



FACULDADE PERNAMBUCANA DE SAÚDE

TCC FPS 2022

**APLICAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS PARA ADMINISTRAÇÃO
TRANSDÉRMICA DIRECIONADA À DISTRIBUIÇÃO LINFÁTICA
DE FÁRMACOS: UMA ABORDAGEM TEÓRICA E PRÁTICA
PARA O TRATAMENTO DO HIV**

Estudante: Maria Eduarda Vieira Tavares

Orientadora: Thalita Pedon de Araújo Cardoso

Co-orientadora: Luise Lopes Chaves

RECIFE – PE, 2022

Lista de autores e suas respectivas instituições:

ORIENTADOR

Nome completo: Thalita Pedon de Araújo

Função: Tutora da Faculdade Pernambucana de Saúde (FPS).

Local de trabalho: Faculdade Pernambucana de Saúde (FPS).

Telefone: (81) 992636559

E-mail: thalitapedon@fps.edu.br

CO-ORIENTADORA:

Nome completo: Luise Lopes Chaves

Função: Professora Visitante

Local de Trabalho: Universidade Federal de Alagoas - UFAL

Telefone: (81) 998990071

E-mail: luiselopes@gmail.com

ESTUDANTE:

Nome completo: Maria Eduarda Vieira Tavares

Função: Graduanda 9 período, Farmácia, FPS

Telefone: 81 99999-2026

E-mail: meduardatavares1@gmail.com

RESUMO

A síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) é uma doença causada pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) que levou a óbito mais de 40 milhões. O tratamento consiste na administração de antirretrovirais (ARV), os quais podem agir em diversas etapas do ciclo viral. Entretanto, mesmo durante o tratamento, o vírus consegue se acumular em pequenos depósitos dentro de tecidos inacessíveis, como os gânglios linfáticos, escapando do alvo dos ARV. Explorar esses reservatórios constituem um desafio no tratamento do HIV, sendo um dos principais fatores responsáveis pela resistência medicamentosa. As nanopartículas (NPs) vem sendo bastante exploradas nos últimos anos pois permitem modular a liberação do fármaco, reduzir sua toxicidade, protegê-los do metabolismo hepático e direcioná-los para as tecidos e células alvo. Em paralelo, a via transdérmica é uma via de administração que tem como característica aplicação na pele a fim de atingir a circulação, e é uma alternativa para as terapias de via oral e parenteral. O efavirenz (EFZ) pertence à classe de ARV dos inibidores da transcriptase reversa análogo de nucleosídeo (ITRNN). Promove supressão da replicação viral por longo prazo e possui perfil de toxicidade favorável. Além disso, tem baixa solubilidade em água e longa meia-vida, o que é ideal para a veiculação em nanossistemas lipofílicos com afinidade cutânea. As NPs poliméricas são um dos nanossistemas mais utilizados na atualidade e o ácido poli (lático-co-glicólico) - PLGA tem ganhado atenção devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e segurança. O objetivo desse trabalho foi realizar um levantamento bibliográfico acerca do uso de sistemas transdérmico como inovação para a HIV; e, paralelamente desenvolver nanopartículas poliméricas com um anti-retroviral . A formulação foi obtida após estudo de pré-formulação onde foram avaliadas as variáveis: quantidade de PLGA, quantidade de fármaco, volume de fase orgânica, volume de fase aquosa e presença de surfactante

na fase aquosa. A formulação obtida foi caracterizada por tamanho de partícula, índice de polidispersão (PDI), potencial zeta (PZ) eficiência de encapsulação (EE) e capacidade de carga (CG). As NPs foram preparadas pelo método de nanoprecipitação, utilizando acetona como fase orgânica e água deionizada como fase aquosa com Tween 80®. O EFZ e o PLGA foram previamente solubilizados na fase orgânica que foi injetada na fase aquosa sob agitação magnética. A nanosuspensão foi mantida sob agitação por 3h até completa evaporação do solvente. O tamanho das partículas foram adequados para a permeação transdérmica com PZ negativo, caracterizando boa estabilidade coloidal. A EE evidenciou uma veiculação adequada do EFZ no nanossistema, o que torna as NPs de PLGA uma plataforma promissora a liberação transdérmica de EFZ com objetivo de atingir o sistema linfático.

Palavras-Chave: HIV; Liberação transdérmica; Nanopartículas.

ABSTRACT

Acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) is a disease caused by the human immunodeficiency virus (HIV) that has killed more than 40 million people. The treatment is based on the administration of antiretrovirals (ARVs), which can act at different stages of the viral cycle. However, even during treatment, the virus manages to accumulate in small deposits within inaccessible tissues, such as lymph nodes, escaping ARV'S target. Explore these reservoirs constitutes a challenge in the treatment of HIV, being one of the main factors responsible for drug resistance. Nanoparticles (NPs) have been extensively explored in recent years as they allow modulating drug release, reducing toxicity, protecting them from hepatic metabolism and directing them to target tissues and cells. In parallel, the transdermal route is characteristically applied to the skin in order to reach the circulation, and is an alternative to oral and parenteral therapies. Efavirenz (EFZ) belongs to the ARV class of nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs). It promotes long-term suppression of viral replication and has a favorable toxicity profile. In addition, it has low water solubility and a long half-life, which is ideal for delivery in lipophilic nanosystems with cutaneous affinity. Polymeric NPs are one of the most used nanosystems today and poly(lactic-co-glycolic) acid - PLGA has gained attention due to its biocompatibility, biodegradability and safety. The objective of this work was to carry out a bibliographic survey about the use of transdermal systems as an innovation for HIV; and, in parallel, developing polymeric nanoparticles charged with EFZ. The formulation was obtained after a pre-formulation study where the variables were evaluated: amount of PLGA, amount of drug, volume of organic phase, volume of aqueous phase and presence of surfactant in the aqueous phase. The formulation obtained was characterized by particle size, polydispersity index (PDI), zeta potential (PZ), encapsulation efficiency (EE) and load capacity (CG). The NPs were prepared by the

nanoprecipitation method, using acetone as the organic phase and deionized water as the aqueous phase with Tween 80®. EFZ and PLGA were previously solubilized in the organic phase which was injected into the aqueous phase under magnetic stirring. The nanosuspension was kept under stirring for 3h until complete solvent evaporation. The particle sizes were suitable for transdermal permeation with negative PZ, featuring good colloidal stability. The EE showed an adequate delivery of EFZ in the nanosystem, which makes PLGA NPs a promising platform for the transdermal release of EFZ with the purpose of reaching the lymphatic system.

Key words: HIV; Transdermal delivery; Nanoparticles.

SUMÁRIO

I. INTRODUÇÃO.....	6
II. JUSTIFICATIVA.....	8
III. OBJETIVOS.....	14
IV. IV. MÉTODOS.....	14
4.1. DESENHO DO ESTUDO.....	14
4.2 LOCAL DE ESTUDO.....	17
4.3 PERIODO DO ESTUDO.....	17
V. ASPECTOS ÉTICOS.....	18
VIII. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	16
IX. CONCLUSÕES.....	34
X. REFERÊNCIAS.....	35

1. INTRODUÇÃO

A síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) é uma das epidemias mais devastadoras do século passado. Desde a sua primeira descrição há 35 anos, o vírus da imunodeficiência humana (HIV) já infectou mais de 75 milhões de pessoas, levando a óbito mais de 40 milhões (1).

