

## Nanoemulsões como Sistemas de Liberação para Fármacos Oftálmicos

Tassiana FRONZA <sup>1</sup>, Angela CAMPOS <sup>2</sup> e Helder TEIXEIRA <sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS,  
Av. Ipiranga, 2752, 90610-000 Porto Alegre/RS, Brasil.

<sup>2</sup> Curso de Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Florianópolis.

**RESUMO.** A instilação tópica de colírios no saco conjuntival inferior é o procedimento mais correntemente empregado para a administração de fármacos oftálmicos. Entretanto, um dos maiores problemas encontrados com a administração de colírios é a sua rápida eliminação da área pré-corneal através dos mecanismos de proteção do olho, resultando em uma reduzida biodisponibilidade dos fármacos veiculados. O uso de nanoemulsões lipídicas óleo em água tem sido considerado como uma estratégia promissora para melhorar a biodisponibilidade de fármacos oftálmicos aplicados topicamente. Assim, o objetivo deste trabalho é revisar diferentes aspectos relacionados com a composição, técnicas de preparação e propriedades físico-químicas de nanoemulsões como sistemas de liberação de fármacos oftálmicos. A influência das nanoemulsões em aspectos biofarmacêuticos da ciclosporina A, indometacina e pilocarpina também é discutida.

**SUMMARY.** "Nanoemulsions as Delivery Systems for Ophthalmic Drugs". Topical instillation of eye drops into the lower cul-de-sac is the most common method for the administration of the ophthalmic drugs. However, one of the major problems encountered with eye drops is the rapid and extensive elimination of drugs from the pre-corneal area by the protection mechanisms of the eye, resulting in a poor bioavailability. The use of lipid nanoemulsions has been considered as a promising strategy to improve the bioavailability of ophthalmic drugs instilled topically. Therefore, the objective of this review is to present different aspects related to composition, preparation methods and physicochemical properties of the nanoemulsions in ophthalmic delivery systems. The influence of nanoemulsions on biopharmaceutical aspects of cyclosporin A, indomethacin and pilocarpine is also discussed.

### INTRODUÇÃO

A instilação de colírios no saco conjuntival inferior é o procedimento mais correntemente empregado para o tratamento das afecções do globo ocular <sup>1</sup>. Entretanto, a rápida eliminação da área pré-corneal, a reduzida penetração através da córnea e a absorção sistêmica dos fármacos limitam esse modo de administração. Estima-se assim que menos de 5% da dose aplicada alcance os tecidos intraoculares <sup>2-4</sup>. Além disso, vários fármacos potencialmente ativos em oftalmologia apresentam uma reduzida solubilidade em água, inviabilizando a sua incorporação em veículos convencionais como as soluções aquosas <sup>5</sup>.

A fim de contornar esses inconvenientes, a incorporação de fármacos de uso ocular em sistemas coloidais lipídicos como nanoemulsões <sup>6</sup>, nanopartículas lipídicas sólidas <sup>7</sup> e lipossomas <sup>8</sup> tem sido proposta na literatura com o objetivo aumentar a biodisponibilidade de fármacos após a administração tópica ocular. O aumento da permeabilidade da córnea e/ou prolongamento do tempo de contato da forma farmacêutica com a superfície ocular representam fatores importantes para o aumento da biodisponibilidade <sup>5,9</sup>.

Nos últimos anos, nanoemulsões óleo em água têm sido particularmente investigadas como um potencial sistema para administração

**PALAVRAS-CHAVE:** Medicamentos oftálmicos, Nanoemulsões, Via ocular.

**KEY WORDS:** Nanoemulsions, Ocular route, Ophthalmic drugs.

\* Autor a quem a correspondência deverá ser enviada.

ocular tópica da anfotericina B<sup>10</sup>, ciclosporina<sup>6,11,12</sup>, indometacina<sup>13,14</sup>,  $\delta$ -8-tetraidrocanabinol (THC)<sup>15</sup>, 11-hidróxi- $\delta$ -8-THC (HU-211)<sup>16</sup>, piroxicam<sup>17</sup>, pilocarpina e O,O'-dipivaloil (1,2-etileno) diéster do ácido pilocárpico<sup>18-21</sup> (Fig. 1). Nanoemulsões podem ser classicamente definidas como uma dispersão nanométrica de gotículas oleosas em uma fase aquosa externa, estabilizada por um sistema tensoativo adequado. Apresentam-se como líquidos de aspecto leitoso, reduzido diâmetro de gotícula e baixa viscosidade, possibilitando assim a sua administração na forma de gotas oculares<sup>9</sup>. O fármaco veiculado encontra-se preferencialmente disperso e/ou adsorvido no núcleo oleoso da nanoestrutura<sup>9,22</sup>.

