. Warisnoicharoen, W.; Lansley, A. B.; Lawrence, M. J.; *Int. J. Pharm.* **2000**, *198*, 7.
21. Li, H.; Nie, S. F.; Yang, X. G.; Wang, C. G.; Cui, S. X.; Pan, W. S.; *Int. J. Pharm.* **2008**, *356*, 282.
22. Lu, Y.; Zhang, Y.; Yang, Z.; Tang, X.; *Int. J. Pharm.* **2009**, *366*, 160.
23. Patterson, C.; Ballinger, S.; Stouffer, G. A.; Runge, M. S.; *J. Am. College of Cardiology* **1999**, *34*, 1216.
24. Nornoo, A. O.; Chow, D. S.; *Int. J. Pharm.* **2008**, *349*, 117.
25. Tarr, B. D.; Sambandan, T. G.; Yalkowsky, S. H.; *Pharm. Res.* **1987**, *4*, 162.
26. <http://www.bbBraun.com.br/cps/rde/xchg/cw-bbraun-pt-br/hs.xsl/products.html>, acessada em Junho 2012.
27. Levy, M. Y.; Benita, S.; *Int. J. Pharm.* **1989**, *54*, 103.
28. Baker, M. T.; Naguib, M.; *Anesthesiology* **2005**, *103*, 860.
29. Driscoll, D. F.; Giampietro, K.; Wichelhaus, D. P.; Peterss, H.; Nehne, J.; Niemann, W.; Bistran, B. R.; *Clinical Nutrition* **2001**, *20*, 151.
30. Floyd, A. G.; Jain, S. Em *Injectable emulsions and suspensions*; Lieberman, H. A.; Rieger, M. M.; Banker, G. S., eds.; Marcel Dekker: New York, 1996.
31. Washington, C.; *Adv. Drug Delivery Rev.* **1996**, *20*, 131.
32. Rabinovich-Guilatt, L.; Dubernet, C.; Gaudin, K.; Lambert, G.; Couvreur, P.; Chaminade, P.; *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2005**, *61*, 69.