O HIV é um retrovírus com genoma RNA, da Família Retroviridae (retrovírus) e subfamília Lentivirinae. Pertence ao grupo dos retrovírus citopáticos e não-oncogênicos que necessitam, para multiplicar-se, de uma enzima denominada transcriptase reversa, responsável pela transcrição do RNA viral para uma cópia DNA, que pode, então, integrar-se ao genoma do hospedeiro. O vírus parasita as células T auxiliares, causando redução significativa na sua população total. Essas células possuem papel crítico na resposta imune, fazendo com que o vírus não mate diretamente, mas sim por infecções oportunistas que ficam com livre entrada nas células humanas.

Existem duas espécies que conhecemos da doença atualmente, HIV-1 e HIV-2. HIV-1 é infecção mais comum, enquanto a HIV-2 prevaleceu mais no oeste da África e demora mais para se desenvolver para AIDS (2).

1.1 Epidemiologia

Entre o ano de 2007 até junho de 2018 foram relatados no SINAN 247.795 casos somente no Brasil sendo 117.415 na região Sudeste, 50.890 na região Sul, 42.215 na região Nordeste, onde, a porcentagem 47,4%, 20,5% e 17,0% respectivamente.

As últimas estimativas do Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV / AIDS (UNAIDS) indicam que mais de 33,3 milhões de pessoas em todo o mundo estão vivendo com a infecção pelo HIV-1 ou AIDS (3).

1.2 O ciclo viral

O ciclo viral se inicia com a entrada do vírus na corrente sanguínea, onde irá se ligar às proteínas de membrana das células TCD4+. A transcriptase usa seu molde de RNA para produzir o DNA, que se insere ao DNA humano. Após isso, a célula humana o transcreve e produz novas moléculas de RNA viral, usando os nucleotídeos, polimerase e energia celular. O RNA do vírus migra para o citosol onde são traduzidos, o vírus, como parasita intracelular, usa os ribossomos e todo o maquinário celular para se traduzir e montar novos vírus.

Conclui-se que, as células humanas viram uma fábrica de novos vírus e param de exercer sua função imunológica, passando a obedecer somente ao DNA viral e ignorando o seu DNA próprio. Conseqüentemente, o sistema imune é drasticamente comprometido e após contaminar-se com DNA viral se encarrega apenas para criar mais e mais DNA viral, tornando-se um verdadeiro maquinário do vírus (4).

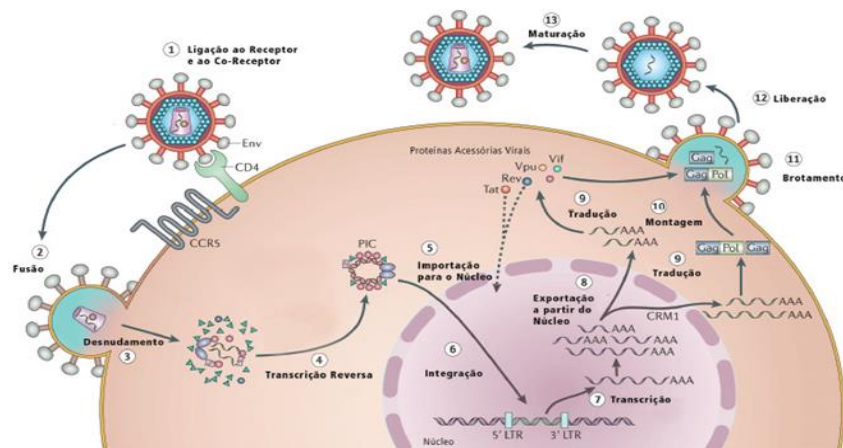


Figura 1: Ciclo de replicação viral do vírus da imunodeficiência humana (HIV). (5)

*PIC: Complexo Pré-Integração; CRM1: manutenção da região do cromossoma 1, Exportin 1; AAA: calda de poliadenina.

1.3 Tratamento atual

De acordo com o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos, publicado em 2018, o tratamento atual consiste na

ingestão de coquetéis, mais conhecidos como antirretrovirais (ARV), os quais podem agir em diversas etapas do ciclo viral. Por muito tempo os ARV reduziram significativamente a morbidade e mortalidade causada por essa infecção, entretanto, com a crescente resistência medicamentosa dos pacientes infectados e a curta meia vida que a maioria desses medicamentos apresenta, faz-se necessário a busca por outras alternativas.

Apesar da eficácia já comprovada dos antirretrovirais, a curta meia vida de alguns desses fármacos confere ao organismo necessidade de doses elevadas e constantes para obter o efeito terapêutico desejado, levando ao surgimento de efeitos indesejados como por exemplo a insuficiência hepática e renal, agitação, alucinações, amnésia, diarreia, náusea, vômito, problemas de pele e problemas de memória (2,6).

Nesse contexto, surge a necessidade de novas abordagens como o desenvolvimento de novos compostos antivirais, desenvolvimento de outras estratégias terapêuticas que limitem a transmissão viral e/ou restaurarem o sistema imunológico dos pacientes.

1.4 Novos sistemas de liberação

Nanociência e nanotecnologias são amplamente vistas com um enorme potencial para trazer benefícios para muitas áreas de pesquisa, e estão atraindo rapidamente os investimentos dos governos e de empresas em muitas partes do mundo. Tem como princípio manipular átomos, moléculas e demais partículas de ordem de grandeza nanométrica com o objetivo de criar novas estruturas de materiais e, com isso, alcançar diferentes propriedades.

As nanopartículas são partículas coloidais cujo tamanho chega a 1 e 1000 nanômetros. Suas propriedades físicas e químicas, e até mecânicas, serão diferentes dos seus materiais de origem. Avanços recentes em nanotecnologia permitiram à comunidade

científica investigar e manipular materiais em nível nanométrico. Os nanossistemas podem ser adaptados para modular a liberação do fármaco, reduzir sua toxicidade associada, proteger os fármacos do metabolismo e direcioná-los para as células, tecidos e compartimentos afetados (7).

1.5 Via transdérmica/ganglionar: estratégia para eliminação de depósitos virais.

O vírus HIV adentra o corpo através das superfícies mucosas e é transportado pelas células dendríticas para os órgãos linfóides, onde é entregue às células T auxiliares TCD4+ ativadas. Logo o vírus começa a se multiplicar para outros locais no corpo. Mesmo durante o tratamento com os coquetéis, o vírus consegue se acumular em pequenos depósitos dentro de tecidos inacessíveis, escapando do alvo do ARV (4,7).

A exploração desses reservatórios é importante pois eles constituem a dificuldade do tratamento da HIV, sendo a parte de maior resistência medicamentosa. Portanto, é crucial a descoberta de métodos para erradicar depósitos virais. Dentre os mais de 25 tipos de ARV, nenhum é eficaz na erradicação dos depósitos virais. Além de acarretar uma série de efeitos colaterais e desafios que incluem a não adesão, a toxicidade dos medicamentos, as interações medicamentosas e o inevitável aparecimento de resistência medicamentosa (4,7).

Via transdérmica é uma forma de administração de fármacos em evolução, que tem como característica aplicação na pele, para uma melhor absorção e é uma alternativa para as terapias de via oral e parenteral. Também conhecidos como sistemas terapêuticos transdérmicos, que são formas farmacêuticas multilamelares (muitas camadas) que possibilitam a liberação de forma controlada na pele. Dessa forma a sua incorporação é mais lenta e prolongada (8, 9).

O surgimento dessa forma farmacêutica aparece como uma solução para limitações de certas vias de administração. Comparando com a oral, no caso da HIV, possui meia vida curta e necessita de ingestão de coquetéis constantemente podendo causar prejuízos ao trato gastrointestinal. A via transdérmica aumenta a biodisponibilidade do fármaco e elimina alguns efeitos prejudiciais que as vias comuns poderiam causar. O recurso à via transdérmica traduz-se numa melhoria da adesão à terapêutica dos doentes infectados com o vírus HIV (8, 10) .