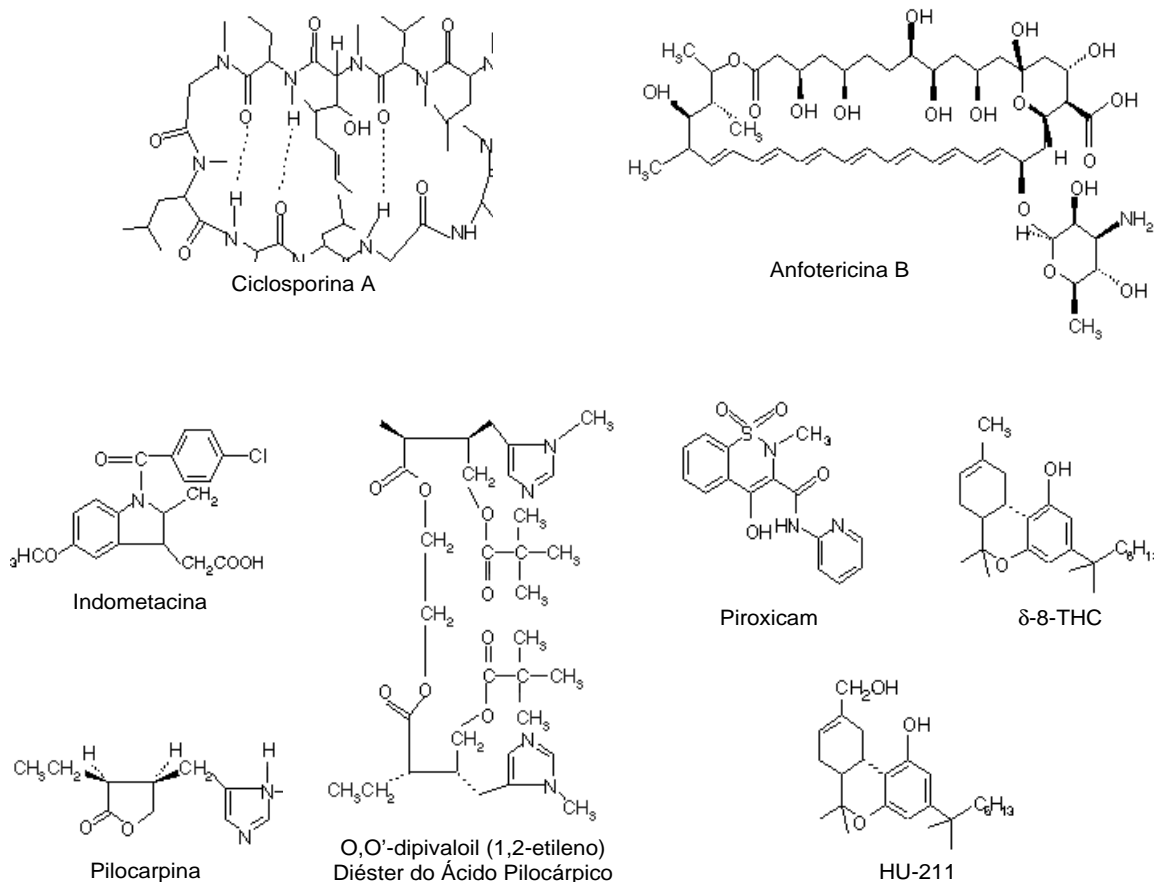
Neste contexto, o presente trabalho visa revisar aspectos farmacotécnicos do desenvolvimento de nanoemulsões como um sistemas de liberação para fármacos oftálmicos. Em uma segunda parte, serão abordados aspectos biofarmacêuticos relacionados com a administração ocular tópica desses sistemas, destacando-se especialmente os resultados obtidos para a ciclosporina A, indometacina e pilocarpina.

## ASPECTOS FARMACOTÉCNICOS

### Composição das nanoemulsões

#### Óleos

O núcleo oleoso das nanoemulsões representa entre 2,5 e 20% da composição final das formulações descritas na Tabela 1. O principal critério de seleção e concentração da fase oleosa a ser empregado é determinado pela solubilidade do fármaco a ser veiculado<sup>9</sup>. Óleos de origem vegetal ou semi-sintética, constituídos principalmente de triglicerídeos de cadeia média (TCM) e longa (TCL), têm sido extensivamente empregados. TCL provenientes de óleos vegetais, como o de soja, foram empregados isoladamente no preparo de nanoemulsões contendo a pilocarpina na sua forma básica, cloridrato ou pró-fármaco<sup>18,19,21,23</sup>. Misturas de óleo de soja e ácido oléico (até 50%) foram testadas como núcleo de nanoemulsões contendo  $\delta$ -8-THC e piroxicam, a fim de aumentar a solubilidade destes fármacos e a estabilidade do sistema desenvolvido<sup>15,24</sup>. Contudo, atualmente, observa-se um interesse crescente no uso dos TCM obtidos da hidrólise do óleo de coco seguida da esterificação dos ácidos graxos livres, principalmente



**Figura 1.** Estrutura química dos principais fármacos veiculados em nanoemulsões de uso ocular.

Fármaco	Óleo	Sistema tensoativo	Outros adjuvantes	Ref.
Anfotericina B <sup>a</sup>	Óleo de soja	Lecitina	Glicerol	10
Ciclosporina	Óleo de ricino	Polissorbato 80 e Pemulen <sup>®</sup>	Glicerol	11
	Óleo de ricino	Lecitina, Poloxâmero 188 e estearilamina	Glicerol, $\alpha$ -tocoferol, cloreto de benzalcônio	6, 32
HU-211	TCM	Lecitina, Miranol MHT <sup>®</sup>	Glicerol e $\alpha$ -tocoferol	16,23
Indometacina	TCM	Lecitina e Poloxâmero 188	–	13, 14
	TCM	Lecitina e Miranol MHT <sup>®</sup>	Glicerol, HCl e $\alpha$ -tocoferol	29
	TCM	Lecitina, Poloxâmero 188 e estearilamina	Glicerol, HCl e $\alpha$ -tocoferol	30
Pilocarpina HCl	TCM	Lecitina, Miranol MHT <sup>®</sup>	Glicerol e $\alpha$ -tocoferol	18,23
Pilocarpina HCl ou Base	Óleo de soja	Lecitina e Poloxâmero 188 ou Polissorbato 80	Glicerol e metilcelulose ou carmelose sódica	28
Pilocarpina (pró-fármaco)	Óleo de soja	Lecitina	Glicerol	19
Pilocarpina base	Óleo de soja	Lecitina	Glicerol e monododecil fosfórico	20
Pilocarpina base	Óleo de soja	Lecitina	Glicerol e ácido oleico	21
Piroxicam	TCM	Lecitina, Estearilamina, Poloxâmero 188	Glicerol e $\alpha$ -tocoferol	17, 24
$\delta$ -8-THC	Óleo de soja/ Ácido oleico	Lecitina, Poloxâmero 188	Glicerol e $\alpha$ -tocoferol	15

