

Sandra Sofia Amaral Pinto

Nanopartículas lipídicas na promoção da absorção oral de fármacos

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, Outubro de 2013

Sandra Sofia Amaral Pinto

Nanopartículas lipídicas na promoção da absorção oral de fármacos

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, Outubro de 2013

Sandra Sofia Amaral Pinto

Nanopartículas lipídicas na promoção da absorção oral de fármacos

Monografia apresentada à Universidade
Fernanda Pessoa como parte dos
requisitos para obtenção do grau de
mestre em Ciências Farmacêuticas.

(Sandra Sofia Amaral Pinto)

Porto, Outubro de 2013

Resumo

É do conhecimento geral que a via oral é a preferida pelos doentes, conduzindo a uma maior adesão à terapêutica. No entanto, o recurso a esta via de administração apresenta limitações, relacionadas com as condições adversas do trato gastrointestinal (TGI) e com a baixa solubilidade aquosa de algumas moléculas, o que se pode traduzir na ineficácia dos tratamentos. Neste sentido, têm sido estudadas novas estratégias para promover a administração oral de fármacos, designadamente, o recurso a novos sistemas coloidais de transporte, como as nanopartículas lipídicas. Estas têm demonstrado resultados promissores, uma vez que os lípidos promovem a absorção oral dos fármacos, dado que sofrem os mesmos mecanismos fisiológicos de digestão dos lípidos provenientes dos alimentos. Adicionalmente, a encapsulação das moléculas em nanopartículas permite proteger as mesmas das condições adversas do TGI.

Este trabalho tem como objetivo a revisão bibliográfica relativa ao estado da arte do uso de nanopartículas lipídicas para a administração oral de fármacos, bem como a análise do sucesso dos resultados obtidos até agora e as perspetivas futuras.

Abstract

It is well-known that the oral route is the most preferred by patients, leading to a high compliance during therapies. However, the use of this route of administration has limitations, related to the adverse conditions of the gastrointestinal tract (GIT) and the poor aqueous solubility of some molecules, which can originate an inefficacy of the treatments. Therefore, new strategies have been studied in order to improve oral administration of drugs, namely, the use of new colloidal systems of transport, such as lipid nanoparticles. These have shown promising results, since the lipids promote oral drug absorption, because they undergone the same physiological mechanisms of food lipids digestion. Additionally, the encapsulation of molecules in nanoparticles allows for protect them from the adverse conditions of the GIT.

The aim of this work is to perform a bibliographic review regarding the state of the art of using lipid nanoparticles for oral drug delivery. The analysis of the success of the results obtained so far and the future prospects are also addressed.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer a todas as pessoas que ao longo do meu Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, me ajudaram, direta ou indiretamente, a cumprir todos meus objetivos e a realizar mais esta etapa acadêmica.

À professora Dr^a Ana Catarina Silva, pela orientação deste trabalho, pela paciência, compreensão e por toda ajuda.

À Cátia Pessoa e Sandra Almeida, obrigada pela amizade e compreensão.

À minha mãe, ao meu pai, ao meu irmão, ao meu marido que são os meus alicerces, que me deram as condições para que eu seguisse em frente. Obrigada por serem o meu mundo.

Índice

1. Introdução.....	1
2. Sistema digestivo.....	3
2.1 Anatomofisiologia do trato gastrointestinal.....	3
2.2 Digestão e absorção de gorduras.....	6
3. Administração oral de fármacos.....	8
4. Promoção da absorção oral de fármacos.....	8
4.1 Estratégias para a promoção da absorção oral de fármacos.....	8
4.2 Uso de lípidos na promoção da absorção oral de fármacos.....	9
5. Sistemas coloidais usados na administração oral de fármacos.....	10
6. Nanopartículas lipídicas.....	11
6.1 Composição e características estruturais.....	13
6.1.1 Nanopartículas de lípidos sólidos.....	14
6.1.2 Vetores lipídicos nanoestruturados.....	15
6.2 Métodos de produção.....	17
6.2.1 Homogeneização por alta pressão.....	17
6.2.2 Microemulsão.....	18
6.2.3 Evaporação do solvente.....	19
6.2.4 Substituição do solvente.....	19
6.2.5 Difusão do solvente.....	20
6.2.6 Inversão de fases.....	20
6.2.7 Fluidos supercríticos.....	21
6.2.8 Extrusão por membrana.....	21
6.2.9 Ultrassons.....	22
7. Encapsulação de fármacos em nanopartículas lipídicas.....	22
8. Conclusões e perspectivas futuras.....	24
9. Bibliografia.....	25

Índice de figuras

Figura 1 - Anatomia do sistema digestivo	3
Figura 2 - Emulsificação das gorduras efetuada pelos sais biliares e fosfolípidos.....	7
Figura 3 - Estrutura cristalina da matriz lipídica	13
Figura 4 - Modelos teóricos para a estrutura e incorporação do fármaco nas nanopartículas de lípidos sólidos.....	14
Figura 5 - Modelos teóricos para a estrutura e incorporação do fármaco nos vetores lipídicos nanoestruturados	16

Índice de tabelas

Tabela 1 - Exemplos de lípidos utilizados na preparação de nanopartículas lipídicas...	12
Tabela 2 - Exemplos de fármacos encapsulados em nanopartículas lipídicas para administração oral.....	23

1. Introdução

O trato gastrointestinal (TGI) é constituído por um grupo de órgãos, com diferentes funções, designadamente: cavidade bucal, faringe, esófago, estômago, intestino delgado e intestino grosso. A cavidade bucal é o local onde ocorre a mastigação, enquanto a faringe e o esófago servem de caminho para o estômago. Aqui, os alimentos são quebrados em frações moleculares (quimo), através da ação combinada de processos mecânicos e químicos. O intestino delgado, constituído pelo duodeno, jejuno e íleo, é o local onde ocorre a maior parte da absorção, com a passagem de substâncias em primeiro lugar para a circulação linfática e, posteriormente, para o sangue. O intestino grosso armazena temporariamente as substâncias não digeridas, eliminando-as por meio da defecação (Silva, et al., 2012).

Apesar de não pertencerem ao TGI, as glândulas exócrinas, o pâncreas e o fígado têm um contributo fundamental no processo de absorção intestinal. As principais funções do pâncreas são secreção de enzimas digestivas, que ajudam a digerir os componentes alimentares, e de iões bicarbonato, para neutralizar o ácido do estômago. O fígado tem a função de produzir a bÍlis, posteriormente armazenada na vesícula biliar. Os sais biliares e fosfolípidos atuam como agentes tensioativos para emulsionar os lípidos a partir de alimentos, aumentando a sua absorção. Tal como referido anteriormente, a absorção de substâncias ocorre principalmente no intestino delgado, ao nível do duodeno e jejuno. No entanto, pode também ter lugar em outros locais do TGI, tais como o estômago, que é capaz de absorver pequenas quantidades de substâncias não ionizadas e alguns locais da mucosa da cavidade bucal (Silva, et al., 2012).

Ao longo dos anos, têm sido alcançados vários avanços científicos e tecnológicos importantes, relativos ao desenvolvimento de novos sistemas de libertação de fármacos. No entanto, a contínua descoberta de novas moléculas de terapêuticas, requerem uma atualização e desenvolvimento contantes de novas estratégias para a sua veiculação. Para o efeito é importante ter sempre em mente dois aspetos: (i) a melhor estratégia para conduzir o fármaco ao local-alvo da ação; (ii) a escolha da via de administração mais adequada a cada doente. Neste contexto, a via oral continua a ser a forma de administração de fármacos preferida, devido ao seu fácil acesso, ao facto de não ser dolorosa e aos seus baixos custos de produção (Silva, et al., 2012).

Os nanomateriais são compostos chave no futuro da alta tecnologia, embora ainda não tenham revolucionado inteiramente o nosso dia-a-dia. Sendo assim, a

nanotecnologia consiste no estudo dos fenômenos e manipulação dos materiais ao nível: atômico, molecular e macromolecular; do *design* e caracterização; da produção e aplicação de estruturas, dispositivos e sistemas, controlando a sua morfologia e tamanho nanométrico (Balbus, et al., 2006; Santamaria, 2012). A nanotecnologia é compreendida como uma ciência interdisciplinar, pois envolve diversas áreas de conhecimento, nomeadamente, física, química, engenharia e biologia (Sozer & Kokini, 2012).

As primeiras ideias referentes à nanotecnologia surgiram em 1959, através de Richard Feynman, que nesta altura adivinhava ser possível manipular a matéria à escala molecular e atômica, num futuro próximo (Feynman, 1959). Desde então, intensificaram-se os estudos na área da nanotecnologia, sendo que esta tem, atualmente, aplicação em diversos setores industriais, tal como a indústria alimentar, cosmética, farmacêutica e têxtil (Sozer & Kokini, 2012).

Nos últimos anos, a indústria farmacêutica tem dado especial importância à nanotecnologia, no sentido de desenvolver terapêuticas mais eficazes, possibilitando o controlo da libertação e distribuição dos fármacos nos locais-alvo da ação terapêutica, reduzindo assim os efeitos secundários. Deste modo, a nanotecnologia tem contribuído para o desenvolvimento de sistemas coloidais de veiculação de fármacos, que se apresentam como uma alternativa promissora para a terapêutica direcionada, aumentando a sua biodisponibilidade e, conseqüentemente, a eficácia (Sahoo, et al., 2007). Entre os diferentes sistemas nanotecnológicos que têm sido desenvolvidos destacam-se os com base em material lipídico (por exemplo, as nanopartículas lipídicas) que se têm apresentado como promissores, uma vez que podem ser adaptados a diversas vias de administração e podem veicular vários compostos, como, proteínas, fármacos, agentes de imagiologia e material genético (Moghimi & Hunter, 2005). Por outro lado, o uso de sistemas à base de nanopartículas lipídicas tem vindo a ser descrito como uma alternativa promissora para melhorar a administração oral de fármacos pouco solúveis em água (Silva, et al., 2012).

Este trabalho tem como objetivo efetuar uma revisão bibliográfica relativa ao estado da arte do uso de nanopartículas lipídicas para a administração oral de fármacos, bem como a análise do sucesso dos resultados obtidos até agora e as perspetivas futuras.

2. Sistema digestivo

2.1 Anatomofisiologia do trato gastrointestinal

O sistema digestivo é o sistema responsável por obter, a partir dos alimentos, os nutrientes necessários às diversas funções do organismo. É constituído por diversos órgãos, que têm a função de realizar o processo da digestão. Num adulto saudável, a sua extensão é de cerca de 5 metros, que vão desde a boca até ao ânus. Inclui as vias gastrintestinais (boca, faringe, esófago, estômago, intestino delgado e intestino grosso), que se dividem em superiores e inferiores, e os órgãos acessórios (glândulas salivares, fígado, vesícula biliar e pâncreas) (Fig. 1) (Silva, et al., 2012; Widmaier, et al., 2006).