Os macrófagos atuam como um reservatório para o vírus. Com isso, o tratamento medicamentoso da infecção pelo HIV deve envolver o direcionamento de drogas para essas células, além dos linfócitos. Dessa forma, a aplicação transdérmica de fármacos visando atingir os gânglios linfáticos, parece ser uma estratégia promissora para a extinção dos depósitos virais (8, 10).

2. JUSTIFICATIVA

No Brasil, em 2017, foram diagnosticados 42.420 novos casos de HIV e 37.791 casos de aids, com uma taxa de detecção de 18,3/100.000 habitantes (2017), totalizando, no período de 1980 a junho de 2018, quase 1 milhão de casos detectados no país. Desde o ano de 2012, observa-se uma diminuição na taxa de detecção de aids no Brasil, que passou de 21,7/100.000 habitantes (2012) para 18,3/100.000 habitantes em 2017, configurando um decréscimo de 15,7%; essa redução na taxa de detecção tem sido mais acentuada desde a recomendação do “tratamento para todos”, implementada em dezembro de 2013.

Em 2017, quando analisada a mortalidade por UF, onze delas apresentaram coeficiente superior ao nacional, que foi de 4,8 óbitos por 100 mil habitantes, estando

Pernambuco entre eles (5,6). Além disso, Pernambuco representa uma importante parcela na detecção de AIDS no Nordeste. Entre os anos de 2007 a 2017, foi sempre crescente o número de notificações de casos de HIV, passando de pouco mais de 50 casos no ano de 2007 para mais de 2300 casos no ano de 2017, e desde 2015 Pernambuco é o Estado do Nordeste onde houve maior notificação, ganhando para outros estados de importante incidência como Bahia e Ceará.

Desta forma, torna-se ainda mais relevante o investimento em novas estratégias que possam ir de encontro à recomendação do “tratamento para todos” preconizada pelo Ministério da Saúde, que possa trazer benefícios à comunidade Pernambucana no sentido de minimizar os números alarmantes.

O desenvolvimento deste projeto permitiu a obtenção de um novo sistema de liberação com nanocarreadores para uso em pacientes com baixa carga plasmática viral, mas que apresentem depósitos virais nos gânglios linfáticos, passíveis de provocar aumento repentino na carga viral circulante, o que poderia acarretar ineficiência da terapia. Essa linha de pesquisa é bastante inovadora, ainda muito pouco explorada a nível nacional e internacional. A via transdérmica/ganglionar mostra-se muito promissora para casos em que a administração oral não consegue atingir os alvos terapêuticos.

3. OBJETIVOS (geral e específicos)

3.1. Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento bibliográfico acerca do uso de sistemas transdérmicos como inovação para o tratamento do HIV; e, paralelamente desenvolver nanopartículas poliméricas com efavirenz para administração transdérmica/ganglionar, com o intuito de eliminar depósitos virais instalados nos gânglios linfáticos.

3.2. Objetivos específicos

- Realizar uma revisão da literatura acerca do uso de sistemas transdérmicos como inovação para a HIV;
- Realizar estudos de pré-formulação dos nanossistemas com Efavirenz (EFZ)
- Obter NPs com EFZ, de acordo com metodologia previamente desenvolvida;
- Realizar caracterização físico-química das NPs;

4. MÉTODOS

4.1. DESENHO DO ESTUDO

4.2. Metodologia de pesquisa

Foi realizada uma pesquisa do tipo revisão da literatura, em que foram utilizadas as bases de dados Science Direct e PubMed entre os anos de 2010 e 2020, com os descritores “Nanopartículas”, “Transdérmico”, “Nanocarreadores”, “HIV”, em inglês. Como critério de exclusão, foram eliminados os trabalhos que abordassem ou somente a via linfática, ou somente a via transdérmica, ou não utilizassem um nanossistema como carreador. Foram também eliminados trabalhos relacionados à prevenção, e selecionados os trabalhos que abordassem tratamento. Foram selecionados trabalhos publicados preferencialmente entre os anos de 2017 a 2021, em revistas indexadas.

4.3. Estudo de pré-formulação das Nanopartículas

No estudo de pré-formulação, foi realizado um *screening*, com ensaios piloto, onde avaliamos se os parâmetros pré-estabelecidos na obtenção de NPs descritos na literatura são compatíveis com os fármacos. Um desenho experimental do tipo Plackett-Burman foi utilizado para análise das variáveis críticas.

4.4. Obtenção das Nanopartículas

As nanopartículas foram obtidas por nanoprecipitação, seguindo a metodologia descrita por Silva et al 2018 (11). Esse método foi escolhido pois é um método mais rápido, eficaz e reprodutível para obtenção de nanopartículas entre 50-300nm. Em resumo, uma fase orgânica contendo o polímero e o fármaco é injetada em uma fase aquosa, e a mistura é deixada em agitação à temperatura ambiente até completa evaporação do solvente. Na fase orgânica foram utilizados os solventes DMSO e acetona e a fase aquosa consistiu em água deionizada com o surfactante Tween.



Figura 2: Esquema do método de obtenção nanopartículas poliméricas por nanoprecipitação. (11)

As nanopartículas foram subdivididas em tubos de ensaio, enumerados de um a oito, alternando entre as quantidades de medicamento, tipo de solvente, volume do solvente e quantidade de polímero.

As formulações foram avaliadas através da utilização da ferramenta de desenho experimental utilizando o software STATISTICA10®.

4.5. Caracterização Físico-Química das NLSs

4.5.1. Diâmetro de partícula e polidispersão

A técnica mais utilizada para medir o tamanho das partículas é a da dispersão dinâmica da luz (*dynamic light scattering* - DLS). Essa técnica consiste na emissão de um

feixe de laser que ilumina a amostra com partículas em suspensão e a luz dispersa pelas partículas são coletadas por um detector.

A polidispersão das nanopartículas é o grau de dispersão em que a nanosuspensão se encontra, e o valor é fornecido pelo mesmo equipamento.

O diâmetro e polidispersão das nanopartículas obtidas foram medidos utilizando-se um equipamento Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments LTD). As amostras foram medidas em triplicata a temperatura e 25°C, com ângulo de detecção de 90°.

4.5.2 Potencial Zeta

O potencial zeta (*electrophoretic light scattering* - ELS) é a propriedade física das nanopartículas que indica carga superficial, a qual afeta a distribuição iônica no meio aquoso.

A carga superficial das nanopartículas obtidas foi medida com equipamento Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments LTD) por eletroforese com laser doppler. As análises foram feitas com células de eletroforese capilar dobrada.

4.5.3 Eficiência de encapsulação (EE) e capacidade de carga (CC)

A eficiência de encapsulação (EE) das nanopartículas pode ser determinada pelo método direto ou indireto. O método indireto consiste em dosear o fármaco não encapsulado que se encontra na fase externa da nanosuspensão. Já o método direto consiste na separação da fração não encapsulada seguida da destruição das nanopartículas e doseamento fármaco encapsulado na nanopartículas. As duas técnicas podem ser complementares, ou utilizadas de forma individual.

A capacidade de carga de das nanopartículas está relacionada com a fração de fármaco livre, com a massa total de polímero.