**Tabela 1.** Exemplos representativos da composição qualitativa de nanoemulsões utilizadas como veículo de fármacos de uso oftálmico. <sup>a</sup> A anfotericina B foi adicionada a nanoemulsão disponível comercialmente (Intralipid<sup>®</sup>).

cáprico e caprílico, com o glicerol <sup>9,16,25</sup>. TCM são cerca de 100 vezes mais miscíveis em água do que os análogos de cadeia longa e são assim capazes de dissolver elevados teores de fármacos lipossolúveis <sup>23</sup>. Além disso, estudos de tolerância ocular aguda e crônica não evidenciaram irritação da córnea e conjuntiva de voluntários mesmo após a administração de TCM em doses elevadas por longos períodos de tempo <sup>26</sup>.

#### Tensoativos

Uma grande variedade de tensoativos pode ser empregada no desenvolvimento de emulsões; entretanto, apenas um número restrito é aprovado para uso em preparações oftálmicas. Reações inflamatórias, dor e irritação local podem estar associadas com o uso desses adjuvantes <sup>15</sup>. Lecitinas são tensoativos de origem natural amplamente empregados no desenvolvimento de nanoemulsões, devido principalmente à sua biocompatibilidade. Essas são misturas complexas de fosfolípideos extraídos da gema de ovo ou da soja, cujo maior componente é a fosfatidilcolina <sup>27</sup>. A Tabela 1 demonstra o emprego de lecitina na composição de praticamente todas as nanoemulsões descritas na literatura

utilizada, sendo que a concentração usual está compreendida entre 1,2 e 2,4% para emulsões contendo 10 e 20% de fase interna, respectivamente.

Devido à composição heterogênea das lecitinas, a estabilidade das nanoemulsões obtidas pode variar de maneira significativa. Assim, a combinação de lecitinas com tensoativos sintéticos (co-tensoativos), como o polissorbato 80 <sup>28</sup>, Miranol MHT<sup>®</sup> <sup>29</sup> e principalmente o poloxâmero 188 <sup>6,13,15,24,27,30</sup>, tem sido descrita na preparação de nanoemulsões. O poloxâmero 188 é um copolímero do óxido de etileno e propileno, de natureza não iônica, extensivamente utilizado por suas propriedades de estabilização estérica de estruturas coloidais <sup>30</sup>. Nanoemulsões contendo o poloxâmero 188 apresentaram uma maior estabilidade em relação a outros tensoativos, como o polissorbato 80, frente à operação de esterilização devido provavelmente a uma maior resistência a sua desidratação durante a autoclavagem <sup>31</sup>.

A adição de outros componentes tensoativos na fase oleosa, como o lipídeo catiônico estearilamina, também tem sido realizada visando uma melhor estabilidade das nanoemulsões devida à

repulsão eletrostática promovida pela carga de superfície. A estearilamina confere uma carga positiva ao núcleo oleoso devido ao seu grupamento amônio ionizado no pH das formulações<sup>24,32</sup>.

#### *Outros adjuvantes*

O ajuste da tonicidade das formulações através da adição de um agente isotonzante é necessário nas formas de uso ocular. No desenvolvimento de nanoemulsões, o glicerol, utilizado em concentrações em torno de 2,5%, é o único adjuvante descrito na literatura com esta finalidade, como pode ser observado na Tabela 1<sup>6,16,19,21,23,29,30,32</sup>.

O pH das nanoemulsões é geralmente ajustado com soluções aquosas de HCl ou NaOH a valores próximos a 7,0 por razões fisiológicas, bem como para evitar a hidrólise de TCM, TCL e fosfolípidos formando ácidos graxos livres. Eletrólitos são utilizados como isotonzantes e tamponantes de formas oftálmicas, contudo, são desaconselhados para nanoemulsões uma vez que interagem fortemente com colóides, influenciando a sua estabilidade<sup>33</sup>.

Apenas alguns estudos relatam a adição de conservantes na composição de nanoemulsões de uso ocular. Como um exemplo, a utilização de cloreto de benzalcônio (0,01%) em nanoemulsões contendo ciclosporina A foi descrito por Abdulrazik *et al.*<sup>6</sup>. Entretanto, na potencial utilização desses sistemas em frascos multidose, o emprego de conservantes reveste-se de especial importância. Sznitowska *et al.*<sup>34</sup> demonstraram a necessidade da otimização da concentração dos conservantes e combinação dos mesmos, devido à potencial interação dos conservantes à estrutura coloidal, interferindo tanto nas propriedades físico-químicas das formulações quanto na eficácia do conservante.

Devido à sua sensibilidade ao oxigênio, a adição de antioxidantes é geralmente empregada nas nanoemulsões contendo fosfolípidos e óleos vegetais<sup>35</sup>. A oxidação desses constituintes influencia fortemente a estabilidade física do sistema<sup>25</sup>. O  $\alpha$ -tocoferol tem sido correntemente incorporado à fase interna oleosa de nanoemulsões contendo indometacina, ciclosporina, piroxicam,  $\delta$ -8-THC, entre outros<sup>15,17,29,32</sup>.