33. Herman, C. J.; Groves, M. J.; *Pharm. Res.* **1993**, *10*, 774.
34. Carmona-Ribeiro, A. M.; *Int. J. Nanomedicine* **2010**, *5*, 249.
35. Ganta, S.; Amiji, M.; *Mol. Pharmacol.* **2009**, *6*, 928.
36. Huang, Z. R.; Hua, S. C.; Yang, Y. L.; Fang, J. Y.; *Acta Pharmacol. Sin.* **2008**, *29*, 1094.
37. Kandadi, P.; Syed, M. A.; Goparaboina, S.; Veerabrahma, K.; *Eur. J. Pharm. Sci.* **2011**, *42*, 423.
38. Norden, T. P.; Siekmann, B.; Lundquist, S.; Malmsten, M.; *Eur. J. Pharm. Sci.* **2001**, *13*, 393.
39. Nii, T.; Ishii, F.; *Colloids Surf., B* **2004**, *39*, 57.
40. Nii, T.; Ishii, F.; *Colloids Surf., B* **2005**, *41*, 305.
41. Medina, J.; Salvado, A.; del Pozo, A.; *Int. J. Pharm.* **2001**, *216*, 1.
42. Benita, S.; Levy, M. Y.; *J. Pharm. Sci.* **1993**, *82*, 1069.
43. Wang, J.; Cui, Y.; Tang, X.; *Drug Dev. Ind. Pharm.* **2009**, *35*, 508.
44. Jumaa, M.; Kleinebudde, P.; Müller, B. W.; *Pharmaceutica Acta Helvetiae* **1999**, *73*, 293.
45. Kelmann, R. G.; Kuminek, G.; Teixeira, H. F.; Koester, L. S.; *Int. J. Pharm.* **2007**, *342*, 231.
46. Kelmann, R. G.; Kuminek, G.; Teixeira, H. F.; Koester, L. S.; *Drug Dev. Ind. Pharm.* **2008**, *34*, 53.
47. Soderlind, E.; Wollbratt, M.; von Corswant, C.; *Int. J. Pharm.* **2003**, *252*, 61.
48. Filippin, F. B.; Souza, L. C.; Maranhão, R. C.; *Quim. Nova* **2008**, *31*, 591.
49. Nam, H. Y.; Park, J. H.; Kim, K.; Kwon, I. C.; Jeong, S. Y.; *Arch. Pharmacol. Res.* **2009**, *32*, 639.
50. Verissimo, L. M.; Lima, L. F.; Egito, L. C.; de Oliveira, A. G.; do Egito, E. S.; *J. Drug Targeting* **2010**, *18*, 333.
51. Liu, F.; Liu, D.; *Pharm. Res.* **1995**, *12*, 1060.
52. Park, K. M.; Lee, M. K.; Hwang, K. J.; Kim, C. K.; *Int. J. Pharm.* **1999**, *183*, 145.
53. Torchilin, V. P.; *Adv. Drug Delivery Rev.* **2006**, *58*, 1532.
54. Torchilin, V. P.; Omelyanenko, V. G.; Papisov, M. I.; Bogdanov, A. A., Jr.; Trubetskoy, V. S.; Herron, J. N.; Gentry, C. A.; *Biochim. Biophys. Acta* **1994**, *1195*, 11.
55. Shiokawa, T.; Hattori, Y.; Kawano, K.; Ohguchi, Y.; Kawakami, H.; Toma, K.; Maitani, Y.; *Clinical Cancer Res.* **2005**, *11*, 2018.
56. Shen, F.; Ross, J. F.; Wang, X.; Ratnam, M.; *Biochemistry* **1994**, *33*, 1209.
57. Watrobska-Swietlikowska, D.; Sznitowska, M.; *Int. J. Pharm.* **2006**, *312*, 174.
58. Han, J.; Washington, C.; *Int. J. Pharm.* **2005**, *288*, 263.
59. Rowe, R. C.; Sheskey, P. J.; Owen, S. C.; *Handbook of pharmaceutical excipients*, 5th ed., Pharmaceutical Press: London, 2006.
60. Han, J.; Davis, S. S.; Washington, C.; *Int. J. Pharm.* **2001**, *215*, 207.
61. Jumaa, M.; Muller, B. W.; *Int. J. Pharm.* **1999**, *183*, 175.
62. Almeida, M. E.; Teixeira, H. F.; Koester, L. S.; *Latin American Journal of Pharmacy* **2008**, *27*, 780.
63. Tadros, T.; Izquierdo, P.; Esquena, J.; Solans, C.; *Adv. Colloid Interface Sci.* **2004**, *108-109*, 303.
64. Constantinides, P. P.; Chaubal, M. V.; Shorr, R.; *Adv. Drug Delivery Rev.* **2008**, *60*, 757.
65. Jafari, S. M.; Assadpoor, E.; He, Y.; Bhandari, B.; *Food Hydrocolloids* **2008**, *22*, 1191.
66. Klang, S. H.; Parnas, M.; Benita, S. Em *Emulsions as drug carriers - possibilities, limitations and future perspectives*; Müller, R. H.; Benita, S.; Böhm, B. H. L., eds.; Medpharm GmbH Scientific Publishers: Stuttgart, 1998.
67. Kentish, S.; Wooster, T. J.; Ashokkumar, M.; Balachandran, S.; Mawson, R.; Simons, L.; *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **2008**, *9*, 170.