A EE e a CC são calculadas pelas seguintes equações:

$$EE = \frac{\text{Massa ininical de fármaco} - \text{massa livre de fármaco}}{\text{Massa ininical de fármaco}}$$

$$CC = \frac{\text{Massa ininical de fármaco} - \text{massa livre de fármaco}}{\text{Massa total}}$$

5. LOCAL DE ESTUDO

Foi realizado na cidade do Recife, na Faculdade Pernambucana de Saúde, especificamente no Laboratório Multidisciplinar de Farmácia. O projeto contou com a parceria do Núcleo de controle de Qualidade de Medicamentos e Correlatos - NCQMC, da Universidade Federal de Pernambuco, que dispõe de toda a estrutura física para a execução do projeto.

5.1. PERÍODO DE ESTUDO

O período de realização da pesquisa foi de dezembro de 2021 a março de 2022.

5.2. ASPECTOS ÉTICOS

Em princípio, a execução do projeto não pressupõe à submissão ao Comitê de Ética pois não se aplica à Resolução do Conselho Nacional de Saúde N° 466/12, e nem da N° 510/2016, já que não foram realizados ensaios com seres humanos, nem em animais, e tampouco foram utilizados dados diretamente obtidos com os participantes ou de informações identificáveis ou que possam acarretar riscos maiores do que os existentes na vida cotidiana, conforme evidenciado nos métodos descritos.

6. Resultados e discussão

Após realizado o levantamento bibliográfico, foi observado diante dos achados na literatura que o sistema linfático tem sido explorado como uma via promissora em diversos contextos tanto terapêuticos como preventivos. A vetorização de fármacos direto aos linfonodos parece ser promissora em patologias que acometem os gânglios linfáticos, pois permitiria combatê-las de forma mais efetiva (12).

Com as informações coletadas foi realizada uma revisão da literatura.

6.1. Revisão da Literatura

6.1.1. O sistema Linfático

O sistema linfático é composto por vasos, nódulos e capilares, por onde circula a linfa. Suas principais funções são equilíbrio do líquido corporal e transporte de células imunológicas por todo o organismo, facilitando a resposta imune e o combate às infecções. É através do sistema linfático que os antígenos e células apresentadoras de antígeno circulam até chegar aos nódulos linfáticos. Dentre elas, destacam-se as células dendríticas, que são células capazes de internalizar e apresentar antígenos, induzindo forte ativação e resposta imunológica das células T de defesa (12, 13). Sua anatomia é unilateral e desempenha a importante atividade de levar o líquido extracelular de volta à circulação, após drenagem pelos linfonodos, que são encarregados de filtrar e desnaturar patógenos e outros resíduos. A fisiologia linfática tem seu início pelos capilares iniciais, por onde a linfa é enviada contra o gradiente de pressão de volta para o sangue (14).

É através do sistema linfático que tanto os antígenos quanto as células apresentadoras de antígenos (APCs) circulam até atingirem os linfonodos, que contêm muitas células dendríticas (DCs) fagociticamente ativas e linfócitos B e T. As DCs são capazes de internalizar 10⁵ antígenos e de induzir uma ativação sólida da resposta imune

de células T. (15, 16, 17). Durante a resposta imune, os linfócitos migram entre e dentro dos compartimentos dos linfonodos para interações células-células críticas e proliferam, levando ao aumento. Assim, os linfonodos são essenciais no recrutamento de muitos linfócitos e na coleta de antígenos de tecidos periféricos (18). Nesse contexto, o sistema linfático pode ser uma via promissora para estratégias terapêuticas e preventivas. O direcionamento de compostos para células dendríticas já foi relatado na literatura, principalmente na vacinação visando antígenos que induzem imunidade adaptativa. (12)

6.1.2. Rotas para o Sistema Linfático

A administração de terapias para o sistema linfático através das vias usuais tem sido um desafio. Vias mais comuns e mais tradicionais como a oral e intravenosa caracterizam uma baixa captação e baixa absorção pelos linfonodos. (19) As vias subcutâneas, intradérmica e intramuscular apresentam maior relevância na captação de fármacos pelo sistema linfático que as vias oral e intravenosa. A administração subcutânea aumenta a pressão intersticial, fazendo com que os vasos linfáticos drenem o excesso de líquido da região (14).

A via que tem recebido destaque significativo para chegar ao sistema linfático nos últimos anos é a transdérmica. Como mencionado anteriormente, a derme é vascularizada por vasos sanguíneos e linfáticos, nos quais células, líquido intersticial e grandes partículas circulam para os nódulos linfáticos. Dessa forma, medicamentos administrados por via transdérmica podem atingir os reservatórios de forma eficiente e, essa estratégia parece ser promissora no combate a algumas patologias nas quais o sistema linfático desempenha um papel importante (20, 21). A via transdérmica tem várias vantagens sobre outras rotas tradicionais. Além de melhorar a biodisponibilidade dos medicamentos, podem diminuir a frequência das dosagens e os efeitos adversos, principalmente

relacionados ao trato gastrointestinal. Eles evitam o metabolismo de primeira passagem através do fígado, evitando que a droga seja degradada prematuramente. Além disso, as enzimas alimentares e digestivas não podem influenciar a droga (22, 23).

6.1.3. Administração Transdérmica

A abordagem de administração transdérmica com distribuição no sistema linfático é promissora. Sabe-se que a derme, além de ser irrigada por vasos sanguíneos, é também vascularizada com capilares linfáticos por onde circulam células, líquido intersticial e grandes partículas até os gânglios linfáticos. Dessa forma, fármacos administrados por essa via conseguem alcançar eficientemente os reservatórios e combater as patologias (20).

A pele consiste no maior órgão do corpo humano, sendo ela a principal barreira contra agentes externos, regulando a entrada de microrganismos, a temperatura e controlando a água corporal. O sistema tegumentar se subdivide em três regiões principais, sendo essas: epiderme, derme e hipoderme (25). A epiderme é a camada mais externa e é composta principalmente por queratinócitos, melanócitos, células de Langerhans e células de merkel. A superfície da epiderme é chamada de estrato córneo, sendo ela composta por corneócitos achatados e rodeados por matriz lipídica, são compactos e no geral dificultam a passagem de drogas. Essa camada se caracteriza por sua constante renovação, dinamicidade e movimentação contínua das células. A derme é a camada intermediária, contém elastina, fibras colágenas, nervos, macrófagos, glândulas sudoríparas e sebáceas, folículos capilares, vasos linfáticos, além de ser nutrida pelos vasos sanguíneos para fornecer suporte estrutural. A hipoderme, por sua vez, é constituída

majoritariamente de adipócitos, fibroblastos e macrófagos, ela é capaz de fornecer proteção contra choque, isolamento térmico e condução de sinais nervosos (24, 25).

Os fármacos podem ser absorvidos por variados caminhos pela via transdérmica, sendo essas: via transfolicular, via intracelular e a via intercelular. Na via transfolicular, ocorre a permeação através dos apêndices da pele, como as glândulas sudoríparas, sebáceas, folículos capilares e poros. Esses possuem ductos que atravessam o estrato córneo. É a via com o menor caminho para o medicamento, mas em compensação pode ser afetada pelas secreções liberadas nessa área. Além disso, ela representa apenas 0,1% do espaço total na pele, entretanto alguns estudos demonstram sua importância na permeação de agentes polares. O transporte via intracelular ocorre por intermédio da permeação nos corneócitos, e devido a queratina hidratada, permite a permeação de compostos hidrofílicos ou polares, entretanto, os corneócitos são cercados por lipídios, requerendo difusão e partição por parte das drogas. A via intercelular permite a passagem de compostos lipídicos não polares através da matriz lipídica contínua presente entre as células. Ambas as vias intercelulares e intracelulares são chamadas também de via transepidérmica (24, 26).