### **Técnicas de preparação**

#### *Métodos físicos*

O procedimento mais correntemente empregado na preparação de nanoemulsões é a emulsificação clássica seguida da redução do diâme-

tro médio através de métodos físicos<sup>18,19,21,23,24,28-30,36,37</sup>. Este procedimento pode ser dividido em duas fases distintas. Em uma primeira etapa, as fases aquosa e oleosa, contendo os componentes hidro ou lipofílicos, respectivamente, são aquecidas separadamente (~70 °C) e emulsionadas através do uso de homogeneizadores de alta velocidade (como Ultraturrax® e Politron®). A emulsão primária obtida apresenta um diâmetro de gotícula submicrométrico<sup>25</sup>, influenciado pelo equipamento utilizado e pelas condições operacionais. Após resfriamento, na segunda etapa, o diâmetro de gotícula é reduzido até cerca de 100 a 200 nm através da utilização de homogeneizadores de alta pressão ou microfluidizadores. A otimização das condições, como pressão e número de ciclos de homogeneização, é geralmente determinada experimentalmente para cada sistema desenvolvido e tipo de equipamento utilizado<sup>38</sup>.

#### *Emulsificação espontânea*

Como alternativa, a técnica de emulsificação espontânea seguida de deslocamento de solvente, também foi descrita para a preparação de nanoemulsões contendo indometacina<sup>13,14</sup> e anfotericina B<sup>39</sup>. Nesta técnica, o fármaco lipofílico é dissolvido em um solvente orgânico juntamente com o óleo que constitui a fase interna da preparação e com um tensoativo lipofílico. A fase dispersante é formada por água e frequentemente adicionada de um segundo tensoativo de natureza hidrofílica. Após, verte-se a fase orgânica sobre a aquosa mediante agitação moderada e o solvente orgânico é retirado por destilação à pressão reduzida. Esse procedimento apresenta como vantagens a possibilidade de preparação de pequenos volumes de amostra em baixas temperaturas, o que pode ter interesse para fármacos termolábeis<sup>38</sup>.

#### *Preparação extemporânea*

Além dos procedimentos supra-citados, alguns autores descreveram a incorporação de fármacos a nanoemulsões disponíveis comercialmente. Cohen *et al.*<sup>10</sup> relataram a preparação extemporânea de nanoemulsões contendo anfotericina B através da simples mistura do fármaco previamente dissolvido em soluções de hidróxido de sódio a uma nanoemulsão de uso parental, o Intralipid® (Pharmacia). Embora este procedimento seja útil para avaliar a influência do veículo nas propriedades de alguns fármacos, Floyd *et al.*<sup>35</sup> apontam limitações associadas a este procedimento, como a precipitação

do fármaco na fase aquosa externa e a influência do solvente adicionado na estabilidade física do sistema.

### **Propriedades das nanoemulsões**

#### *Diâmetro de gotícula*

Nanoemulsões de uso ocular apresentam-se como sistemas coloidais monodispersos com diâmetro de gotícula compreendido entre 100 e 200 nm, sendo que esta propriedade é fortemente influenciada pelas condições experimentais empregadas no procedimento de emulsificação/homogeneização<sup>24,27</sup> ou emulsificação espontânea<sup>13,14</sup>. A avaliação da distribuição e diâmetro médio de gotícula é geralmente realizada através de espectroscopia de correlação de fótons e também por técnicas complementares de microscopia como transmissão e criofratura<sup>25</sup>.

Além da técnica de preparação, a composição qualitativa e quantitativa da formulação exerce uma influência marcante no diâmetro médio de gotícula. O efeito de parâmetros ligados às propriedades físico-químicas dos óleos utilizados como a sua composição, viscosidade e tensão interfacial tem sido investigado<sup>9,22</sup>. Entretanto, a seleção do tipo e da concentração dos tensoativos empregados no desenvolvimento das nanoemulsões representa a estratégia mais descrita. A literatura apresenta estudos de otimização do diâmetro de gotícula de nanoemulsões da maioria dos fármacos oftálmicos estudados através da adição de co-tensoativos como o poloxâmero 188<sup>24</sup>, o polissorbato 80<sup>11,28</sup> e o Miranol MHT<sup>®</sup><sup>23,29</sup>.

A caracterização do diâmetro de gotícula tem sido correntemente utilizada na investigação da estabilidade física de nanoemulsões contendo fármacos oftálmicos. Fenômenos de instabilidade de sistemas emulsionados como agregação, floculação e coalescência podem ser acompanhados através da evolução do diâmetro médio, bem como da distribuição do tamanho de gotícula. Estudos de estabilidade de nanoemulsões em função do tempo<sup>29</sup>, da temperatura de armazenamento<sup>32</sup> e do pH<sup>23,24</sup>, têm sido descritos para diferentes fármacos oftálmicos.

A incorporação de alguns fármacos em nanoemulsões também pode exercer uma influência sobre o diâmetro e distribuição das gotículas. Um aumento significativo do diâmetro de gotícula e índice de dispersão de nanoemulsões previamente obtidas, após a incorporação extemporânea de pilocarpina e anfotericina B, constituídas apenas de lecitina como tensoativo, foi evidenciado, sendo atribuído a uma provável

interação destes fármacos com esse tensoativo<sup>10,20,28</sup>.

#### *Potencial zeta*

O potencial zeta reflete a composição da interface das nanoemulsões, seja em relação aos tensoativos formadores do filme interfacial ou em relação a presença de fármacos ou outras moléculas associadas à interface<sup>40</sup>. A sua determinação é geralmente realizada através de técnicas eletroforéticas específicas<sup>25</sup>. Um elevado valor de potencial zeta em módulo (> 30 mV) é importante para a estabilidade físico-química das emulsões uma vez que forças repulsivas tendem a evitar possíveis agregações da fase interna<sup>25</sup>.