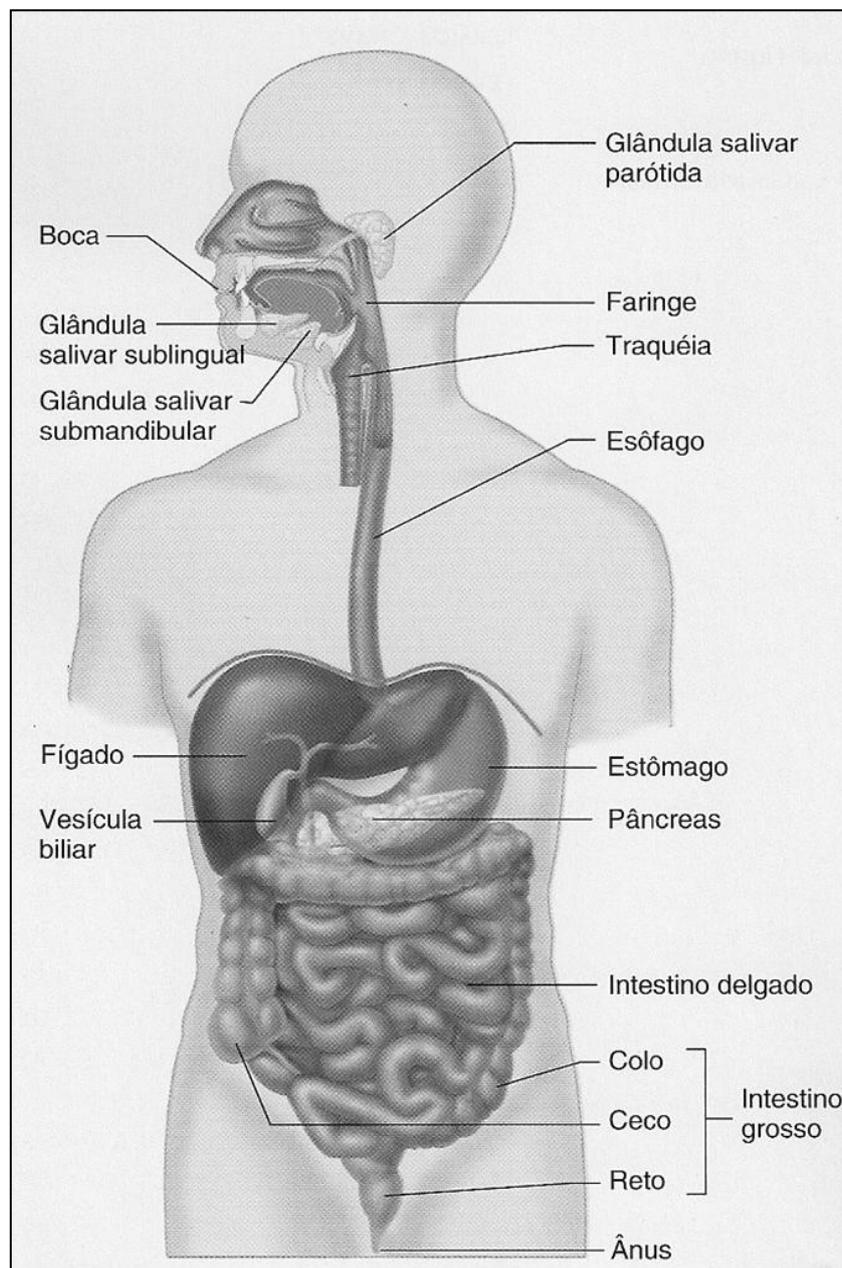


Figura 1 - Anatomia do sistema digestivo, adaptado de (Widmaier, et al., 2006)

As vias gastrintestinais superiores são compostas pela boca, faringe, esôfago e estômago. O processo de digestão é iniciado na boca, com a mastigação, que quebra os grandes pedaços de alimento em partículas menores, para que possam ser deglutidas mais facilmente. A saliva, secretada por três pares de glândulas salivares, as parótidas, as sublinguais e as submandibulares (Fig. 1), é drenada para a boca por diversos ductos de curta extensão. Esta contém muco, que humedece e lubrifica as partículas de alimento antes da deglutição. Além disso, contém a enzima amílase, que digere parcialmente os polissacarídeos. A saliva tem ainda a função de dissolver parte das moléculas dos alimentos, para que estas moléculas possam reagir com os recetores da boca e dar origem à sensação do paladar. Adicionalmente, a saliva tem também propriedades antibacterianas (Silva, et al., 2012; Widmaier, et al., 2006).

A faringe e o esôfago não colaboram na digestão, mas constituem o caminho através do qual o bolo alimentar (produto resultante do processo de mastigação) chega ao estômago (Silva, et al., 2012; Widmaier, et al., 2006).

O estômago é um órgão que se situa entre o esôfago e o intestino delgado. As suas funções passam por armazenar, dissolver e digerir parcialmente as macromoléculas dos alimentos e regular o esvaziamento do seu conteúdo no intestino delgado. As glândulas que revestem as paredes do estômago secretam ácido clorídrico e diversas enzimas digestivas, as pepsinas (Widmaier, et al., 2006).

A principal função do ácido clorídrico é dissolver as partículas provenientes dos alimentos. As proteínas e polissacarídeos libertados pela ação dissolvente do ácido clorídrico são parcialmente digeridos no estômago pela pepsina e pela amílase. As gorduras, que constituem um dos principais constituintes dos alimentos, não são dissolvidas por este ácido (Widmaier, et al., 2006).

O ácido clorídrico elimina também a maioria das bactérias que entram juntamente com os alimentos. No entanto, este processo não é totalmente efetivo, uma vez que algumas bactérias resistem, multiplicam-se e colonizam as vias gastrintestinais, principalmente ao nível do intestino grosso. As ações digestivas do estômago reduzem as partículas alimentares a uma solução conhecida como quimo, composta por fragmentos moleculares de proteínas e polissacarídeos, gotículas de gordura, sal e água e outras pequenas partículas presentes nos alimentos. De todas estas moléculas, apenas a água pode atravessar o epitélio da parede gástrica e, portanto, ocorre pouca absorção de nutrientes ao nível do estômago (Widmaier, et al., 2006).

As vias gastrintestinais inferiores são constituídas pelo intestino delgado e pelo intestino grosso. Grande parte da absorção das substâncias e as fases finais do processo da digestão têm lugar no intestino delgado, que é formado por um tubo com cerca de 3,8 cm de diâmetro e 2,8 metros de comprimento, que tem início no estômago e termina no intestino grosso. Aqui, os hidratos de carbono, as gorduras e as proteínas intactas ou parcialmente digeridas são degradadas em, respetivamente, monossacarídeos, ácidos gordos e aminoácidos, pela ação de enzimas hidrolíticas. Algumas destas enzimas são secretadas a partir do pâncreas para o intestino, enquanto outras estão localizadas na superfície luminal das células do epitélio intestinal. A absorção dos produtos da digestão ocorre através das células epiteliais, que entram posteriormente na corrente sanguínea e/ou linfática. No intestino delgado também são absorvidos componentes que não necessitam de digestão, como as vitaminas, os sais minerais e a água (Widmaier, et al., 2006).

O intestino delgado divide-se em três partes (Silva, et al., 2012; Widmaier, et al., 2006): (i) duodeno, que constitui o segmento inicial e curto; (ii) jejuno, que forma o segmento central; (iii) íleo, que constitui o segmento final e mais longo. Geralmente, grande parte do quimo proveniente do estômago é digerida e absorvida no primeiro quarto do intestino delgado, ou seja, no duodeno e jejuno. O pâncreas e o fígado constituem as duas glândulas principais que secretam substâncias para o duodeno. O pâncreas é uma glândula longa, que se situa atrás do estômago e tem funções endócrinas e exócrinas, mas apenas as exócrinas estão envolvidas na função gastrintestinal. Esta porção é a responsável por secretar enzimas digestivas e um líquido rico em iões de bicarbonato, que neutraliza a acidez do quimo proveniente do estômago, de modo a que as enzimas pancreáticas no intestino delgado não sejam inativadas. O fígado é um órgão grande, situado no quadrante superior direito do abdómen, que tem inúmeras funções. Para o processo de digestão apenas interessam as funções exócrinas, diretamente ligadas à secreção da bÍlis. Esta contém iões de bicarbonato, colesterol, fosfolípidos, pigmentos, diversos restos orgânicos e um grupo de substâncias designadas por sais biliares. Os iões de bicarbonato têm a mesma função dos iões do pâncreas e os sais biliares, por sua vez, solubilizam a gordura ingerida nos alimentos. A bÍlis é secretada pelo fígado entre as refeições e é armazenada na vesícula biliar (bolsa pequena situada sob o fígado, com origem numa ramificação do ducto hepático comum). Esta concentra as moléculas orgânicas na bÍlis por absorver sais e água. Durante a refeição, os músculos lisos da parede da vesícula biliar contraem-se, fazendo assim uma injeção de bÍlis no duodeno,

através do ducto biliar comum (extensão do ducto hepático comum) (Silva, et al., 2012; Widmaier, et al., 2006).

Os aminoácidos e os monossacarídeos são absorvidos no intestino delgado por processos específicos mediados por transportadores das membranas plasmáticas das células epiteliais intestinais. Por outro lado, os ácidos gordos entram nestas células por difusão. A água difunde-se passivamente a favor dos gradientes osmóticos e a maior parte dos iões é absorvida pelos transportadores (Widmaier, et al., 2006).

A motilidade das paredes do intestino delgado permite misturar o conteúdo luminal com as diversas secreções, colocando o conteúdo em contacto com a superfície epitelial, onde há absorção e, paralelamente, avança lentamente o conteúdo luminal para o intestino grosso. Ao intestino grosso chega apenas um pequeno volume de água, sais e material não digerido, uma vez que a maioria das substâncias é absorvida anteriormente no intestino delgado. No intestino grosso, o material não digerido é temporariamente armazenado, sendo uma parte metabolizada por bactérias e outra concentrada devido à absorção de sais e água. É também nesta zona que ocorre o processo de defecação, por decorrente das contrações do reto (segmento final do intestino grosso) e relaxamento dos músculos esfinterianos associados (Silva, et al., 2012; Widmaier, et al., 2006).