Tem-se observado que algumas características e alterações físico-químicas das moléculas contribuem para a permeação eficiente pela pele como o peso molecular, o coeficiente de partição, o pKa, a concentração do fármaco, as condições físicas da pele e a temperatura. (20, 27, 28). Além disso, a polaridade do medicamento deve ser ideal para promover a penetração na pele. Moléculas altamente lipofílicas seriam retidas superficialmente devido à sua afinidade com o estrato córneo, enquanto as moléculas hidrofílicas não podem penetrar. O fármaco deve ser lipofílico e hidrofílico para obter uma partição ideal, uma vez que o estrato córneo é quase constituído por uma bicamada

lipídica. Assim, é necessário um coeficiente de partição adequado para superar essa limitação (29, 30).

O peso molecular é de grande importância e é inversamente proporcional à absorção. Um peso molecular mais baixo do fármaco promove uma melhor penetração na pele do que um peso molecular mais alto do fármaco, e a absorção também pode ser melhorada (31). Moléculas com mais de 500 daltons não penetram na pele de maneira eficaz (19, 32). O pH do fármaco deve ser o pH do estrato córneo, que varia entre 4,2 e 5,6. Quanto mais próximo o pH do fármaco estiver dessa faixa, menor o grau de ionização e, conseqüentemente, a permeabilidade pode ser melhorada. Um Log P mais alto é uma característica dos medicamentos não ionizados que devem ter o melhor coeficiente de permeabilidade da pele (33). Outro determinante que contribui para a penetração transdérmica é a concentração do fármaco. A passagem do fármaco pela pele pode ocorrer por difusão passiva, e uma concentração mais alta do fármaco pode promover uma taxa de difusão mais alta. Além disso, é necessário considerar a viscosidade da formulação uma vez que foi observado que fluidos muito viscosos proporcionam uma taxa de difusão diminuída (30). Também é essencial considerar as condições da pele. Normalmente, as peles mais jovens absorvem a formulação com mais eficiência do que as peles maduras. Além disso, existe uma grande probabilidade de penetração do medicamento quando a pele está mais hidratada. Outra característica a ser considerada é a temperatura da pele, que pode promover vasodilatação e aumentar a taxa de permeação (34). Quando as drogas e outros compostos ativos não conseguem penetrar na pele, é possível usar alguns intensificadores de permeação para superar esse problema. Os promotores de permeação da pele ajudam a aumentar a permeação devido à modificação temporária da estrutura da pele. Podem ser classificados como físicos e químicos (30, 35).

A via transdérmica é um diferencial para entrega linfática. Apesar de limitados fármacos conseguirem alcançar as especificidades que essa via requer, ela é promissora por não degradar drogas prematuramente e aumentar consideravelmente a adesão do paciente. Além de melhorar a biodisponibilidade dos medicamentos, diminuir a frequência de dosagens, diminuir efeitos adversos (sobretudo aqueles relacionados ao trato gastrointestinal, pois evitam o metabolismo de primeira passagem pelo fígado que ocorre na administração oral convencional), o medicamento não sofre alteração pela comida e enzimas digestivas e a administração é indolor (22, 23, 36).

Apesar dos benefícios, essa via é acompanhada de alguns desafios. Como foi visto anteriormente, o estrato córneo age como um verdadeiro escudo e poucas drogas são capazes de permear efetivamente essa camada, principalmente macromoléculas

Entretanto, o uso de nanopartículas como carreador de medicamentos para entrega transdérmica tem sido estudado, pois elas conseguem aumentar a taxa de absorção sem afetar as propriedades da pele devido as suas características de tamanho e afinidade pela pele (37).

6.1.4. Nanocarreadores para administração transdérmica

A encapsulação do fármaco em nanocarreadores é capaz de alterar as propriedades físico-químicas dos fármacos, sem alterar seu princípio ativo. Elas aumentam a solubilidade e o direcionamento para o local de ação desejado, dessa forma, o fármaco é liberado de maneira mais controlada e sua absorção é aumentada. O fármaco pode ser encapsulado pela partícula, impedindo sua degradação antes de alcançar o local de ação, e dessa forma é possível reduzir as doses necessárias para o efeito terapêutico e os efeitos adversos (38, 39). Esses sistemas também conseguem efetivamente se reter ao tecido

desejado, pela sua propriedade de maior permeabilidade e retenção, assim o fármaco é liberado apenas no local de interesse, sem sofrer anteriores degradações (39).

A administração transdérmica através dos nanocarreadores possuem vantagens significativas em comparação com os sistemas convencionais utilizados. Como foi visto, a pele confere à via transdérmica um desafio e uma barreira contra a permeação de macromoléculas, entretanto, a aplicação transdérmica com nanocarreadores tem como vantagem uma estabilidade e estética aprimorada da partícula e liberação prolongada do fármaco (40).

Os nanocarreadores de grande destaque para a via transdérmica são as nanopartículas que podem ser metálicas, poliméricas, lipídicas, lipossomas e dendrímeros (41).

Estudos recentes comprovam que nanopartículas conseguem permear eficientemente a pele, a depender do seu tamanho, carga superficial e material utilizado (40). O tamanho da nanopartícula interfere diretamente na captação pelo sistema linfático. Partículas entre 10-100 nm são ideais para captação linfática por administração subcutânea, partículas menores que 10nm são absorvidas pela circulação sistêmica, e partículas maiores que 100nm conseguem ser absorvidas pelo sistema linfático, porém mais lentamente. Os capilares linfáticos podem ser permeáveis dependendo do tamanho. É relatado que nanopartículas em torno de 100 nm podem acessar facilmente os capilares linfáticos e se concentrar nos linfonodos regionais. Já as partículas maiores que 100 nm podem ser absorvidas pelo sistema linfático lentamente (42).

A carga superficial nas partículas também é um fator importante para a captação linfática, partículas aniônicas se movem mais rapidamente pelo interstício, já as carregadas positivamente são mais resistentes a se mover pela matriz. O potencial zeta

abaixo de zero se relaciona com a falta da estabilidade na partícula, acarretando em agregados e dificultando a migração para o sistema linfático (43).

Foi detectado em estudos que nanopartículas com carga -15mV foram encontrados em grande quantidade no sistema linfático, em comparação das partículas com carga -36mV. Além disso, a hidrofobicidade da substância administrada também afeta a retenção pelos linfonodos (14).

As aplicações acerca do uso de nanocarreadores para aplicação transdérmica com alcance linfático serão discutidos na tabela abaixo:

Tabela 1: Aplicações dos nanossistemas por via transdérmica com alcance linfático.

Nanossistemas utilizados	Fármaco	Patologia	Informações relevantes	Referência
Lipossomas	Ivermectina	Filariose	Aplicação com microagulhas	Devineni, et al, 2020
Nanopartículas lipídicas sólidas	Sulfona de albendazol + doxiciclina + dietilcarbamazina + sulfóxido de albendazol	Filariose	Aplicação com microagulhas	Permana et al, 2019
Nanosuspensão	Ivermectina + Albendazol + monohidrato de doxiciclina	Filariose	Aplicação com microagulhas	Permana, McCrudden e Donnelly, 2019
Nanotopografia	Etanercepte	Artrite	Dispositivo nanotopográfico com microagulhas	Aldrich, et al, 2017
Nanosuspensão	Rilvipirina	AIDS	Patches	Rajoli et al 2019
Transferossomos	Doxorrubicina	Câncer (metástase)	Aplicação com microagulhas	Yang, et al, 2019

Fonte: Autoria própria.