Lecitinas são misturas de vários fosfolípidos utilizadas na composição de praticamente todas as nanoemulsões de uso ocular (Tabela 1). Lecitinas são constituídas majoritariamente de fosfatidilcolina e, em pequenas quantidades, de lípidos ácidos que fornecem um elevado potencial zeta negativo (até cerca de -50 mV) à fase interna em pH 7,0. Contudo, o potencial zeta de nanoemulsões estabilizadas por fosfolípidos pode ser significativamente reduzido em pH ácidos, podendo comprometer assim a estabilidade física do sistema<sup>25,41</sup>. Com a adição de co-tensoativos, como o Miranol<sup>®</sup>, que tem caráter anfotérico numa faixa de pH de 4 a 10, a influência do pH no potencial zeta das formulações pode ser minimizada<sup>23</sup>.

Além dos tensoativos clássicos, outros componentes de potencial localização interfacial podem interferir na carga de superfície. O ácido oléico, por exemplo, tem sido proposto como um estabilizador de emulsões, devido à possibilidade de ionizar-se, conferindo um elevado potencial zeta negativo ao sistema<sup>21</sup>. Em contrapartida, um elevado potencial zeta positivo pode ser obtido através da adição de lípidos catiônicos, como a estearilamina, a oleilamina, o DOTAP, entre outros<sup>6,27,37</sup>. Constituintes que possivelmente penetram no filme interfacial das emulsões também interferem na carga de superfície, pois podem modificar a cobertura dos componentes pelo agente emulsificante. Um exemplo disso é o  $\alpha$ -tocoferol, que quando adicionado a uma emulsão contendo estearilamina ou ácido oléico, torna a emulsão mais negativa<sup>42</sup>.

#### *pH*

O pH final das nanoemulsões deve levar em consideração a estabilidade do fármaco no veículo e a estabilidade da forma farmacêutica,

bem como aspectos fisiológicos relacionados com a via de administração. Nanoemulsões são física e quimicamente mais estáveis em pH de 6,5 a 8,0. Esse fato está relacionado à taxa de hidrólise dos triglicerídeos e fosfolipídeos que, ao dissociarem-se, liberam ácidos graxos livres<sup>13,28</sup>. Os ácidos graxos livres formados reduzem o pH das formulações, sendo empregados como indicadores de estabilidade de nanoemulsões em diferentes condições de temperatura e armazenamento e frente à operação de esterilização<sup>32</sup>.

O pH final das formulações também pode ter uma influência marcante na localização e estabilidade do fármaco associado à nanoestrutura. A indometacina representa um exemplo clássico da influência do pH. Muchtar *et al.*<sup>29</sup> desenvolveram nanoemulsões cujo pH final foi ajustado até 3,8, visando prevenir a ionização do fármaco, e conseqüentemente, promover sua localização na fase oleosa, uma vez que o  $pK_a$  da indometacina é 4,5. Além disso, a indometacina é estável em pH ácidos. Em formulações com pH ajustado em torno de 7,0, apenas cerca de 12% da indometacina encontra-se solúvel na fase oleosa, sendo que o restante está solúvel na fase aquosa. No caso da pilocarpina, a sua forma não ionizada ocorre em pH neutros e fracamente alcalinos, entretanto, neste pH favorável para a estabilidade da formulação, a pilocarpina é extremamente instável. Sznitowska *et al.*<sup>21</sup> relatam o desenvolvimento de nanoemulsões contendo pilocarpina em pH 6,5. Muito embora neste pH não se tenha a maior biodisponibilidade do fármaco, pH superiores não seriam aceitáveis devido a sua rápida degradação.

## ASPECTOS BIOFARMACÊUTICOS

### **Ciclosporina A**

A ciclosporina A (CsA) é um endecapeptídeo cíclico, que apresenta um potente e bem estabelecido efeito imunomodulador, sendo utilizada no tratamento tópico de doenças inflamatórias como a *Keratoconjunctivitis sicca* (KCS) ou síndrome do olho seco<sup>43</sup>. Devido à reduzida hidrossolubilidade da CsA, a sua incorporação em nanoemulsões foi descrita por Ding *et al.*<sup>11</sup>. Nanoemulsões contendo CsA foram administradas em coelhos e cães em diferentes protocolos em dose única e múltipla. A CsA penetra nos tecidos extraoculares, como córnea e conjuntiva, em concentrações adequadas para uma imunomodulação local enquanto que a penetração nos tecidos intraoculares é reduzida e a absorção sistêmica considerada mínima<sup>43</sup>. A CsA veiculada em nanoemulsões é bem tolerada

apresentando uma pequena hiperemia após aplicações repetidas (8 vezes) durante 7 dias em olhos de coelhos<sup>11</sup>. Esses resultados promissores conduziram os autores a relizar os estudos clínicos de Fase II e III<sup>44,45</sup>.

Stevenson *et al.*<sup>44</sup> realizaram um estudo clínico envolvendo 162 pacientes com diagnóstico de KCS moderada ou severa. Desse total, 129 fizeram uso de nanoemulsões contendo diferentes concentrações de CsA e 33 utilizaram somente veículo. Diferentes protocolos foram testados e as nanoemulsões contendo CsA mostraram-se seguras, bem toleradas e melhoraram significativamente os sinais oculares de KCS. Um estudo clínico posterior, realizado com 877 pacientes comparou a eficácia e a segurança de emulsões oftálmicas contendo 0,05 e 0,1% de CsA em relação ao veículo (emulsões em ausência de CsA). Ambas as formulações melhoraram significativamente os sintomas da doença, não tendo sido relatados efeitos adversos importantes<sup>45</sup>. Foi observada uma melhora nos sintomas da KCS até mesmo após a administração de emulsões em ausência de CsA, indicando um importante papel do veículo da formulação na eficácia do tratamento. Acredita-se que a presença do óleo de rícino na emulsão forma uma barreira sobre o filme lacrimal, reduzindo a evaporação do limitado volume lacrimal presente nos pacientes com olhos secos<sup>44-46</sup>.