68. Jafari, S. M.; He, Y.; Bhandari, B.; *Journal of Food Engineering* **2007**, *82*, 478.
69. Akkar, A.; Muller, R. H.; *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2003**, *56*, 29.
70. Akkar, A.; Muller, R. H.; *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2003**, *55*, 305.
71. Akkar, A.; Namsolleck, P.; Blaut, M.; Muller, R. H.; *AAPS PharmSci-Tech* **2004**, *5*, E24.
72. Santos-Magalhaes, N. S.; Pontes, A.; Pereira, V. M.; Caetano, M. N.; *Int. J. Pharm.* **2000**, *208*, 71.
73. Tabosa do Egito, E. S.; Fessi, H.; Appel, M.; Puisieux, F.; Bolard, J.; Devissaguet, J. P.; *STP Pharma Sciences* **1994**, *4*, 155.
74. Teixeira, H. F.; Martini, E.; Silveira, A. M.; Dubernet, C.; *Caderno de Farmácia* **2002**, *18*, 89.
75. Martini, E.; Carvalho, E.; Teixeira, H.; de Oliveira, M. C.; *Quim. Nova* **2007**, *30*, 930.
76. de Araújo, S. C.; de Mattos, A. C. A.; Teixeira, H. F.; Coelho, P. M. Z.; Nelson, D. L.; de Oliveira, M. C.; *Int. J. Pharm.* **2007**, *337*, 307.
77. Hwang, S. R.; Lim, S. J.; Park, J. S.; Kim, C. K.; *Int. J. Pharm.* **2004**, *276*, 175.
78. Yue, P. F.; Yuan, H. L.; Li, X. Y.; Yang, M.; Zhu, W. F.; Xiao, X. H.; *Chem. Pharm. Bull.* **2007**, *55*, 1563.
79. Patlolla, R. R.; Vobalaboina, V.; *J. Pharm. Sci.* **2005**, *94*, 437.
80. Zhang, H. Y.; Tang, X.; Li, H. Y.; Liu, X. L.; *Int. J. Pharm.* **2008**, *348*, 70.
81. Michalowski, C. B.; Guterres, S. S.; Dalla Costa, T.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2004**, *35*, 1093.
82. Yue, P. F.; Lu, X. Y.; Zhang, Z. Z.; Yuan, H. L.; Zhu, W. F.; Zheng, Q.; Yang, M.; *AAPS PharmSciTech* **2009**, *10*, 376.
83. Yue, P. F.; Yuan, H. L.; Zhu, W. F.; Cong, L. B.; Xie, H.; Liu, Z. G.; Wang, L. J.; Xiao, X. H.; *Biol. Pharm. Bull.* **2008**, *31*, 45.

84. Lawrence, M. J.; Rees, G. D.; *Adv. Drug Delivery Rev.* **2000**, *45*, 89.
85. Jumaa, M.; Müller, B. W.; *Int. J. Pharm.* **1998**, *163*, 81.
86. Martini, E.; Fattal, E.; de Oliveira, M. C.; Teixeira, H.; *Int. J. Pharm.* **2008**, *352*, 280.
87. Preetz, C.; Hauser, A.; Hause, G.; Kramer, A.; Mader, K.; *Eur. J. Pharm. Sci.* **2010**, *39*, 141.
88. Roland, I.; Piel, G.; Delattre, L.; Evrard, B.; *Int. J. Pharm.* **2003**, *263*, 85.
89. Silvander, M.; Hellstrom, A.; Warnheim, T.; Claesson, P.; *Int. J. Pharm.* **2003**, *252*, 123.
90. Silva, F. A. M.; Borges, M. F. M.; Ferreira, M. A.; *Quim. Nova* **1999**, *22*, 94.
91. Sakaeda, T.; Hirano, K.; *J. Drug Targeting* **1998**, *6*, 119.
92. Washington, C.; Evans, K.; *J. Controlled Release* **1995**, *33*, 383.
93. Sakaeda, T.; Hirano, K.; *J. Drug Targeting* **1995**, *3*, 221.
94. Ferronato, K.; Bruxel, F.; Araújo, F. A.; Teixeira, H. F.; Koester, L. S.; *Latin American Journal of Pharmacy* **2010**, *29*, 313.