Como foi ilustrado acima, os nanossistemas para alcance linfático já tem sido reportados na literatura, principalmente para doenças infecciosas como filariose linfática, síndrome da Imunodeficiência Humana (AIDS), bem como para doenças autoimunes como artrite reumatoide. A encapsulação dos fármacos em nanossistemas é, portanto,

uma ferramenta fundamental para o alcance linfático, como demonstrado pelos trabalhos expostos e diversas possibilidades são viáveis como partículas de origem lipídica como lipossomas, transferossomas ou nanopartículas lipídicas sólidas, além de partículas de origem polimérica. O uso de dispositivos que facilitem a passagem dessas nanopartículas através das camadas da pele tem se mostrado bastante promissores, como as microagulhas.

As microagulhas são um novo dispositivo de entrega transdérmica que tem como base as pesquisas de tecnologia de processamento de sistema mecânico microeletrônico (MEMS) e tecnologia de penetração cutânea (44). Assim, solucionando os problemas que estão relacionados as agulhas hipodérmicas e os adesivos transdermicos, pois, considera-se a administração de medicamentos com microagulhas uma mistura de ambos. São compostas em agulhas de dimensão micron, com o tamanho muito menor e mais fino em associação à espessura do cabelo, estando dispostas em um reduzido arranjo (45). A sua forma de administração permite que o medicamento penetre a camada do estrato córneo, desta forma, produzindo orifícios pequenos possibilitando medicamento entre na derme (44). Apresenta como características vantajosas por início de ação mais acelerada, na qualidade de adesão do tratamento para o paciente, autoadministração, fabricação facilitada, ótima biocompatibilidade eficácia e aumento na permeabilidade (46).

6.2. Estudo de pré-formulação das Nanopartículas

Após o levantamento bibliográfico realizado, partimos para a realização prática da pesquisa, a iniciar pela escolha do fármaco, que foi realizada baseada na consulta ao Protocolo clínico diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo HIV em adultos (5). Além disso, foram consideradas as características físico-químicas dos fármacos, que devem viáveis para a veiculação nos nanossistemas.

6.2.1. Efavirenz

Como mencionado, atualmente a terapia inicial do HIV deve sempre incluir combinações de três ARV, sendo dois inibidores da transcriptase reversa análogo de nucleosídeo (ITRN)/ ITRNt associados a uma outra classe de antirretrovirais (inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeo - ITRNN, Inibidor de protease – IP, ou inibidor de integrase - INI). O efavirenz (EFZ) pertence à classe de ARV dos ITRNN. Promove supressão da replicação viral por longo prazo e possui perfil de toxicidade favorável (5).

Esquemas com EFV, possuem melhor perfil de toxicidade, maior comodidade posológica, maiores taxas de adesão ao tratamento em longo prazo, elevada potência de inibição da replicação viral, maior efetividade e maior durabilidade da supressão viral quando comparados a esquemas estruturados com Inibidores de. Quando comparado aos INI, o EFV apresentou alguns resultados desfavoráveis em relação à supressão viral, especialmente relacionados a descontinuidade por eventos adversos (5).

Além disso, características como baixa solubilidade em água e conseqüente lipofilia (Log P 4,6) e longa meia-vida do EFV são ideais para a veiculação em nanossistemas que tenham afinidade pelo tecido cutâneo e dessa forma consigam permear e entregar efetivamente o fármaco até os depósitos virais.

6.2.2. Nanopartículas poliméricas e PLGA

A grande variedade de polímeros existentes para este fim tem atraído grande interesse para a área da nanotecnologia, uma vez que as estruturas poliméricas podem ser facilmente modificadas de acordo com o objetivo pretendido através de reações químicas, além de poderem libertar fármacos em locais específicos em resposta à estímulos fisiológicos. A incorporação de certas funcionalidades às nanopartículas pode modular a

resposta das NPs em ambientes biológicos sob diferentes pH, condições enzimáticas oxidativas e redutivas, etc., ou em resposta a estímulos externos, tais como variação de temperatura, irradiação com luz ou UV-vis, ativação com campos magnéticos, e aplicação de ultra-som, etc. (47). Além disso, são consideradas mais estáveis que as partículas de natureza lipídica.

Vários polímeros têm sido largamente utilizados para a obtenção de nanopartículas, entretanto alguns tem recebido destaque pelas características de serem biocompatíveis e biodegradáveis, e por esse motivo, serem seguros para administração. Dentre eles, o ácido poli(lático-co-glicólico) (PLGA) recebe destaque (48).

As nanopartículas poliméricas foram obtidas através do método nanoprecipitação, conforme descrito anteriormente.

6.2.3. Desenho experimental e ensaios

Para conduzir análises de maneira otimizada utiliza-se da metodologia de desenho experimental, com a qual é possível obter o máximo de informação dos experimentos com o menor número de análises realizadas. Além disso, é importante a escolha das variáveis que serão manipuladas, as quais podem ser alteradas independente umas das outras (variáveis independentes). O tipo de desenho a ser escolhido depende do modelo e do objetivo do estudo a ser realizado (49).

Para otimização desse estudo, foi realizado um desenho experimental do tipo Plackett Burman, utilizando o software Statistica 10. O modelo Plackett Burman é uma estratégia conhecida como “*Quality By Design*”, e é um dos modelos de desenho mais utilizados. Esse tipo de modelo é usado para investigar n-1 variáveis em n experimentos, em um tamanho de amostra múltiplo de quatro. Com isso, foi possível a criação de diferentes modelos de nanopartículas, com diferentes características (49). Através do

desenho experimental foi possível manipular variáveis em um número reduzido de experimentos. As variáveis dependentes e independentes foram escolhidas através do estudo da literatura e de testes preliminares realizados no laboratório (Tabela 1).

Tabela 1: Variáveis analisadas no desenho experimental e as respostas avaliadas.

Variáveis Independentes	Variáveis Dependentes
Volume do solvente	Potencial zeta
Quantidade do fármaco	Capacidade de carga (cg)
Quantidade de polímero	Eficiência de encapsulação (e.e)
Tipo do solvente	Tamanho e índice de polidispersão

Após classificar quais variáveis seriam manipuladas no experimento, foi escolhida a quantidade de cada variável que seria utilizada conforme o número de experimento, como demonstrado na tabela abaixo.

Tabela 2: Níveis avaliados das variáveis independentes.

Formulação	Vol, Solvente (mL)	PLGA (mg)	EFZ (mg)	Tipo do Solvente
1	-1,00 (1 mL)	-1,00 (10 mg)	-1,00 (3 mg)	1,00 (DMSO)
2	-1,00 (1 mL)	-1,00(10 mg)	1,00 (6 mg)	1,00 (DMSO)
3	-1,00 (1 mL)	1,00 (20 mg)	-1,00 (3 mg)	-1,00 (Acetona)
4	-1,00 (1 mL)	1,00 (20 mg)	1,00 (6 mg)	-1,00 (Acetona)
5	1,00 (2 mL)	-1,00 (10 mg)	-1,00 (3 mg)	-1,00 (Acetona)
6	1,00 (2 mL)	-1,00 (10 mg)	1,00 (6 mg)	-1,00 (Acetona)
7	1,00 (2 mL)	1,00 (20 mg)	-1,00 (3 mg)	1,00 (DMSO)
8	1,00 (2 mL)	1,00 (20 mg)	1,00 (6 mg)	1,00 (DMSO)

As amostras foram enumeradas de um a oito, cada uma contendo diferentes volumes de solvente, quantidades de polímero, quantidades de fármaco e tipo do solvente. Posteriormente, foram caracterizadas quanto ao tamanho, potencial zeta, índice de polidispersão, eficiência de encapsulação e capacidade de carga.

Os resultados obtidos após a caracterização estão listados na **Tabela 3**.