Considerando que as células epiteliais da córnea apresentam carga negativa, nanoemulsões carregadas positivamente contendo CsA foram desenvolvidas visando aumentar as interações entre a estrutura coloidal e a córnea<sup>32</sup>. Abdulrazik *et al.*<sup>6</sup> avaliaram a influência da carga superficial das nanoemulsões contendo CsA quanto a sua penetração nos diferentes tecidos oculares. Uma nanoemulsão carregada positivamente ( $\xi = +60$  mV), devido à presença do lipídio catiônico estearilamina, promoveu um aumento da penetração da CsA na córnea quando comparada a uma nanoemulsão carregada negativamente ( $\xi = -40$  mV). Na íris, os dois tipos de emulsões apresentaram penetração semelhante, enquanto na esclera-córóide-retina também não foi observada diferença durante os períodos de tempo iniciais. Entretanto, após 60 e 120 min, as concentrações de CsA foram significativamente superiores para a nanoemulsão carregada positivamente, indicando a influência da carga de superfície na biodisponibilidade da CsA.

### **Indometacina**

A indometacina é um anti-inflamatório não

esteróide que inibe a síntese das prostaglandinas e apresenta conhecida eficácia na diminuição da irritação intra-ocular após extração de catarata e edema macular cistóide<sup>47,48</sup>. A influência de nanoemulsões, e de outros sistemas coloidais poliméricos, na sua biodisponibilidade após administração ocular tópica foi investigada por Calvo *et al.*<sup>13,14</sup>. Um aumento de cerca de 3 e 4 vezes na área sob a curva (ASC) da indometacina na córnea e humor aquoso, respectivamente, foi observado quando este fármaco foi veiculado em nanoemulsões, comparado a uma solução aquosa de indometacina na mesma concentração (Indocollyre<sup>®</sup>), como pode ser observado na Tabela 2<sup>13</sup>. Resultados *ex vivo* descritos por Calvo *et al.*<sup>14</sup> e Muchtar *et al.*<sup>29</sup> estão em acordo com os resultados obtidos *in vivo*. Um aumento superior a 3,5 vezes no coeficiente de permeabilidade da indometacina veiculada em nanoemulsões foi observado em córneas de coelhos, em comparação ao Indocollyre<sup>®</sup>. Entretanto, o mecanismo pelo qual as nanoemulsões aumentam o transporte através da córnea não está, até o momento, completamente elucidado. O aumento da interação com os tecidos oculares e a troca de lipídeos das partículas oleosas com o epitélio ocular são fatores considerados pelos autores no mecanismo de penetração ocular da indometacina<sup>14,29</sup>.

Em um outro estudo, Klang *et al.*<sup>30</sup> avaliaram a influência da carga de superfície na penetração ocular da indometacina. Uma nanoemulsão contendo o lipídeo catiônico estearilamina promoveu uma absorção significativamente superior da indometacina no humor aquoso e na esclera/retina quando comparado à nanoemulsão em ausência deste lipídeo e ao Indocollyre<sup>®</sup> (Tabela 2). As interações eletrostáticas estabelecidas entre nanoemulsões catiônicas e o epitélio córneo carregado negativamente podem prolongar o tempo de permanência da emulsão

conduzindo a uma maior penetração para os tecidos internos do olho<sup>30</sup>. Os autores também relataram que não foram observados efeitos tóxicos ou resposta inflamatória ocular após oito instilações diárias consecutivas em um período de 5 dias das referidas nanoemulsões, o que indica que o aumento da biodisponibilidade não estaria relacionado com possíveis efeitos lesivos da córnea associados à presença do lipídeo catiônico estearilamina conforme evidenciado em estudo anterior<sup>49</sup>. Entretanto, os resultados obtidos por Klang *et al.*<sup>30</sup> contrariam àqueles obtidos anteriormente por Calvo *et al.*<sup>13,14</sup>, que indicaram um aumento na concentração de indometacina na córnea promovido pelas nanoemulsões. Essas discrepâncias devem estar relacionadas com as diferentes formulações e condições experimentais empregadas<sup>30</sup>.

### **Pilocarpina**

A pilocarpina é um fármaco parassimpatomimético empregado em pacientes com glaucoma para reduzir a pressão intraocular. Conhecida por seu efeito miótico, ela é utilizada desde o século passado, sendo comercializada principalmente sob a forma de soluções aquosas contendo de 1 a 4% do fármaco<sup>50</sup>. O desenvolvimento de nanoemulsões contendo a pilocarpina a fim de prolongar o tempo de contato do fármaco com os tecidos oculares foi proposto por alguns pesquisadores. Em 1994, Naveh *et al.*<sup>18</sup> avaliaram a atividade de uma nanoemulsão contendo pilocarpina em comparação com uma solução aquosa do fármaco. A aplicação de uma dose única da emulsão induziu uma prolongada e progressiva redução da pressão intraocular em coelhos normotensos, que atingiu um valor máximo 29 horas após a instilação. A solução aquosa teve um início de ação mais rápido (cerca de 2 h após a administração, comparado as 5 h necessárias para a emulsão), mas a duração