O sistema nervoso tem um papel central no controlo das funções gastrintestinais, recebendo informação das vias gastrintestinais (aférente) e exercendo uma influência vital na função gastrintestinal (eferente) (Widmaier, et al., 2006).

2.2 Digestão e absorção de gorduras

A digestão das gorduras ocorre maioritariamente no intestino delgado, necessitando de mecanismos que solubilizem a gordura e os seus produtos de digestão. Os grandes glóbulos de gordura provenientes do estômago são emulsificados no intestino delgado pelos sais biliares e fosfolípidos secretados pelo fígado (Fig. 2) (Widmaier, et al., 2006).

Por outro lado, as lípases pancreáticas digerem a gordura, formando ácidos gordos e monoglicerídeos. Estes produtos insolúveis em água são combinados com sais biliares, formando micelas que são posteriormente absorvidas pelas células do epitélio intestinal (Widmaier, et al., 2006).

Os ácidos gordos livres e os monoglicerídeos difundem-se através das membranas luminiais das células epiteliais, onde são enzimaticamente recombinados

para formar triglicerídeos, sendo libertados das células por exocitose, sob a forma de quilomicrons. Estes passam, por meio do sistema linfático e do ducto torácico, para o sangue venoso que retorna ao coração (Widmaier, et al., 2006).

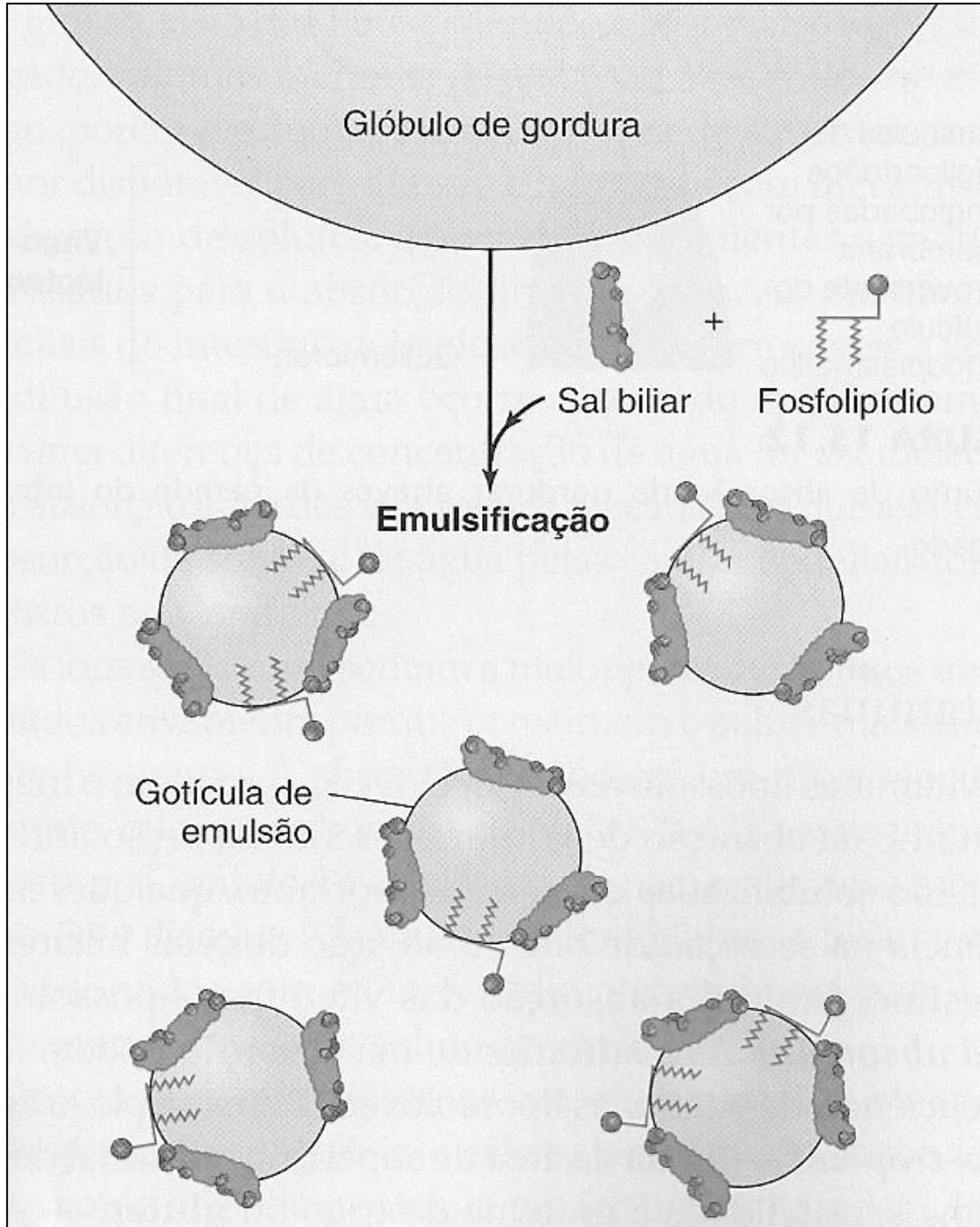


Figura 2 - Emulsificação das gorduras efetuada pelos sais biliares e fosfolípidos, adaptado de (Widmaier, et al., 2006)

3. Administração oral de fármacos

A via oral é uma das formas mais antigas e comuns de administração de fármacos. Esta continua a ser a via de eleição, pois é fácil de administrar, cómoda, segura, pouco invasiva e pouco dolorosa. Para além disso, permite ainda a possibilidade de autoadministração dos fármacos, sendo a sua produção de baixo custo (Silva, et al., 2012).

Os fármacos administrados pela via oral podem apresentar biodisponibilidade variada, o que pode estar relacionado com a baixa solubilidade, a ausência de estabilidade e com uma permeabilidade no TGI (Galindo-Rodríguez, et al., 2005). Assim, apesar das vantagens apresentadas para a via oral, esta forma de administração de fármacos também apresenta algumas desvantagens, que podem condicionar o êxito da terapêutica, tais como (Brannon-Peppas & Blanchette, 2004; Brigger, et al., 2002; Sonvico, et al., 2006): a dificuldade em atravessar a superfície das mucosas e/ou membranas biológicas, o risco de sofrer hidrólise enzimática, a degradação dos compostos devido ao pH ácido do estômago e a necessidade de administração frequente.

4. Promoção da absorção oral de fármacos

4.1 Estratégias para a promoção da absorção oral de fármacos

De modo a garantir que a atividade farmacológica seja direcionada ao local alvo e a minimizar os efeitos adversos, têm sido criadas estratégias para melhorar a administração oral dos fármacos. Estas baseiam-se na criação de novos sistemas de veiculação de fármacos, nomeadamente os coloidais. Estes sistemas têm contribuído para proteger as moléculas de fármaco da degradação enzimática no TGI, promovendo a adesão à mucosa oral e limitando a biodistribuição do fármaco ao seu local de ação. O principal parâmetro a considerar para o desenvolvimento dos sistemas coloidais é a sua composição, devendo esta ser aceitável para o uso em terapêutica humana, o que se traduz numa baixa ou total ausência de toxicidade e na existência de biocompatibilidade fisiológica (Vauthier & Couvreur, 2007). Com efeito, entre sistemas coloidais destacam-se as nanopartículas poliméricas, os lipossomas, as nanoemulsões e as nanopartículas lipídicas (Venuganti & Perumal, 2009). Entre estes, os sistemas lipídicos parecem ser os mais promissores (Silva, et al., 2012).

4.2 Uso de lípidos na promoção da absorção oral de fármacos

Os lípidos, como por exemplo, os triglicerídios e os fosfolípidos, têm sido alvo de interesse no meio científico devido à sua capacidade única de atingir estruturas biológicas, incluindo a passagem pela barreira hematoencefálica e a sua particular afinidade para o sistema linfático (Charman, 2000; Humberstone & Charman, 1997; O'Driscoll, 2002; Porter & Charman, 1997).

O transporte linfático intestinal tem sido apresentado como uma alternativa para os fármacos muito lipofílicos atingirem a circulação sistêmica, evitando o efeito de primeira passagem que ocorre ao nível do fígado. Porém, os problemas de biodisponibilidade dos fármacos moderadamente lipofílicos mantêm-se, pois estes habitualmente atingem a circulação sanguínea através da veia porta hepática. Deste modo, a administração de fármacos através de sistemas lipídicos constitui uma boa alternativa, uma vez que, além de melhorarem o transporte linfático das moléculas, os lípidos apresentam propriedades únicas que os tornam excipientes de primeira escolha em formulações farmacêuticas, tais como: biocompatibilidade, melhoria da absorção de moléculas lipofílicas no TGI e grande diversidade de estruturas químicas. No entanto, para o sucesso do desenvolvimento das formulações à base de lípidos, é fundamental o conhecimento do seu papel na administração oral de fármacos (Silva, et al., 2012).

Num adulto saudável, o TGI é capaz de hidrolisar cerca de 100-140 g de lípidos dietéticos diariamente. A digestão dos lípidos tem início no estômago, com a hidrólise enzimática (lipases) dos triglicerídeos, ácidos gordos e monoglicerídeos, formando-se uma emulsão. Seguidamente, o conteúdo gástrico (a emulsão e as frações sólidas restantes) passa para o duodeno, onde a presença de lípidos estimula tanto a produção de enzimas (lípase/co-lípase) pelo pâncreas, como a produção de sais biliares (fosfolípidos e colesterol) pela vesícula biliar. Os sais biliares aderem à superfície das gotículas da emulsão, promovendo a ação da lípase/co-lípase, hidrolisando os lípidos e originando ácidos gordos livres e micelas. Estas espécies coloidais são posteriormente absorvidas pelos enterócitos, por mecanismos de difusão passiva, transporte ativo ou difusão facilitada, e reconvertidas em lípidos livres, por meio de diferentes processos, de acordo com o comprimento da cadeia lipídica. Os lípidos de cadeia pequena e média cruzam os enterócitos por difusão e entram diretamente na circulação sistêmica; os de cadeia longa passam primeiro para o retículo endoplasmático, onde são novamente

esterificados em triglicerídeos e associados a lipoproteínas. Seguidamente, passam para a circulação linfática e, por fim, entram na circulação sistémica (Silva, et al., 2012).

Nesta perspetiva, o uso de sistemas baseados em lípidos para melhorar a biodisponibilidade oral dos fármacos pouco solúveis em água surgem como uma boa alternativa, apoiada pelos mecanismos fisiológicos para o processamento dos lípidos dos alimentos (Silva, et al., 2012).