Tabela 3: Resultados obtidos após caracterização das formulações obtidas.

Amostra	Tamanho	PDI (x10³)	Potencial Zeta	EE (%)	DL (%)
1	82,74	147	-28	2,8	0,6
2	96,1	386	-31,9	33	11,9
3	154,6	137	-38,9	22,2	3,1
4	161	156	-38,8	37,6	8,6
5	149,4	25	-22,7	0	0
6	121,8	52	-26,8	48,5	18,1
7	152,3	331	-18	1,8	0,2
8	71,6	167	-26,4	43,1	10,4

Os resultados foram analisados através do gráfico de Pareto, e permitiu a verificação do que foi estatisticamente significativo para as amostras através das variáveis estudadas, conforme descrito anteriormente. Consideramos estatisticamente significativo os valores de p que forem inferiores a 0,05, com 95% de nível de confiança.

As partículas obtidas apresentaram um tamanho que variou entre 161 e 82,74; PDI entre 386 e 25; potencial zeta entre -38,9 e -18; eficiência de encapsulação entre 48,5 e 0; e capacidade de carga entre 18,1 e 0.

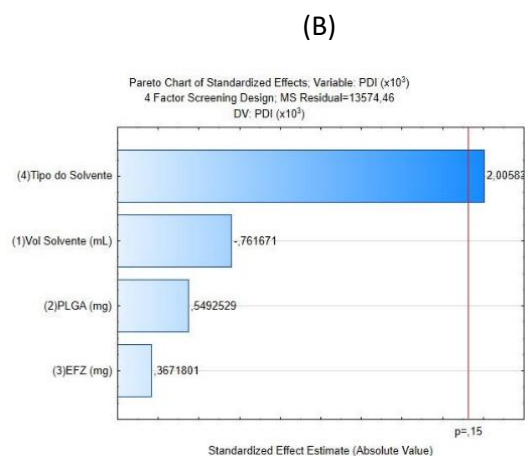
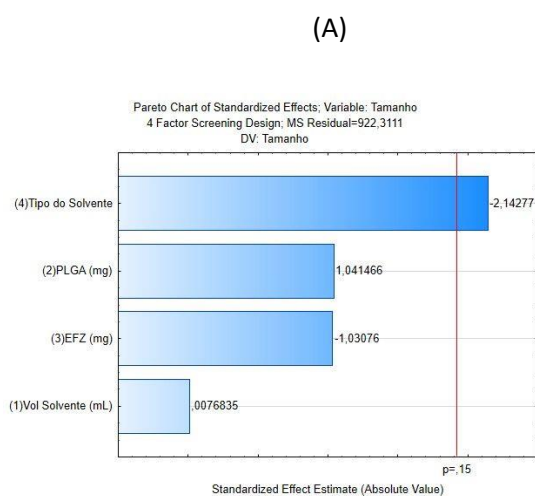
Para o tamanho e índice de polidispersão, foi estatisticamente significativo apenas o tipo de solvente. (Figura 3A e 3B). Conforme analisado, a escolha do solvente é crucial para o tamanho da partícula, sendo bastante relevante no encapsulamento de drogas pouco solúveis. Conforme observamos, os experimentos que foram realizados utilizando o

solvente DMSO apresentou partículas menores, enquanto com a acetona as partículas se tornaram maiores. Conforme achados na literatura, a alta taxa de difusão de solvente/fase aquosa torna as partículas menores, além disso, as partículas menores formadas pelo DMSO podem ser explicadas pela maior solubilidade do polímero nesse solvente. Essa diferença caracteriza uma disparidade entre as amostras, descrevendo uma distribuição heterogênea entre as partículas, justificando o valor de PDI mais elevado (50).

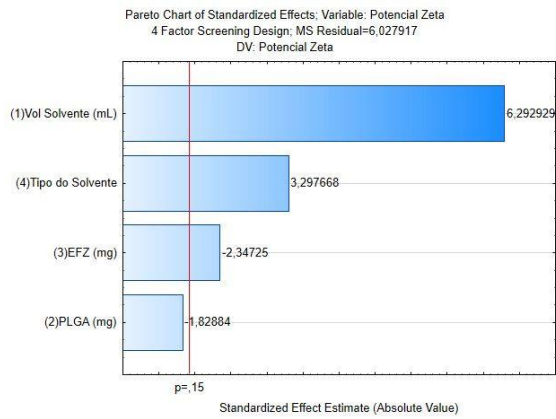
Para o potencial zeta foi significativo o volume do solvente, o tipo de solvente e a quantidade de fármaco (Figura 3C). O potencial zeta está relacionado com a medida de carga elétrica presente na superfície das partículas e está relacionado com a estabilidade da amostra. Dessa forma, partículas neutras (próximas de 0) estão relacionadas com instabilidade e agregação das partículas, visto que partículas carregadas negativamente se repelem e não causam aglomerados. Em relação a variável volume do solvente, foi observado que o menor volume de solvente (1mL) produziu um potencial zeta mais negativo e próximo de -30. Além disso, o tipo de solvente também foi significativo.

As partículas com solvente DMSO e maior volume de solvente (2mL) tornaram as partículas com potencial zeta mais próximo de 0 (NP 7 e 8), não sofrendo muitas alterações nos valores quando utilizado o mesmo volume e acetona (NP 5 e 6). As partículas com menor volume de solvente (1mL) obtiveram um potencial zeta mais negativo e distante de zero, caracterizando partículas mais estáveis. As partículas com acetona e menor volume foram as que apresentaram o potencial mais negativo, com valor de aproximadamente -38. Em relação a quantidade fármaco, a maior concentração (6mg) produziu partículas com valores de -38,8 a -26,8. Enquanto a menor concentração (3mg) produziu partículas mais instáveis, com valores de -38,8 a -18. Concluímos que a maior concentração de EFZ somado ao menor volume de solvente e o tipo de solvente acetona, tornou a carga das partículas mais negativa e conseqüentemente mais estáveis.

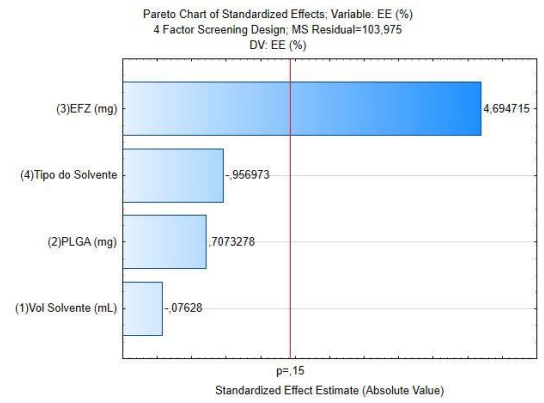
Para as variáveis eficiência de encapsulação e capacidade de carregamento (DL), apenas a quantidade de fármaco foi estatisticamente significativo. (Figura 3D e 3E). O carregamento do fármaco é o processo de incorporação do medicamento na matriz polimérica e a liberação do fármaco é o processo inverso, no qual as moléculas de fármaco são liberadas da fase sólida e ficam disponíveis para absorção e ação farmacológica. Já a eficiência de encapsulação (EE) descreve a eficiência do método utilizado para incorporar a droga no sistema carreador. Foi analisado que para a capacidade de carregamento, um volume maior de fármaco (6mg) produziu partículas com CG e EE mais positivas, com resultado de EE variando entre 48,5 e 33 enquanto os valores de DL variaram de 18,1 a 8,6. Os valores diferiram significativamente quando comparados a CG e EE nas partículas com menor concentração de fármaco (3 mg), o que nos afirma que a maior concentração de fármaco aumenta a capacidade de carregamento da partícula e a eficiência de encapsulação do método escolhido, o que revela que o sistema polimérico tem afinidade pelo fármaco.