Formulação	Klang <i>et al.</i> <sup>30</sup>			Calvo <i>et al.</i> <sup>13</sup>	
	NE	NEC	Indocollyre <sup>®</sup>	NE	Indocollyre <sup>®</sup>
Córnea	419,8	461,5	621,5	907,4	292,3
Conjuntiva	198,4	356,3	380,3	ND	ND
Humor Aquoso	24,9	34,4	19,4	68,3	17,7
Esclera-retina	47,4	70,4	44,7	ND	ND

**Tabela 2.** ASC de diferentes nanoemulsões lipídicas (NE) contendo indometacina (1 mg/mL) após aplicação tópica ocular em coelhos em comparação com a solução aquosa disponível comercialmente (indocollyre<sup>®</sup>). (NE) Nanoemulsão (NEC) Nanoemulsão catiônica (ND) Não determinado.

do efeito foi menor (5 h). Assim, a redução percentual máxima, calculada em relação a uma curva de base que representa a variação da pressão intraocular, foi de 18% para a solução aquosa e 28,5% para a nanoemulsão, ou seja, a veiculação da pilocarpina na nanoemulsão possibilitou um efeito farmacológico maior e ação prolongada.

Em um outro estudo, Sznitowska *et al.*<sup>21</sup> descreveram um perfil similar de prolongamento do efeito miótico quando a pilocarpina foi veiculada em nanoemulsões, de formulação semelhante às descritas por Naveh *et al.*<sup>18</sup>. Sznitowska *et al.*<sup>21</sup> sugerem que o efeito observado poderia estar relacionado com uma promoção da absorção em função da composição das nanoemulsões (presença de tensoativos). Entretanto, esse efeito é pH dependente, sendo que são observadas diferenças estatisticamente significativas apenas para as formulações obtidas em pH 6,5.

Estratégias como o desenvolvimento de nanoemulsões contendo pró-fármacos da pilocarpina<sup>19</sup>, bem como a sua complexação com o ácido monododecilsulfônico<sup>20</sup> ou o ácido oleico<sup>21</sup> têm sido investigadas no prolongamento da atividade deste fármaco. Sznitowska *et al.*<sup>19</sup> veicularam o O,O'-dipivaloil (1,2-etileno) diéster do ácido pilocárpico, um pró-fármaco da pilocarpina. Após a administração ocular, a redução do diâmetro da pupila observado para o pró-fármaco veiculado na nanoemulsão foi superior ao da solução, como apontado pela ASC de  $9252 \pm$

1345 e  $6845 \pm 1967$  % x min. Esses resultados indicam que o pró-fármaco conduz a uma miose mais prolongada e mais intensa, quando comparado com uma solução de cloridrato de pilocarpina. Os autores ainda evidenciaram uma redução significativa da irritação local quando o pró-fármaco da pilocarpina foi veiculado em nanoemulsões.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse trabalho de revisão demonstra, em sua primeira parte, uma similaridade entre o desenvolvimento farmacotécnico de nanoemulsões de uso ocular e aquelas utilizadas para a administração parenteral<sup>35</sup>. A seleção de materiais biocompatíveis e biodegradáveis, bem como a necessidade de atender a critérios como esterilidade, isotonia, pH, entre outros, para as duas vias de administração, estão na origem dessa similaridade.

Quanto aos aspectos biofarmacêuticos, o uso de nanoemulsões como veículo de fármacos de reduzida solubilidade em água representa provavelmente a maior potencialidade desses sistemas, sendo que o aumento da biodisponibilidade e/ou atividade de alguns fármacos tem sido demonstrada. A aprovação pelo *Food and Drug Administration* (FDA), em dezembro de 2002, do Restasis®, uma nanoemulsão contendo CsA a 0,05% para terapia em pacientes com KCS<sup>11</sup> demonstra o interesse do uso de nanoemulsões para a administração de fármacos oftálmicos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Lang, J.C. (1995) *Advan. Drug Deliv. Rev.* **16**: 39-43.
- Järvinen, K., T. Järvinen & A. Urtti (1995) *Advan. Drug Deliv. Rev.* **16**: 3-19.
- Peyman, G.A. & G.J. Ganiban (1995) *Advan. Drug Deliv. Rev.* **16**: 107-23.
- Washington, N., C. Washington & C. Wilson (2001) "Ocular Drug Delivery" in "Physiological Pharmaceutics - Barriers To Drug Absorption" (Washington, N., C. Washington & C. Wilson. 2. ed.) Taylor and Francis, págs. 249-69.
- Ding, S. (1998) *Pharm. Sci. Technol. Today.* **1**: 328-35.
- Abdulrazik, M., S. Tamilvanan, K. Khoury & S. Benita (2001) *Sci. Techniq. Pratiq. Pharm. Sci.* **11**: 427-32.
- Law, S.L., K.J. Huang, & C.H. Chiang (2000) *J. Controll. Rel.* **63**: 135-40.
- Cavalli, R., M.R. Gasco, P. Chetoni, S. Burgalassi & M.F. Saettone (2002) *Int. J. Pharm.* **238**: 241-5.
- Vandamme, T.F. (2002) *Progr. Retinal Eye Res.* **21**: 15-34.
- Cohen, T., H. Sauvageon-Martre, D. Brossard, F.D. Hermies, C. Bardin, F. Chast & J.C. Chau-meil (1996) *Int. J. Pharm.* **137**: 249-54.
- Ding, S., W.L. Tien & O. Olejnik (1995) Nonirritating Emulsions For Sensitive Tissue. U.S. Patent 5, 474, 979.
- Galatoire, O., C. Baudouin, P.J. Pisella & F. Brignole (2003) *J. Franç. Ophthalmol.* **26**: 337-43.
- Calvo, P., M.J. Alonso, J.L. Vila-Jato & J.R. Rohinson (1996a) *J. Pharm. Pharmacol.* **48**: 1147-52.
- Calvo, P., J.L. Vila-Jato & M.J. Alonso (1996b) *J. Pharm. Sci.* **85**: 530-36.