No intestino, quando o fármaco é libertado da formulação, pode ser estabilizado e/ou solubilizado pela absorção em micelas, o que favorece ainda mais a passagem através da circulação linfática. No entanto, o transporte linfático intestinal necessita de mais tempo para alcançar a circulação sistémica, o que significa que um efeito de libertação sustentada do fármaco pode ser obtido (Silva, et al., 2012).

Os sistemas que aumentam a biodisponibilidade oral de fármacos, promovendo a sua distribuição linfática, são baseados em lípidos derivados dos alimentos, que podem ser aplicados em formas líquidas ou sólidas. As primeiras são soluções clássicas, suspensões e emulsões de óleo em água (O/A) ou sistemas auto-emulsionados de distribuição de fármacos. Estes são constituídos por misturas de óleos, agentes tensioativos e co-solventes, que formam espontaneamente emulsões com os fármacos quando entram em contacto com os fluidos do TGI. As formas podem ser pós, granulados ou pastilhas, que se podem acondicionar em cápsulas, saquetas ou compactar em comprimidos. Assim, tendo em conta as vantagens da utilização de formulações à base de lípidos, os lipossomas, as nanoemulsões e as nanopartículas lipídicas parecem ser os sistemas mais promissores (Silva, et al., 2012).

5. Sistemas coloidais usados na administração oral de fármacos

A nanotecnologia tem como campo de aplicação as estruturas coloidais, com dimensões que variam entre 0,1 e 1000 nm, vulgarmente conhecidas por nanopartículas. Estas podem ser preparadas por diferentes métodos e com diferentes materiais, tais como polímeros, macromoléculas e lípidos (Silva, et al., 2011). Como exemplos de sistemas coloidais de tamanhos nanométricos, existem os lipossomas, as nanopartículas poliméricas (nanocápsulas e nanoesferas) e as nanoemulsões e, mais recentemente, as nanopartículas lipídicas, que surgiram com o objetivo de criar um sistema transportador de fármacos que permitisse reunir as vantagens e superar as desvantagens dos anteriores (Patidar, et al., 2010).

Os lipossomas são sistemas de transporte de fármacos que apresentam como principal vantagem a sua elevada biocompatibilidade e baixa toxicidade. No entanto, demonstram também alguma instabilidade sob condições fisiológicas no TGI, o que pode levar a uma rápida libertação do fármaco e prejudicar a terapêutica. Além disso, tem também problemas relacionados com a sua esterilização, produção em grande escala e estabilidade ao longo do tempo (Almeida & Souto, 2007; Silva, et al., 2012). Em contraste, as nanoemulsões são fáceis de produzir à escala industrial, mantêm uma elevada biocompatibilidade e permitem uma eficiente encapsulação dos fármacos. Contudo, também apresentam desvantagens, nomeadamente no que diz respeito à ocorrência de uma libertação imediata do fármaco e à necessidade de utilizar elevadas concentrações de agentes tensioativos e co-tensioativos (Silva, et al., 2012). As nanopartículas poliméricas permitem efetuar o direcionamento dos fármacos para o local alvo da ação e também a sua libertação controlada. Porém, estes sistemas não se produzem facilmente à escala industrial e podem apresentar citotoxicidade, uma vez que a sua produção requer a utilização de solventes orgânicos (Patidar, et al., 2010). Deste modo, foram desenvolvidas as nanopartículas lipídicas como sendo sistemas transportadores alternativos e muito atrativos, uma vez que a sua matriz lipídica sólida à temperatura ambiente e corporal, possibilita a proteção e o controlo da libertação do fármaco (Patidar, et al., 2010; Silva, et al., 2011).

6. Nanopartículas lipídicas

As nanopartículas lipídicas são constituídas por lípidos sólidos à temperatura ambiente, também conhecidos por lípidos simples, resultantes da esterificação do glicerol com ácidos gordos de cadeia curta, média ou longa (Nelson & Cox, 2004). Uma vez que estes lípidos são semelhantes aos fisiológicos, prevê-se uma boa tolerância por parte do organismo. Os excipientes utilizados na preparação destes sistemas são considerados substâncias GRAS (*Generally Recognised As Safe*), o que confere lhes uma elevada biocompatibilidade e biodegradabilidade e um baixo risco de toxicidade crónica e aguda (Chattopadhyay, et al., 2007; Rai, et al., 2008). O uso destes sistemas apresenta ainda outras vantagens, tais como (Chattopadhyay, et al., 2007; Mehnert & Mader, 2001; Rai, et al., 2008; Silva, et al., 2011):

- Elevada estabilidade físico-química;
- Facilidade de transposição dos métodos de produção laboratorial para a escala industrial;
- Possibilidade de direcionar o fármaco encapsulado para os locais alvo da ação;
- Custo de produção reduzido;
- Ausência de necessidade de usar solventes orgânicos na sua produção
- Possibilidade de efetuar a libertação controlada dos fármacos encapsulados;
- Proteção química dos fármacos encapsulados.

A Tabela 1 apresenta alguns exemplos de lípidos e dos seus respetivos pontos de fusão, usados na preparação de nanopartículas lipídicas.

Tabela 1 - Exemplos de lípidos utilizados na preparação de nanopartículas lipídicas.

Lípidos	Ponto de fusão	Referências
Triglicerídeos		
Trimiristina (Dynasan® 114)	55-58°C	(Olbrich, et al., 2002; Venkateswarlu & Manjunath, 2004)
Witepsol® 85E	42-44°C	(Sarmiento, et al., 2011)
Ácidos gordos		
Ácido esteárico	67-72°C	(Muchow, et al., 2011; Yuan, et al., 2007)
Misturas de mono, di e triglicerídeos		
Monoestearato de glicerilo (Imwitor® 900)	54-64°C	(Abdelbary & Fahmy, 2009; Silva, et al., 2012)
Palmito estearato de glicerilo (Precirol® ATO 5)	50-60°C	(Chen, et al., 2010; Date, et al., 2011; Sarmiento, et al., 2011)
Ceras		
Palmitato de cetilo	54°C	(Kumar, et al., 2007; Sarmiento, et al., 2007)

Foi em 1991 que surgiu a primeira geração de nanopartículas de lípidos sólidos (*Solid Lipid Nanoparticles, SLN*). Estes sistemas foram desenvolvidos em paralelo por dois grupos de investigação, que utilizaram métodos diferentes para a sua produção, a homogeneização por alta pressão (*High Pressure Homogenization, HPH*) e microemulsão (Silva, et al., 2012).

Contudo, tal como acontece com os sistemas coloidais tradicionais, também as SLN apresentam limitações. Estas partículas podem formar uma estrutura cristalina (Fig. 3a) mais ou menos perfeita, que se pode traduzir numa capacidade insuficiente para encapsular o fármaco no seio da matriz lipídica sólida. Deste modo, durante o armazenamento, pode ocorrer expulsão do fármaco a partir do interior da nanopartícula, devido à ocorrência de transições polimórficas dos lípidos, de configurações instáveis para configurações mais estáveis. Por outro lado, as SLN apresentam uma elevada quantidade de água na sua constituição (70-95%), o que as torna suscetíveis à contaminação microbiana (Müller, et al., 2002; Silva, et al., 2011; Singhal, et al., 2011).

No sentido de minimizar as limitações das SLN, foi desenvolvida a segunda geração de nanopartículas lipídicas, os vetores lipídicos nanoestruturados (*Nanostructured Lipid Carriers, NLC*). Estes sistemas são compostos por uma matriz lipídica que apresenta inúmeras imperfeições (Fig. 3b), possibilitando assim a acomodação de uma maior quantidade de fármaco, comparativamente às SLN. Os NLC apresentam ainda um menor risco de expulsão do fármaco do interior das nanopartículas durante o período de armazenamento (Hommos, 2008).

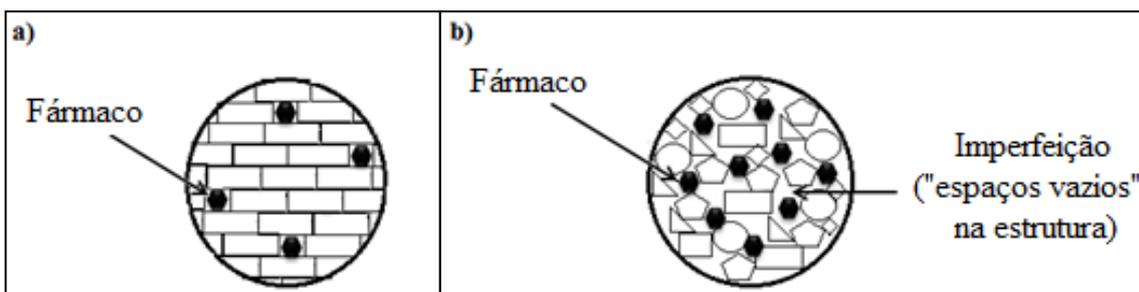


Figura 3 - Estrutura cristalina da matriz lipídica: a) formação de uma estrutura "quase perfeita" nas SLN; b) matriz cristalina com várias imperfeições nos NLC, adaptado de (Müller, et al., 2007)

6.1 Composição e características estruturais

As nanopartículas lipídicas (as SLN e os NLC) apresentam uma matriz lipídica sólida à temperatura corporal e ambiente, apresentando tamanhos que variam entre 50 e 100 nm (Müller, et al., 2000; Müller, et al., 2007).

Os sistemas de nanopartículas lipídicas constituem dispersões aquosas, que têm na sua constituição lípido(s), agente(s) tensioativo(s) e água. A fase lipídica das SLN é formada apenas por lípidos sólidos, enquanto a dos NLC é formada por uma mistura de lípidos sólidos com lípidos líquidos (Mehnert & Mader, 2001). A função dos agentes tensioativos nesta formulação é a de estabilizar as nanopartículas lipídicas sólidas. A seleção dos agentes tensioativos deve ser cuidadosa, para permitir preparar nanopartículas adequadas ao fármaco a veicular e à via de administração que se pretende, podendo sua concentração variar entre 0,5 e 5%, de acordo com a quantidade de fase lipídica (Mehnert & Mader, 2001; Schafer-Korting, et al., 2007; Shidhaye, et al., 2008).

6.1.1 Nanopartículas de lípidos sólidos

As SLN são constituídas por um núcleo sólido, revestido por uma camada de moléculas de agente tensioativo. Estes sistemas têm como base o conceito das nanoemulsões O/A às quais se substitui o lípido líquido (óleo) por um lípido sólido. A matriz resultante da preparação das SLN tende a formar uma estrutura cristalina relativamente perfeita, que acomoda moléculas de fármaco no seu seio (Müller, et al., 2007; Silva, et al., 2011).