95. Araújo, F. A.; Kelmann, R. G.; Araujo, B. V.; Finatto, R. B.; Teixeira, H. F.; Koester, L. S.; *Eur. J. Pharm. Sci.* **2010**
96. Komori, Y.; Aiba, T.; Kushima, M.; Kawasaki, H.; Kurosaki, Y.; *J. Pharm. Sci.* **2007**, *96*, 935.
97. Yamaguchi, T.; Fukushima, Y.; Itai, S.; Hayashi, H.; *Biochim. Biophys. Acta* **1995**, *1256*, 381.
98. Igarashi, R.; Takenaga, M.; Matsuda, T.; *Adv. Drug Delivery Rev.* **1996**, *20*, 147.
99. Kurihara, A.; Shibayama, Y.; Yasuno, A.; Ikeda, M.; Hisaoka, M.; *Bio-pharm. Drug Dispos.* **1996**, *17*, 343.
100. Wang, Y. M.; Cory, A. L.; *Pharm. Dev. Technol.* **1999**, *4*, 333.
101. Hultin, M.; Carneheim, C.; Rosenqvist, K.; Olivecrona, T.; *J. Lipid Res.* **1995**, *36*, 2174.
102. Seki, J.; Sonoke, S.; Saheki, A.; Fukui, H.; Sasaki, H.; Mayumi, T.; *Int. J. Pharm.* **2004**, *273*, 75.
103. Tamilvanan, S.; Schmidt, S.; Muller, R. H.; Benita, S.; *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2005**, *59*, 1.
104. Dutta, S.; Ebling, W. F.; *Anesthesiology* **1997**, *87*, 1394.
105. Mizushima, Y.; Hamano, T.; Yokoyama, K.; *Annals of the Rheumatic Diseases* **1982**, *41*, 263.
106. Ohmukai, O.; *Adv. Drug Delivery Rev.* **1996**, *20*, 203.
107. Mizushima, Y.; Kaneko, K.; Hoshi, K.; *Annals of the Rheumatic Diseases* **1983**, *42*, 479.
108. McClean, E.; Collier, P. S.; Fee, J. P. H.; *Int. J. Pharm.* **1990**, *60*, 35.
109. Pandit, J. J.; *Anaesthesia & Intensive Care Medicine* **2008**, *9*, 154.
110. Gleeson, D.; Rose, J. D.; Smith, P. M.; *Br. J. Clinical Pharm.* **1983**, *16*, 448.
111. von Dardel, O.; Mebius, C.; Mossberg, T.; Svensson, B.; *Br. J. Anaesthesia* **1983**, *55*, 41.
112. Doenicke, A. W.; Roizen, M. F.; Hoernecke, R.; Lorenz, W.; Ostwald, P.; *Br. J. Anaesthesia* **1999**, *83*, 464.
113. Nyman, Y.; von Hofsten, K.; Palm, C.; Eksborg, S.; Lonnqvist, P. A.; *B. J. Anaesthesia* **2006**, *97*, 536.
114. Doenicke, A. W.; Roizen, M. F.; Rau, J.; O'Connor, M.; Kugler, J.; Klotz, U.; Babl, J.; *Anesthesia & Analgesia* **1997**, *85*, 1399.
115. Nebauer, A. E.; Doenicke, A.; Hoernecke, R.; Angster, R.; Mayer, M.; *Br. J. Anaesthesia* **1992**, *69*, 58.
116. Doenicke, A.; Kugler, A.; Vollmann, N.; *Can. J. Anesthesia* **1990**, *37*, 823.
117. Calvo, R.; Telletxea, S.; Leal, N.; Aguilera, L.; Suarez, E.; De La Fuente, L.; Martin-Suarez, A.; Lukas, J. C.; *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* **2004**, *48*, 1038.
118. <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm>, acessada em Junho 2012.