15. Muchtar, S., S. Almog, M.T. Torraca, M.F. Saetone & S. Benita (1992) *Ophthalm. Res.* **24**: 142-9.
16. Naveh, N., C. Weissman, S. Muchtar, S. Benita & R. Mechoulam (2000) *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* **238**: 334-8.
17. Klang, S.H., C.S. Siganos, S. Benita & J. Frucht-Pery (1999) *J. Control. Rel.* **57**: 19-27.
18. Naveh, N., S. Muchtar & S. Benita (1994) *J. Ocular Pharmacol.* **10**: 509-20.
19. Sznitowska, M., K. Zurowska-Pryczowska, S. Janicki & T. Järvinen (1999) *Int. J. Pharm.* **184**: 115-20.
20. Sznitowska, M., K. Zurowska-Pryczowska, E. Dabrowska & S. Janicki (2000) *Int. J. Pharm.* **202**: 161-4.
21. Sznitowska, M., S. Janicki, K. Zurowska-Pryczowska & J. Mackiewicz (2001) *J. Microencaps.* **18**: 173-81.
22. Saetone, M.F., B. Giannaccini & D. Monti (2000) "Ophthalmic Emulsions And Suspensions", in "Pharmaceutical Emulsions And Suspensions" (Nielloud, F. & G. Marti-Mestres) Marcel Dekker, Inc. págs. 303-22.
23. Muchtar, S. & S. Benita (1994) *Colloids Surf.* **91**: 181-90.
24. Klang, S.H., A. Bazkin & S. Benita (1996) *Int. J. Pharm.* **132**: 33-44.
25. Benita, S. & M.Y. Levy (1993) *J. Pharm. Sci.* **82**: 1069-79.
26. Traul, K.A. (2000) *Food Chem. Toxicol.* **38**: 79-98.
27. Klang, S.H. & S. Benita (1994) *Bull. Techniq. Gattefossé.* **87**: 29-40.
28. Zurowska-Pryczowska, K., M. Sznitowska & S. Janicki (1999) *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **47**: 225-60.
29. Muchtar, S., M. Abdulrazik, J. Frucht-Pery & S. Benita (1997) *J. Control. Rel.* **44**: 55-64.
30. Klang, S.H., M. Abdulrazik & S. Benita (2000) *Pharm. Develop. Technol.* **5**: 1-12.
31. Jumaa, M. & B.W. Muller (1999) *Int. J. Pharm.* **64**: 217-22.
32. Tamilvanan, S., K. Khoury, D. Gilhar & S. Benita (2001) *Sci. Techniq. Pratiq. Pharm. Sci.* **11**: 421-6.
33. Washington, C. (1996) *Adv. Drug Deliv. Rev.* **20**: 131-45.
34. Sznitowska, M., S. Janicki, E. Dabrowska & M. Gajewska (2002) *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **15**: 489-95.
35. Floyd, A.G. (1999) *Pharm. Sci. Technol. Today* **2**: 134-43.
36. Teixeira, H., C. Dubernet, F. Puisieux, S. Benita & P. Couvreur (1999) *Pharm. Res.* **16**: 30-6.
37. Teixeira, H., C. Dubernet, V. Rosilio, A. Laigle, J.R. Deverre, D. Scherman, S. Benita, P. Couvreur (2001) *J. Control. Rel.* **70**: 243-55.
38. Teixeira, H., E. Martini, A.M. da Silveira & C. Dubernet (2002) *Cad. Farm.* **18**: 89-93.
39. Yu, W., E.S. Tabosa do Egito, G. Barrat, H. Fessi, J.P. Devissaguet & F. Puisieux (1993) *Int. J. Pharm.* **89**: 139-46.
40. Schaffazick, S.R., S.S. Guterres, A.R. Pohlmann & L. Lucca Freitas (2003) *Quim. Nova.* **26**: 726-37.
41. Washington, C., A. Athersuch & D.J. Kynoch (1990) *Int. J. Pharm.* **64**: 217-22.
42. Elbaz, E., A. Zeevi, S.H. Klang & S. Benita (1993) *Int. J. Pharm.* **96**: 01-06.
43. Acheampong, A.A., M. Shackleton, D.D. Tang-Liu, S. Ding, M.E. Stern & R. Decker (1999) *Curr. Eye Res.* **18**: 91-03.
44. Stevenson, D., J. Tauber & B.L. Reis (2000) *Ophthalmol.* **107**: 967-74.
45. Sall, K., O.D. Stevenson, T.K. Mundorf & B.L. Reis (2000) *Ophthalmol.* **107**: 631-9.
46. Lallemand, F., O. Felt-Baeyens, K. K. Besseghir, F. Behar-Cohen & R. Gurny (2003) *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **56**: 307-18.
47. Sawa, M. & K. Masuda (1976) *Jap. J. Ophthalmol.* **20**: 514-9.
48. Miyake, K., S. Sugiyama, I. Norimatsu & T. Ozawa. (1978) *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* **209**: 83-8.
49. Klang, S.H., J. Frucht-Pery, A. Hoffman & S. Benita (1994) *J. Pharm. Pharmacol.* **46**: 986-93.
50. Costa, M.B. & O.C.N. Neto (2002) "Aspectos Básicos da Farmacoterapêutica Ocular", in "Farmacologia" (Silva, P. 6. ed.) Guanabara Koogan, págs.1238-48.