A incorporação dos fármacos e a estrutura das SLN pode ser descrita por três modelos teóricos distintos, que diferem entre si na localização e na distribuição das moléculas de fármaco na matriz lipídica sólida da nanopartícula (Fig. 4) (Muchow, et al., 2011).

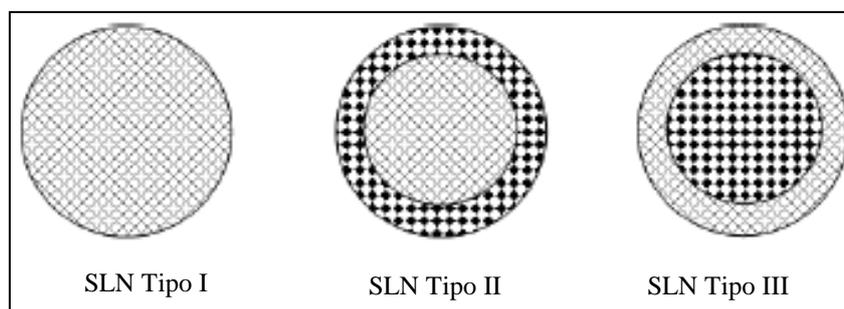


Figura 4 - Modelos teóricos para a estrutura e incorporação do fármaco nas nanopartículas de lípidos sólidos, adaptado de (Souto, et al., 2007)

As SLN tipo I baseiam-se num modelo de matriz homogênea, onde o fármaco se encontra molecularmente disperso no núcleo lipídico da nanopartícula ou disperso na forma de aglomerados amorfos (Silva, et al., 2011). Este modelo é obtido utilizando a

preparação por HPH a quente ou a frio. As SLN tipo I constituem sistemas de libertação controlada de fármacos encapsulados (Silva, et al., 2011).

As SLN tipo II constituem o modelo de parede de fármaco, que é característico das nanopartículas que possuem uma parede externa rica em fármaco que cobre um núcleo lipídico. Este tipo de SLN é obtido quando se aplica a técnica de HPH a quente e a concentração do fármaco usado é baixa. Não é um modelo apropriado para efetuar a libertação controlada dos fármacos encapsulados, podendo ser utilizado para obter a sua libertação rápida. Não é um modelo apropriado para ocorrer a libertação controlada da substância ativa, embora possa ser utilizado para obter uma libertação rápida da mesma (Silva, et al., 2011).

O modelo das SLN tipo III é também designado por modelo de núcleo de fármaco e surge quando a concentração de fármacos está relativamente próxima da solubilidade de saturação do lípido, ou quando uma nanoemulsão é submetida à refrigeração, levando a uma diminuição da solubilidade de saturação. Neste caso, o fármaco precipita e é coberto por uma camada de lípido que forma uma proteção. A formação deste modelo ocorre num mecanismo contrário ao descrito nas SLN tipo II (Silva, et al., 2011).

Os três modelos referidos anteriormente são modelos teóricos e ideais. Podem também existir modelos mistos, que são considerados como o quarto modelo (Silva, et al., 2011).

6.1.2 Vetores lipídicos nanoestruturados

Os NLC são constituídos por um núcleo lipídico sólido, coberto por um agente tensioativo. Para a preparação dos NLC são misturadas moléculas estruturalmente diferentes de lípidos sólidos e líquidos (óleos), originando posteriormente uma matriz lipídica com muitas imperfeições, que apresenta um ponto de fusão inferior ao do lípido sólido, quando usado isoladamente, mas continua a ser sólida à temperatura ambiente e corporal. Esta matriz lipídica nanoestruturada permite aumentar a quantidade de fármaco encapsulado, evitando a expulsão do mesmo do interior das nanopartículas durante o seu período de armazenamento (Müller, et al., 2007; Silva, et al., 2011).

Os NLC também apresentam três modelos teóricos que descrevem a incorporação do fármaco e a sua estrutura (Fig. 5). Estes modelos diferem

essencialmente nos lípidos usados para a produção dos NLC (Shidhaye, et al., 2008; Singhal, et al., 2011; Souto, et al., 2007).

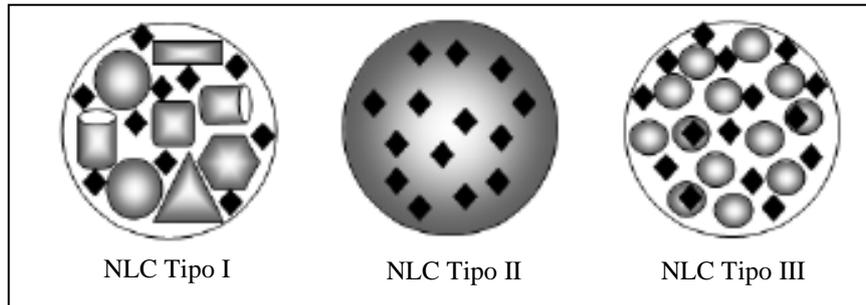


Figura 5 - Modelos teóricos para a estrutura e incorporação do fármaco nos vetores lipídicos nanoestruturados, adaptado de (Souto, et al., 2007)

Os NLC tipo I ou modelo de cristal imperfeito são formados por uma matriz imperfeita, que pode incorporar as moléculas de fármaco nos espaços vazios existentes entre estas imperfeições (Silva, et al., 2011).

O modelo amorfo ou os NLC tipo II é obtido quando os lípidos são misturados mas não são recristalizados após a homogeneização e a refrigeração da nanoemulsão. Estes lípidos podem formar nanopartículas sólidas de estrutura amorfa, que podem evitar a ocorrência de recristalização do lípido sob refrigeração durante o armazenamento, minimizando a libertação do fármaco durante este período (Silva, et al., 2011).

Os NLC tipo III, também conhecidos por modelo múltiplo, são uma emulsão do tipo óleo em lípido sólido em água (O/LS/A), sendo formada pela mistura de lípidos sólidos com óleos, numa razão tal que a solubilidade das moléculas de óleo no lípido sólido seja ultrapassada, resultando na separação de fases e na formação de pequenos nanocompartimentos de óleo no seio da matriz lipídica sólida. A uma temperatura de aproximadamente 40°C, o óleo aquecido e o sólido fundido são totalmente miscíveis, e a uma temperatura de 80°C (aproximadamente) é produzida uma nanoemulsão O/A. No decorrer do processo de arrefecimento, ocorre precipitação do óleo, sob a forma de pequenas gotículas, no seio da matriz lipídica sólida, sendo que, a solidificação do lípido sólido leva à fixação dos nanocompartimentos de óleo. A capacidade de encapsulação dos fármacos lipófilos pode ser aumentada através da aplicação deste método de NLC, uma vez que a maior parte destas substâncias tem maior solubilidade em óleos do que em lípidos sólidos (Silva, et al., 2011).

6.2 Métodos de produção

A literatura descreve diversos métodos de produção para as nanopartículas lipídicas, dando especial destaque à homogeneização por alta pressão, uma vez que esta tem vindo a mostrar resultados mais promissores no que diz respeito ao tamanho e homogeneidade das nanopartículas produzidas. No entanto, têm sido utilizados com sucesso outros métodos de produção, tais como a técnica de microemulsão, e algumas das técnicas habitualmente aplicadas na preparação de nanopartículas poliméricas e lipossomas, como emulsificação-evaporação do solvente, substituição do solvente, emulsificação-difusão do solvente, inversão das fases, extrusão em membrana, o recurso a fluidos supercríticos e os ultrassons (Silva, et al., 2011; Silva, et al., 2011).

6.2.1 Homogeneização por alta pressão

A técnica da homogeneização, ou da HPH, foi desenvolvida por Muller e Lucks no ano de 1993, sendo este o método atualmente mais usado, uma vez que se trata de uma técnica simples, facilmente transponível para a escala industrial, que apresenta baixos custos, encontrando-se implementada na produção em larga escala (Dingler & Gohla, 2002; Parashar, 2011; Saupe & Rades, 2006).

A técnica da HPH pode ser efetuada a temperatura elevada (HPH a quente) ou a temperatura igual ou inferior à temperatura ambiente (HPH a frio) (Müller, et al., 2000).

6.2.1.1 HPH a quente

A técnica de HPH a quente é executada a uma temperatura 5 a 10°C superior à do ponto de fusão do lípido sólido. É efetuado um processo inicial de fusão do material lipídico, no qual o fármaco está disperso ou dissolvido. De seguida, é efetuada a emulsificação da fase lipídica com a fase aquosa, previamente aquecida à mesma temperatura, e que contem um agente tensioativo, com o auxílio de um agitador mecânico de alta velocidade (por exemplo, um Ultra-Turrax®). A pré-emulsão formada é submetida a um homogeneizador de alta pressão, a uma temperatura e pressão elevadas, o que origina uma energia de cavitação que provoca a colisão das gotículas, quebrando-as em nanogotículas, originando-se assim uma nanoemulsão quente. Por sua vez, esta é imediatamente arrefecida até à temperatura ambiente, formando-se assim as nanopartículas lipídicas sólidas (Mishra, et al., 2010; Saupe & Rades, 2006; Silva, et al., 2011).

Esta técnica é adequada para incorporar fármacos lipófilos. Para a encapsulação de fármacos hidrófilos, a HPH a quente não é a técnica mais apropriada, uma vez que durante a homogeneização da fase lipídica estes fármacos se deslocam para a fase aquosa e originam uma baixa eficiência de encapsulação. Deste modo, a técnica de HPH a frio é a mais indicada para preparar nanopartículas lipídicas que veiclem fármacos hidrófilos (Müller, et al., 2000).

6.2.1.2 HPH a frio

A técnica de HPH a frio é realizada com a fase lipídica no estado sólido e consiste na moagem dessa suspensão a alta pressão. Depois da dispersão do fármaco no lípido fundido, a mistura é arrefecida através de gelo seco ou nitrogénio líquido, obtendo-se assim micropartículas lipídicas que, de seguida, são suspensas por uma solução fria de agente tensioativo. Para que as micropartículas sejam reduzidas a nanopartículas, a suspensão é sujeita à HPH. As forças de cavitação aplicadas durante o processo quebram as micropartículas em nanopartículas sólidas (Mishra, et al., 2010).

Geralmente, com a HPH a frio obtêm-se as partículas maiores e com uma distribuição de tamanhos mais amplos, comparativamente à HPH a quente. O método de homogeneização a frio minimiza a exposição térmica, mas não a consegue evitar. Esta técnica não pode ser aplicada para a veiculação de compostos sensíveis à temperatura, como por exemplo, proteínas e péptidos (Müller, et al., 2000).