119. http://www7.anvisa.gov.br/datavisa/consulta_produto/Medicamentos/frmConsultaMedicamentos.asp, acessada em Junho 2012.
120. Schicher, M.; Polsinger, M.; Hermetter, A.; Prassl, R.; Zimmer, A.; *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2008**, *70*, 882.
121. Ward, D. S.; Norton, J. R.; Guivarc'h, P. H.; Litman, R. S.; Bailey, P. L.; *Anesthesiology* **2002**, *97*, 1401.
122. Rau, J.; Roizen, M. F.; Doenicke, A. W.; O'Connor, M. F.; Strohschneider, U.; *Anesthesia & Analgesia* **2001**, *93*, 382.
123. Knibbe, C. A.; Voortman, H. J.; Aarts, L. P.; Kuks, P. F.; Lange, R.; Langemeijer, H. J.; Danhof, M.; *Br. J. Clinical Pharm.* **1999**, *47*, 653.
124. Cox, E. H.; Knibbe, C. A.; Koster, V. S.; Langemeijer, M. W.; Tukker, E. E.; Lange, R.; Kuks, P. F.; Langemeijer, H. J.; Lie, A. H. L.; Danhof, M.; *Pharm. Res.* **1998**, *15*, 442.
125. Knibbe, C. A.; Naber, H.; Aarts, L. P.; Kuks, P. F.; Danhof, M.; *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* **2004**, *48*, 302.
126. Jung, J. A.; Choi, B. M.; Cho, S. H.; Choe, S. M.; Ghim, J. L.; Lee, H. M.; Roh, Y. J.; Noh, G. J.; *Br. J. Clinical Pharm.* **2010**, *104*, 563.
127. Kim, K. M.; Choi, B. M.; Park, S. W.; Lee, S. H.; Christensen, L. V.; Zhou, J.; Yoo, B. H.; Shin, H. W.; Bae, K. S.; Kern, S. E.; Kang, S. H.; Noh, G. J.; *Anesthesiology* **2007**, *106*, 924.
128. Fechner, J.; Schwilden, H.; Schuttler, J.; *Handbook of Experimental Pharmacology*, 2008, p.253.
129. Panyam, J.; Labhasetwar, V.; *Mol. Pharmacol.* **2004**, *1*, 77.
130. Yokoyama, K.; Watanabe, M.; *Adv. Drug Delivery Rev.* **1996**, *20*, 195.
131. Kumpulainen, E.; Valitalo, P.; Kokki, M.; Lehtonen, M.; Hooker, A.; Ranta, V. P.; Kokki, H.; *Br. J. Clinical Pharm.* **2010**, *70*, 557.
132. Hoshi, K.; *Adv. Drug Delivery Rev.* **1996**, *20*, 171.
133. Igarashi, R.; Takenaga, M.; Takeuchi, J.; Kitagawa, A.; Matsumoto, K.; Mizushima, Y.; *J. Controlled Release* **2001**, *71*, 157.
134. Momma, K.; *Adv. Drug Delivery Rev.* **1996**, *20*, 177.
135. Scheffler, P.; Gross, J.; Markwirth, T.; Maier, J.; Schieffer, H.; *Eur. J. Clinical Pharm.* **1996**, *51*, 235.
136. Teagarden, D. L.; Anderson, B. D.; Petre, W. J.; *Pharm. Res.* **1988**, *5*, 482.
137. Teagarden, D. L.; Anderson, B. D.; Petre, W. J.; *Adv. Drug Delivery Rev.* **1996**, *20*, 155.
138. Shibata, H.; Saito, H.; Yomota, C.; Kawanishi, T.; *Int. J. Pharm.* **2009**, *378*, 167.
139. Takenaga, M.; Ishihara, T.; Ohta, Y.; Tokura, Y.; Hamaguchi, A.; Igarashi, R.; Mizushima, T.; *J. Controlled Release* **2010**, *148*, 249.