6.2.2 Microemulsão

A técnica da microemulsão foi desenvolvida por Gasco e pelos seus colaboradores, para preparar SLN. A técnica baseia-se na fusão inicial da fase lipídica e, em paralelo, no aquecimento à mesma temperatura de uma fase aquosa, constituída por um ou dois agentes tensioativos (primário e secundário). Ambas as fases são emulsificadas com o auxílio de um agitador mecânico (por exemplo, um Ultra-Turrax[®]), formando-se uma microemulsão quente. Por sua vez, esta é diluída com um excesso de água fria, sob agitação mecânica moderada. Este último passo leva à quebra das gotículas de microemulsão e à formação de uma nanoemulsão, que após o arrefecimento, solidificam sob a forma de nanopartículas lipídicas (Silva, et al., 2011).

Uma microemulsão típica contém cerca de 10-15% de lípidos, 15-25% de agente tensioativo, 2-10% de agente tensioativo secundário e 50-70% de água. O tamanho e a

estrutura das nanopartículas lipídicas são alterados pela qualidade e quantidade da microemulsão, pela velocidade de agitação mecânica após adição da água arrefecida e pela temperatura de ambas as fases (Silva, et al., 2011).

Este método tem como desvantagem a necessidade da etapa de diluição em água, o que leva à redução da concentração de nanopartículas lipídicas na dispersão final. O uso de elevadas concentrações de tensioativos para estabilizar a formulação, é também apontado como sendo uma das limitações deste método (Müller, et al., 2006).

6.2.3 Evaporação do solvente

A preparação de nanopartículas lipídicas por evaporação do solvente a partir de emulsões do tipo O/A foi desenvolvida por Sjostrom e Bergenstahl. Neste método, o lípido é previamente dissolvido num solvente orgânico imiscível com água, (por exemplo, o clorofórmio), seguindo-se a dissolução do fármaco nessa solução orgânica. Por sua vez, esta é emulsificada por agitação mecânica numa solução aquosa com agentes tensioativos do tipo O/A. O solvente orgânico é evaporado da emulsão O/A por agitação mecânica ou por pressão reduzida, ocorrendo assim a precipitação do lípido e a obtenção de uma dispersão aquosa de nanopartículas lipídicas. O tamanho médio das nanopartículas obtidas por esta técnica é de 100 nm e os índices de polidispersão são baixos (Silva, et al., 2011).

O uso desta técnica tem a vantagem de evitar a exposição dos fármacos a temperaturas elevadas, pelo que pode ser usado na preparação de sistemas de nanopartículas lipídicas, contendo péptidos e proteínas. Contudo, tal como acontece com as nanopartículas poliméricas, a necessidade de usar solventes orgânicos durante a preparação, pode originar problemas de toxicidade nas dispersões finais, resultantes da existência de resíduos destes que não tenham sido totalmente eliminados (Silva, et al., 2011).

6.2.4 Substituição do solvente

Fessi e os seus colaboradores descreveram a técnica de substituição do solvente para a preparação de nanopartículas poliméricas. Nos últimos anos, esta técnica também tem sido usada para a preparação de nanopartículas lipídicas (Silva, et al., 2011).

O lípido é dissolvido num solvente miscível em água, como por exemplo, o etanol, sendo o fármaco posteriormente disperso nesta fase. Ao mesmo tempo, é

preparada uma solução aquosa, contendo agente tensioativo do tipo O/A. De seguida, a fase orgânica é adicionada à fase aquosa, sob agitação magnética. O lípido da fase interna solidifica e o solvente orgânico desloca-se da interfase O/A para a fase aquosa. Esta fase é rapidamente estabilizada pelas moléculas de agente tensioativo que se encontram na fase aquosa. Tal como ocorre com a técnica anterior, o uso deste método tem a vantagem de evitar a exposição dos fármacos à temperatura elevada, mas o inconveniente de necessitar de usar solventes orgânicos durante a preparação (Silva, et al., 2011).

6.2.5 Difusão do solvente

Quintanar-Guerrero e os seus colaboradores desenvolveram esta técnica para a preparação de nanopartículas poliméricas. Tal como aconteceu com outros métodos já referenciados, vários autores adaptaram esta técnica para a produção de nanopartículas lipídicas. (Silva, et al., 2011).

Na técnica da difusão do solvente prepara-se uma fase orgânica e uma fase aquosa. A fase orgânica é constituída por um solvente orgânico apolar onde é dissolvido o lípido e incluído o fármaco, por dissolução ou dispersão. A fase aquosa contém um tensioativo do tipo O/A e é emulsificada na fase orgânica. De seguida, sujeita-se a emulsão a uma fonte de energia elevada, como os ultrassons ou a HPH (Silva, et al., 2011).

Este método permite obter nanopartículas com tamanho médio de cerca de 100 nm e com um índice de polidispersão pequeno. As vantagens e limitações são comuns às descritas para os dois métodos anteriores (Müller, et al., 2006).

6.2.6 Inversão de fases

Heurtaul e os seus colaboradores desenvolveram este método para a preparação de nanopartículas lipídicas (Heurtaul, et al., 2002).

Uma das vantagens deste método é o facto de não ser necessário usar solventes orgânicos. Este método baseia-se na agitação magnética de todos os componentes da formulação (i. e. lípido, tensioativo e água). De seguida, são aplicados três ciclos de aquecimento e arrefecimento (85°C-60°C-85°C-60°C-85°C), que vão promover a inversão da emulsão. A adição de água fria vai promover um choque térmico, que induz a rutura do sistema e leva à formação das nanopartículas lipídicas. Para promover evitar

a agregação de partículas, sujeita-se a dispersão aquosa a uma agitação magnética (Silva, et al., 2011).

Este método apresenta como vantagem a capacidade de se modificar a escala da temperatura, que é muito importante para a incorporação dos fármacos sensíveis à temperatura (Heurtault, et al., 2002).

6.2.7 Fluidos supercríticos

Os fluidos supercríticos formam-se quando a temperatura e a pressão de uma determinada substância ultrapassam os seus valores críticos (Silva, et al., 2011).

Como alternativa aos métodos tradicionais de produção de nanopartículas, têm sido usadas várias técnicas de fluidos supercríticos, que apresentam vantagens como (Silva, et al., 2011): (i) A não necessidade de usar solventes potencialmente tóxicos; (ii) Condições de produção moderadas; (iii) Possibilitam o uso de uma substância supercrítica com propriedades esterilizadoras; (iv) Facilmente transponíveis à escala industrial; (v) Produzem formulações de nanopartículas sob a forma de pós secos.

Devido à baixa toxicidade, à pureza aceitável, ao baixo custo e ao baixo ponto crítico, o dióxido de carbono é o composto mais utilizado para o processamento de fármacos pela tecnologia dos fluidos supercríticos (Silva, et al., 2011).

Esta tecnologia possui várias variantes para a produção de partículas, a sua seleção depende da solubilidade do fármaco no fluido supercrítico (Silva, et al., 2011).

6.2.8 Extrusão por membrana

A extrusão por membrana é uma técnica utilizada para preparar precipitados e emulsões, tendo sido também utilizada na produção de SLN. Esta técnica tem por base fazer passar, sob pressão, a fase lipídica aquecida a uma temperatura superior ao ponto de fusão do lípido através de uma membrana, levando assim à formação de gotículas de lípido líquido. No interior da membrana circula um fluxo de água no sentido tangencial à superfície, arrastando as gotículas formadas nos poros para a superfície da membrana, fazendo-as arrefecer até à temperatura ambiente, formando-se assim as SLN. Este processo tem como vantagens a facilidade de utilização e de transposição de escala e a possibilidade de escolha dos parâmetros do processo, tais como as temperaturas da fase aquosa e lipídica, a velocidade do fluxo da fase aquosa, a pressão da fase lipídica e o

tamanho das partículas através do controlo do diâmetro dos poros da membrana (Silva, et al., 2011).

6.2.9 Ultrassons

Na preparação de nanopartículas lipídicas através da técnica de ultrassons, a fase lipídica é submetida a uma temperatura entre 5-10°C superior ao ponto de fusão do lípido. Por agitação mecânica (por exemplo, com um UltraTurrax[®]), a fase lipídica é dispersa na fase aquosa, que contém tensioativo aquecido previamente à mesma temperatura, originando assim uma pré-emulsão que, de seguida, é colocada numa sonda dos ultrassons, o que vai provocar uma energia de cavitação, originar a colisão das gotículas e a sua subsequente fragmentação. Depois de arrefecer a emulsão à temperatura ambiente, vai ocorrer a formação das nanopartículas lipídicas. O tamanho destas nanopartículas pode ser controlado/alterado pela intensidade e tempo de exposição à frequência ultrassónica (Mulla, et al., 2011; Rai, et al., 2008; Silva, et al., 2011).

Têm sido apontados alguns inconvenientes relativos à aplicação desta técnica, nomeadamente no que diz respeito à necessidade de usar longos períodos de ultrassonicação, o que faz com que o risco de contaminação da dispersão por metais provenientes da erosão da sonda sejam mais elevados, e também relativamente ao facto da dispersão obtida apresentar uma elevada distribuição do tamanho das partículas, o que conduz a uma instabilidade física do sistema durante o seu armazenamento (Swathi, et al., 2010). Contudo, alguns autores verificaram resultados contraditórios a estes, tendo obtido sistemas com estabilidade semelhante aos preparados por outras técnicas (Mendes, et al., 2013; Silva, et al., 2011).

7. Encapsulação de fármacos em nanopartículas lipídicas

A Tabela 2 apresenta alguns exemplos de fármacos encapsulados em nanopartículas lipídicas para administração oral.

Tabela 2 - Exemplos de fármacos encapsulados em nanopartículas lipídicas para administração oral.

Fármaco	Sistema lipídico	Técnica de preparação	Efeitos relevantes	Referência
Carvedilol	SLN	Ultrassons Microemulsão	- Aumento da biodisponibilidade oral.	(Liu, et al., 2012; Sanjula, et al., 2009)
Ciclosporina	SLN	HPH a quente	- Aumento da biodisponibilidade oral; - Libertação modulada do fármaco <i>in vivo</i> (em porcos).	(Müller, et al., 2006; Yin, et al., 2013)
Curcumina	SLN	Emulsificação do solvente	- Redução da frequência de administração do fármaco.	(Sankar, et al., 2013)
Insulina	SLN	Difusão do solvente	- Aumento da biodisponibilidade oral.	(Mahjub, et al., 2013; Zhang, et al., 2009)
Isoniazida, pirazinamida, rifampicina	SLN	Emulsificação do solvente	- Prolongamento do tempo de circulação sanguínea do fármaco; - Redução da frequência de administração do fármaco.	(Pandey, et al., 2005; Singh, et al., 2013)
Quercetina	SLN NLC	Emulsificação e solidificação a baixa temperatura	- Aumento da biodisponibilidade oral; - Libertação controlada do fármaco <i>in vivo</i> .	(Li, et al., 2009; Yu, et al., 2013)
Sinvastatina	SLN	Evaporação do solvente	- Aumento da biodisponibilidade oral.	(Lee, et al., 2013; Zhang, et al., 2010)
Tripterina	NLC	Evaporação do solvente	- Aumento da quantidade de fármaco absorvido no intestino; - Diminuição da citotoxicidade do fármaco; - Melhor biocompatibilidade.	(Zhou, et al., 2012)

8. Conclusões e perspectivas futuras

Tendo em conta o seu fácil acesso e caráter não invasivo, a via oral continua a ser a via de eleição, tanto por parte dos doentes, como dos profissionais de saúde. Contudo, a maior parte dos fármacos tem baixa solubilidade em água, o que dificulta a sua administração ao longo do TGI. Desta forma, a veiculação destas moléculas em sistemas para administração oral permanece um desafio para os tecnologistas.

A nanotecnologia tem contribuído para o desenvolvimento de novos sistemas terapêuticos e, desta forma, para o progresso da indústria farmacêutica e biotecnológica, o que tem suscitado interesse tanto nos investigadores académicos como nos investigadores das indústrias farmacêuticas.

Diversos estudos têm demonstrado que o uso de sistemas coloidais tem como principal vantagem proteger os fármacos da degradação e/ou inativação no interior do organismo. Isto leva a um melhoramento da biodisponibilidade e permite a libertação do fármaco no local desejado. Desta forma, são ultrapassadas algumas das limitações da terapêutica convencional. Reconhecendo estas vantagens relativamente aos sistemas coloidais tradicionais, as nanopartículas têm um papel importante no desenvolvimento de novos sistemas terapêuticos para a libertação de fármacos.

Apesar dos progressos conseguidos no desenvolvimento de sistemas à base de nanopartículas, a investigação deve continuar, de forma a dar resposta às novas exigências que surgem, resultantes da constante descoberta de novas moléculas de fármacos.

Deste modo, será importante aumentar o número de estudos que permitam avaliar a toxicidade destes sistemas e verificar a sua eficácia, através de ensaios *ex vivo* e *in vivo*, de forma a minimizar o número de testes em animais e possibilitar a passagem para a realização de ensaios clínicos em humanos. Se os resultados obtidos forem razoáveis, poderá ser possível a introdução destes novos sistemas no mercado, o que permitirá reduzir os efeitos secundários indesejáveis dos fármacos e obter terapias mais eficazes que promovam uma maior adesão aos tratamentos por parte dos doentes. A comunidade científica está cada vez mais atenta a estas nanoestruturas de modo a aperfeiçoar algumas das suas características e torna-las sistemas de primeira escolha para veicular novos fármacos.

9. Bibliografia

Abdelbary, G. & Fahmy, R. H. (2009). Diazepam-loaded solid lipid nanoparticles: design and characterization. *AAPS PharmSciTech*, 10(1), pp. 211-219.

Al Khouri, N., Roblot-Treupel, L. Fessi, H. J. P. & Puisieux, F., (1986). Development of a new process for the manufacture of poly (isobutylcyanoacrylate) nanocapsules. *International Journal of Pharmaceutics*, Volume 28, pp. 125-132.

Almeida, A. J. & Souto, E. (2007). Solid lipid nanoparticles as a drug delivery system for peptides and proteins. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(6), pp. 478-490.

Aprahamian, M. et al. (1987). Transmucosal passage of poly(alkylcyanoacrylate) nanocapsules as a new drug carrier in the small intestine. *Biology of the Cell*, Volume 61, pp. 69-76.

Balbus, J., Denison, R., Florini, K. & Walsh, S. (2006). Getting Nanotechnology Right the First Time. In: *Nanotechnology: "Risk, Ethics and Law"*. s.l.:Routledge.

Brannon-Peppas, L. & Blanchette, J. O. (2004). Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy. *Advanced Drug Delivery Reviews*, Volume 54, pp. 1649-1659.

Brigger, I., Dubernet, C. & Couvreur, P. (2002). Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. *Advanced Drugs Delivery Reviews*, Volume 54, pp. 631-651.

Calvo, P., Remuñan-Lopez, C., Villa-Jato, J. L. & Alonso, M. J. (1997). Chitosan and chitosan/ethylene oxide-propylene oxide block copolymer nanoparticles as novel carriers for proteins and vaccines. *Pharmaceutical Research*, Outubro, 14(10), pp. 431-1436.

Charman, W. N. (2000). Lipids, lipophilic drugs, and oral drug delivery-some emerging concepts. *Journal of Pharmaceutical Science*, 89(8), pp. 967-978.

Chattopadhyay, P. et al. (2007). Production of solid lipid nanoparticle suspensions using supercritical fluid extraction of emulsions (SFEE) for pulmonary delivery using the AERx system. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(6), pp. 444-453.

Chen, C. C., Tsai, T. H., Huang, Z. R. & Fang, J. Y. (2010). Effects of lipophilic emulsifiers on the oral administration of lovastatin from nanostructured lipid carriers: physicochemical characterization and pharmacokinetics. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 74(3), pp. 474-482.

- Damgé, C. et al. (1990). Nanocapsules as carriers for oral peptide delivery. *Journal of Controlled Release*, Journal of Controlled Release, Volume 13, pp. 233-239.
- Das, D. & Lin, S. (2005). Double-coated poly(butylcyanoacrylate) nanoparticulate delivery systems for brain targeting of dalargin via oral administration. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 94(6), pp. 1343-1353.
- Date, A., Vador, N., Jagtap, A. & Nagarsenker, M. (2011). Lipid nanocarriers (GeluPearl) containing amphiphilic lipid Gelucire 50/13 as a novel stabilizer: fabrication, characterization and evaluation for oral drug delivery. *Nanotechnology*, 22(27), p. 275102(2011).
- Dingler, A. & Gohla, S. (2002). Production of solid lipid nanoparticles (SLN): scaling up feasibilities. *Journal of Microencapsulation*, 19(1), pp. 11-16.
- Dubernet, C., Fattal, E. & Couvreur, P. (2000). Nanoparticulate controlled release system for cancer therapy. In: *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*. New York: Marcel Dekker, pp. 287-300.
- Feynman, R. (1959). There's Plenty of Room at the Bottom. *American Physical Society*.
- Frey, A., Neutra, M. R. & Robey, F. A. (1997). Peptomer aluminum oxide nanoparticle conjugates as systemic and mucosal vaccine candidates: synthesis and characterization of a conjugate derived from the C4 domain of HIV-1MN gp 120. *Bioconjugate Chemistry*, Maio-Junho, 8(3), pp. 424-433.
- Galindo-Rodríguez, S. A., Alléman, E., Fess, H. & Doelka, E. (2005). Polymeric nanoparticles for oral delivery of drugs and vaccines: a critical evaluation of in vivo studies. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 22(5), pp. 419-463.
- Gaumet, M., Vargas, A., Gurny, R. & Delie, F. (2007). Nanoparticles for drug delivery: the need for precision in reporting particle size parameters. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutis*, 69(1), pp. 1-9.
- He, J. et al. (2007). Preparation, pharmacokinetics and body distribution of silymarin-loaded solid lipid nanoparticles after oral administration. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 3(2), pp. 195-202.
- Heurtault, B. et al. (2002). A novel phase inversion-based process for the preparation of lipid nanocarriers. *Pharmaceutical Research*, 19(6), pp. 875-880.

- Holmgren, J. & Lycke, N. (1986). Immune mechanisms in enteric infections. In: *Development of vaccines and drugs against diarrhea*. s.l.:Studentlitteratur, pp. 9-22.
- Hommos, A. (2008). Nanostructured lipid carriers (NLC) in dermal and personal care formulations. *Department of Biology, Chemistry and Pharmacy of the Freie Universität*, p. p. 202.
- Humberstone, A. J. & Charman, W. N. (1997). Lipid-based vehicles for the oral delivery of poorly water soluble drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 14 Abril, 25(1), pp. 103-128.
- Hunt, W. H. (2004). Nanomaterials: Nomenclature, novelty, and necessity. *Journal of the Minerals, metals and Materials Society*, 56(10), pp. 13-18.
- Jeurisson, S. H. M., Kraal, G. & Sminia, T. (1987). The role of Peyer's patches in intestinal humoral immune responses is limited to memory formation. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, pp. 216 A, p. 257-265.
- Kreuter, J. (2001). Nanoparticulate systems for brain delivery of drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 23 Março, 47(1), pp. 65-81.
- Kumar, V. V. et al. (2007). Development and evaluation of nitrendipine loaded solid lipid nanoparticles: influence of wax and glyceride lipids on plasma pharmacokinetics. *International Journal of Pharmaceutics*, 335((1-2)), pp. 167-175.
- Lee, J. B. et al. (2013). Poly(L-lactic acid)/hydroxyapatite nanocylinders as nanofibrous structure for bone tissue engineering scaffolds. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 9(3), pp. 424-429.
- Li, H. et al. (2009). Enhancement of gastrointestinal absorption of quercetin by solid lipid nanoparticles. *Journal of Controlled Release*, 133(3), pp. 238-244.
- Liu, D. et al. (2012). Fabrication of carvedilol nanosuspensions through the anti-solvent precipitation-ultrasonication method for the improvement of dissolution rate and oral bioavailability. *AAPS PharmSciTech*, 13(1), pp. 295-304.
- Mahjub, R. et al. (2013). Lyophilized insulin nanoparticles prepared from quaternized N-aryl derivatives of chitosan as a new strategy for oral delivery of insulin: in vitro, ex vivo and in vivo characterizations. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 4 Outubro.