140. Belch, J. J.; Bell, P. R.; Creissen, D.; Dormandy, J. A.; Kester, R. C.; McCollum, R. D.; Mizushima, Y.; Ruckley, C. V.; Scurr, J. H.; Wolfe, J. H.; *Circulation* **1997**, *95*, 2298.
141. Ohguchi, Y.; Kawano, K.; Hattori, Y.; Maitani, Y.; *J. Drug Targeting* **2008**, *16*, 660.
142. Sundar, S.; Chakravarty, J.; Agarwal, D.; Shah, A.; Agrawal, N.; Rai, M.; *Tropical Medicine & International Health* **2008**, *13*, 1208.
143. Müller, R. H.; Schmidt, S.; Buttler, I.; Akkar, A.; Schmitt, J.; Bromer, S.; *Int. J. Pharm.* **2004**, *269*, 293.
144. Schmidt, S.; Muller, R. H.; *Int. J. Pharm.* **2003**, *254*, 3.
145. Tabosa do Egito, E. S.; Appel, M.; Fessi, H.; Barratt, G.; Puisieux, F.; Devissaguet, J. P.; *J. Antimicrob. Chemother.* **1996**, *38*, 485.
146. Tabosa do Egito, E. S.; Fessi, H.; Appel, M.; Barratt, G.; Legrand, P.; Bolard, J.; Devissaguet, J. P.; *Int. J. Pharm.* **1996**, *145*, 17.
147. Zhao, J.; Wu, J.; Heberle, F. A.; Mills, T. T.; Klawitter, P.; Huang, G.; Costanza, G.; Feigenson, G. W.; *Biochim. Biophys. Acta, Biomembr.* **2007**, *1768*, 2764.
148. Han, M.; He, C. X.; Fang, Q. L.; Yang, X. C.; Diao, Y. Y.; Xu, D. H.; He, Q. J.; Hu, Y. Z.; Liang, W. Q.; Yang, B.; Gao, J. Q.; *Pharm. Res.* **2009**, *26*, 926.
149. Kuminek, G.; Kratz, J. M.; Ribeiro, R.; Kelmann, R. G.; de Araujo, B. V.; Teixeira, H. F.; Simoes, C. M. O.; Koester, L. S.; *Int. J. Pharm.* **2009**, *378*, 146.
150. Madhusudhan, B.; Rambhau, D.; Apte, S. S.; Gopinath, D.; *J. Drug Targeting* **2007**, *15*, 154.

151. Kim, S. J.; Choi, H. K.; Suh, S. P.; Lee, Y. B.; *Eur. J. Pharm. Sci.* **2002**, *15*, 497.
152. Lovell, M. W.; Johnson, H. W.; Gupta, P. K.; *Int. J. Pharm.* **1995**, *118*, 47.
153. Jumaa, M.; Muller, B. W.; *Pharmazie* **2002**, *57*, 740.
154. Formiga, F. R.; Fonseca, I. A.; Souza, K. B.; Silva, A. K.; Macedo, J. P.; Araujo, I. B.; Soares, L. A.; Egito, E. S.; *Int. J. Pharm.* **2007**, *344*, 158.
155. Levy, M. Y.; Polacheck, I.; Barenholz, Y.; Benita, S.; *Pharm. Res.* **1995**, *12*, 223.
156. Dias, M. L.; Carvalho, J. P.; Rodrigues, D. G.; Graziani, S. R.; Maranhao, R. C.; *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2007**, *59*, 105.
157. Desai, A.; Vyas, T.; Amiji, M.; *J. Pharm. Sci.* **2008**, *97*, 2745.
158. Lundberg, B. B.; Risovic, V.; Ramaswamy, M.; Wasan, K. M.; *J. Controlled Release* **2003**, *86*, 93.
159. Pires, L. A.; Hegg, R.; Valduga, C. J.; Graziani, S. R.; Rodrigues, D. G.; Maranhao, R. C.; *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2009**, *63*, 281.