- Ma, L. (2003). DNA vaccines: a review. *Journal of Internal Medicine*, 253(4), pp. 402-410.
- McClellan, S. et al. (1998). Binding and uptake of biodegradable poly-DL-lactide micro- and nanoparticles in intestinal epithelia. *European Journal of Pharmacology*, 6(2), pp. 153-163.
- Mehnert, W. & Mader, K. (2001). Solid lipid nanoparticles - Production, characterization and applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 47((2-3)), pp. 165-196.
- Mendes, A. I. et al. (2013). Miconazole-loaded nanostructured lipid carriers (NLC) for local delivery to the oral mucosa: Improving antifungal activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 111(1), pp. 755-763.
- Mishra, B., Patel, B. B. & Tiwari, S. (2010). Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 6(1), pp. 9-24.
- Moghimi, S. M. & Hunter, A. C. M. J. C. (2005). Nanomedicine: current status and future prospects. *FASEB Journal*, 19(3), pp. 311-330.
- Muchow, M., Maincent, P., Müller, R. H. & Keck, C. M. (2011). Production and characterization of testosterone undecanoate-loaded NLC for oral bioavailability enhancement. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 37(1), pp. 8-14.
- Mulla, J. S. et al. (2011). Solid Lipid Nanoparticles: Methods of Preparation. *Indian Journal of Novel Drug Delivery*, 3(3), pp. 170-175.
- Müller, R. H., Mäder, K. & Gohla, S. (2000). Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery – a review of the state of the art. *Eur J Pharm Biopharm*, 50(1), pp. 161-177.
- Müller, R. H., Radtke, M. & Wissing, S. A. (2002). Nanostructured lipid matrices for improved microencapsulation of drugs. *International Research Journal of Pharmacy*, 242((1-2)), pp. 121-128.
- Müller, R. H. et al. (2006). Oral bioavailability of cyclosporine: solid lipid nanoparticles (SLN) versus drug nanocrystals. *International Journal Pharmaceutics*, 317(1), pp. 82-89.

- Müller, R., Petersen, R., Hommoss, A. & Pardeike, J. (2007). Nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic dermal products. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(6), pp. 522-530.
- Nelson, D. L. & Cox, M. M. (2004). *Lehninger - Principles of Biochemistry*. New York: W. H. Freeman and Company.
- O'Driscoll, C. M. (2002). Lipid-based formulations for intestinal lymphatic delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 15(5), pp. 405-415.
- Olbrich, C., Kayser, O. & Müller, R. H. (2002). Lipase degradation of Dynasan 114 and 116 solid lipid nanoparticles (SLN)- effect of surfactants, storage time and crystallinity. *International Journal of Pharmaceutics*, 237((1-2)), pp. 119-128.
- Oppenheim, R. C., Stewart, N. F., Gordon, L. & Patel, H. M. (1982). Production and evaluation of orally administered insulin nanoparticles. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 8(4), pp. 531-546.
- Pandey, R., Sharma, S. & Khuller, G. K. (2005). Oral solid lipid nanoparticle-based antitubercular chemotherapy. *Tuberculosis*, 85((5-6)), pp. 415-420.
- Parashar, A. K. (2011). A review on Solid Lipid Nanoparticles (SLN) for controlled and targeted delivery of medicinal agents. *Current Research in Pharmaceutical Sciences*, Volume 2, pp. 37-47.
- Patidar, A., Thakur, D. S., Kumar, P. & Verma, J. (2010). A review on novel lipid based nanocarriers. *International journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2(4), pp. 30-35.
- Pinto-Alphandary, H. (2003). Visualization of insulin-loaded nanocapsules: in vitro and in vivo studies after oral administration to rats. *Pharmaceutical Research*, Volume 20, pp. 1071-1084.
- Porter, C. J. H. & Charman, W. N. (1997). Uptake of drugs into the intestinal lymphatics after oral administration. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 14 Abril, 25(1), pp. 71-89.
- Rai, S. et al. (2008). Solid Lipid Nanoparticles (SLNs) as a Rising Tool in Drug Delivery Science: One Step Up in Nanotechnology. *Current Nanoscience*, 4(1), pp. 30-44.

- Roger, E., Lagarce, F., Garcion, E. & Benoit, J. P. (2010). Biopharmaceutical parameters to consider in order to alter the fate of nanocarriers after oral delivery. *Nanomedicine*, 5(2), pp. 287-306.
- Sahoo, S. K., Parvann, S. & Panda, J. J. (2007). The present and future of nanotechnology in human health care. *Nanomedicine*, 3(1), pp. 20-31.
- Sanjula, B., Shah, F. M., Javed, A. & Alka, A. (2009). Effect of poloxamer 188 on lymphatic uptaki of carvedilol-loaded solid lipid nanoparticles for bioavailability enhancement. *Journal of Drug Targeting*, 17(3), pp. 249-256.
- Sankar, P. et al. (2013). Oral nanoparticle curcumin combating arsenic-induced oxidative damage in kidney and brain of rats. *Toxicology and Industrial Health*.
- Santamaria, A. (2012). Historical overview of nanotechnology and nanotoxicology. In: *Nanotoxicity: Methods and Protocols*. s.l.:Humana Press, pp. 1-12.
- Sarmento, B., Martins, S., Ferreira, D. & Souto, E. B. (2007). Oral insulin delivery by means of solid lipid nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*, 2(4), pp. 743-749.
- Sarmento, B. et al. (2011). Effect of chitosan coating in overcoming the phagocytosis of insulin loaded solid lipid nanoparticles by molecular phagocyte system. *Carbohydrate Polymers*, 17 Março, 84(3), pp. 919-925.
- Saupe, A. & Rades, T. (2006). Solid Lipid Nanoparticles. In: *Nanocarrier Technologies*. Netherlands: Springer, pp. 41-50.
- Schafer-Korting, M., Mehnert, W. & Korting, H. C. (2007). Lipid nanoparticles for improved topical application of drugs for skin diseases. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(6), pp. 427-443.
- Shidhaye, S. S. et al. (2008). Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers-innovative generations of solid lipid carriers. *Current Drug Delivery*, Outubro, 5(4), pp. 324-331.
- Silva, A. C. et al. (2012). Solid lipid nanoparticles (SLN) - based hydrogels as potencial carriers for oral transmucosal delivery of Risperidone: Preparation and characterization studies. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, Volume 93, pp. 243-248.

- Silva, A. C. et al. (2011). Preparation, characterization and biocompatibility studies on risperidone-loaded solid lipid nanoparticles (SLN): High pressure homogenization versus ultrasound. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 86(1), pp. 158-165.
- Silva, A. C. et al. (2011). Nanopartículas lipídicas. In: *Novas Formas Farmacêuticas para a Administração de Fármacos*. Porto: Edições Universidade Fernando Pessoa, pp. 299-336.
- Silva, A. C., Santos, D., Ferreira, D. & Lopes, C. M. (2012). Lipid-based Nanocarriers As An Alternative for Oral Delivery of Poorly Water-Soluble Drugs: Peroral and Mucosal Routes. *Current Medicinal Chemistry*.
- Singhal, G. B., Rakesh, P. P., Prajapati, B. B. & Nikunjana, A. P. (2011). Solid lipid nanoparticles and nano lipid carriers: as novel solid lipid based drug carrier. *International Research Journal of Pharmacy*, 2(2), pp. 40-52.
- Singh, H., Bhandari, R. & Kaur, I. P. (2013). Encapsulation of Rifampicin in a solid lipid nanoparticulate system to limit its degradation and interaction with Isoniazid at acidic pH. *International Journal of Pharmacology*, 446(1-2), pp. 106-111.
- Sonvico, F. et al. (2006). Formation of self-organized nanoparticles by lecithin/chitosan ionic interaction. *International Journal of Pharmaceutics*, 324(1), pp. 67-73.
- Souto, E. B., Almeida, A. J. & Müller, R. H. (2007). Lipid Nanoparticles (SLN®, NLC®) for Cutaneous Drug Delivery: Structure, Protection and Skin Effects. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 3(4), pp. 317-331.
- Sozer, N. & Kokini, J. L. (2012). *The Applications of Nanotechnology, in Chemical Analysis of Food: Techniques and Applications*. s.l.:Academic Press.
- Swathi, G., Prasanthi, N. L., Manikiran, S. S. & Ramarao, N. (2010). Solid lipid nanoparticles: colloidal carrier systems for drug delivery. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 1(12), pp. 1-16.
- Vauthier, C. & Couvreur, P. (2007). Developing nanoparticle drug carriers. *Pharmaceutical Technology Europe*, 19(1).
- Vauthier, C. et al. (2003). Poly(alkylcyanoacrylates) as biodegradable materials for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Review*, Volume 55, pp. 519-548.

Venkateswarlu, V. & Manjunath, K. (2004). Preparation, characterization and in vitro release kinetics of clozapine solid lipid nanoparticles. *Journal of Controlled Release*, 95(3), pp. 627-638.

Venuganti, V. V. & Perumal, O. P. (2009). Nanosystems for Dermal and Transdermal Drug Delivery. In: *Drug Delivery Nanoparticles Formulation and Characterization*. New York: Informa Healthcare USA, pp. 126-155.

Walker, R. I. & Owen, R. L. (1990). Intestinal barriers to bacteria and their toxins. *Annual Review of Medicine*, Volume 41, pp. 393-400.

Widmaier, E. P., Raff, H. & Strang, K. T. (2006). *Vander, Sherman & Luciano - Fisiologia Humana - Os mecanismos das funções corporais*. 9ª Edição ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Yin, Q. X., Wang, H., Pei, Z. Y. & Zhao, Y. S. (2013). Efficacy of cyclosporine A-nanoparticles emulsion combined with stem cell transplantation therapy for acute myocardial infarction. *Zhongguo yi xue ke xue yuan xue bao. Acta Academiae Medicinae Sinicae*, 35(4), pp. 404-410.

Yuan, H. et al. (2007). Preparation and characteristics of nanostructured lipid carriers for control-releasing progesterone by melt-emulsification. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 60(2), pp. 174-179.

Yu, L. et al. (2013). Study on preparation of quercetin nanostructured lipid carriers and their physicochemical properties. *Zhongguo yi xue ke xue yuan xue bao. Acta Academiae Medicinae Sinicae*, 38(8), pp. 1151-1155.

Zhang, J., Wu, L., Chan, H. & Watanabe, W. (2011). Formation, characterization, and fate of inhaled drug nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 30 May, 63(6), pp. 441-455.

Zhang, Z. et al. (2010). The characteristics and mechanism of simvastatin loaded lipid nanoparticles to increase oral bioavailability in rats. *International Journal of Pharmaceutics*, 394((1-2)), pp. 147-153.

Zhang, Z. & Feng, S. S. (2006). Nanoparticles of poly(lactide)/vitamin E TPGS copolymer for cancer chemotherapy: synthesis, formulation, characterization and in vitro drug release. *Biomaterials*, Janeiro, 27(2), pp. 262-270.

Zhang, Z. H., Lv, H. & Zhou, J. (2009). Novel solid lipid nanoparticles as carriers for oral administration of insulin. *Pharmazie*, 64(9), pp. 574-578.

Zhou, L. et al. (2012). Preparation of tripterine nanostructured lipid carriers and their absorption in rat intestine. *Pharmazie*, 67(4), pp. 304-310.