(C)



(D)



(E)

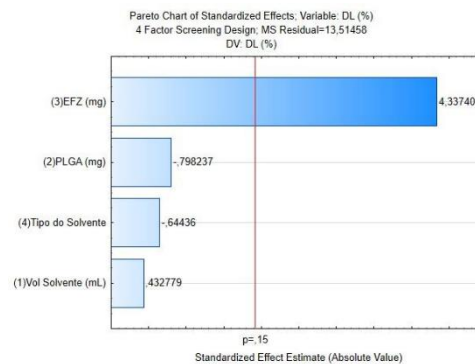


Figura 3: Gráficos de pareto dos resultados obtidos para cada variável dependente: tamanho (A), índice de polidispersão (B), potencial zeta (C), eficiência de encapsulação (D) e capacidade de carga (E).

A partir desse estudo, foi possível avaliar quais as variáveis que mais influenciavam nas variáveis dependentes, e assim selecionar uma melhor formulação que apresentasse características ideais para o objetivo proposto considerando os parâmetros de desejabilidade para uma administração transdérmica com alcance linfático: tamanho abaixo de 200nm e preferencialmente maior que 10nm para não alcançar a circulação

sistêmica e sim a linfática, PDI menor que 0,2 e potencial zeta com menor valor possível e máxima EE e CG. A formulação selecionada foi a formulação NP 6 obtida com 2 mL de solvente, 10 mg de PLGA, 6 mg de EFZ e acetona como fase orgânica, que apresentaram os resultados: tamanho abaixo de 200nm, PDI 0,5, potencial zeta -26,8 e CG e DL maiores (48,5 e 18,1 respectivamente). Apesar do PDI ter ficado um pouco mais elevado do que esperado, foi importante para comparar a disparidade de resultados utilizando solventes diferentes. Contudo, essa formulação obteve maior capacidade de carregamento de droga e apresentou a maior eficiência do método, com o maior valor de EE. Além de ter apresentado o tamanho médio de 121 nm, sendo ideal para o alcance linfático através da administração transdérmica.

7. Conclusões

Em conclusão, a partir do trabalho desenvolvido foi possível obter um bom aproveitamento teórico acerca da importância e aplicabilidade dos nanossistemas para aplicação transdérmica com alcance linfático. Essa pesquisa fortalece a terapia via linfática e a nanotecnologia no estado, visto que ainda são formas de terapia ainda pouco exploradas e disseminadas a nível nacional.

A nanotecnologia é uma forma de modificar estrategicamente as propriedades das moléculas de forma promissora para as mais variadas patologias e nos permite melhorar fármacos já utilizados mas que apresentem grande toxicidade, baixa biodisponibilidade em determinada via ou resistência medicamentosa. Ademais, a via transdérmica apresenta grandes vantagens em comparação com as vias usuais e possibilita aumentar consideravelmente a adesão do paciente ao tratamento, por ser menos incômoda, indolor, livre de efeitos hepáticos e renais e sem necessidade de altas dosagens para obtenção da

resposta terapêutica. Além disso, crianças, idosos e pessoas com problemas de deglutição ou pacientes hepáticos e renais podem ser beneficiar dessa forma de administração.

Com base nos resultados práticos, com a utilização da metodologia *Quality By Design* foi possível obter uma formulação otimizada com o menor número de experimentos e com os resultados de acordo com o objetivo do trabalho e com as especificidades que a via requer transdérmica/linfática requer. A formulação otimizada permite um bom carreamento do Efavirenz, apresentou boa estabilidade coloidal e com tamanho adequado para aplicação transdérmica/ganglionar.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao FACEPE - Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia de PE pelo apoio nesse projeto e ao Núcleo de Controle de Qualidade de Medicamentos Correlatos – NCQMC da UFPE, por ter possibilitado a realização dessa pesquisa.

Agradecimento especial para a Prof. Luise Lopes Chaves por me apresentar essa linha de pesquisa e por todo apoio nessa jornada.

8. Referências bibliográficas

1. Sued O, Figueroa MI, Cahn P. Clinical challenges in HIV/AIDS: Hints for advancing prevention and patient management strategies. *Adv Drug Deliv Rev*. 2016 Aug 1;103:5-19.
2. Ojewole E, Mackraj I, Naidoo P, Govender T. Exploring the use of novel drug delivery systems for antiretroviral drugs. *Eur J Pharm Biopharm*. 2008 Nov;70(3):697-710.
3. Taylor Melanie, Alonso-González Mónica, Gómez Bertha, Korenromp Eline, Broutet Nathalie. Estratégia global do setor de saúde da Organização Mundial da Saúde sobre infecções sexualmente transmissíveis: um resumo de evidência para ação para a Colômbia. *Rev Colomb Obstet Ginecol* [Internet]. Set de 2017
4. Shao J, Kraft JC, Li B, Yu J, Freeling J, Koehn J, Ho RJ. Nanodrug formulations to enhance HIV drug exposure in lymphoid tissues and cells: clinical significance

- and potential impact on treatment and eradication of HIV/AIDS. *Nanomedicine (Lond)*. 2016;11(5):545-64.
5. BRASIL. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos. SAÚDE, M. D. Brasília. 2018
 6. Lara HH, Ixtepan-Turrent L, Garza Treviño EN, Singh DK. Use of silver nanoparticles increased inhibition of cell-associated HIV-1 infection by neutralizing antibodies developed against HIV-1 envelope proteins. *J Nanobiotechnology*. 2011 Sep 18;9:38.
 7. Parboosing R, Maguire GEM, Govender P, Kruger HG. Nanotechnology and the Treatment of HIV Infection. *Viruses* [Internet]. 2012 Apr 10;4(4):488–520.
 8. Goyal R, Macri LK, Kaplan HM, Kohn J. Nanoparticles and nanofibers for topical drug delivery. *J Control Release*. 2016 Oct 28;240:77-92.
 9. Puri A, Sivaraman A, Zhang W, Clark MR, Banga AK. Expanding the domain of drug delivery for HIV prevention: exploration of the transdermal route. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*. 2017;34(6):551-587.
 10. Saravanan M, Asmalash T, Gebrekidan A, Gebreegziabiher D, Araya T, Hilekiros H, Barabadi H, Ramanathan K. Nano-Medicine as a Newly Emerging Approach to Combat Human Immunodeficiency Virus (HIV). *Pharm Nanotechnol*. 2018;6(1):17-27.
 11. Silva, Laiane S., et al. Encapsulation of Piper aduncum and Piper hispidinervum essential oils in gelatin nanoparticles: a possible sustainable control tool of *Aedes aegypti*, *Tetranychus urticae* and *Cerataphis lataniae*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 99.2 (2019): 685-695.
 12. Schudel A, Francis DM, Thomas SN. Material design for lymph node drug delivery. *Nat Rev Mater* [Internet]. 2019;4(6):415–28.
 13. Randolph GJ, Ivanov S, Zinselmeyer BH, Scallan JP. The lymphatic system: Integral roles in immunity. *Annu Rev Immunol*. 2017;35(November 2016):31–52.
 14. Cote B, Rao D, Alany RG, Kwon GS, Alani AWG. Lymphatic changes in cancer and drug delivery to the lymphatics in solid tumors. *Adv Drug Deliv Rev*. 2019;144:16–34.
 15. Jiang H, Wang Q, Sun X. Lymph node targeting strategies to improve vaccination efficacy. *J Control Release*. 2017 Dec 10;267:47-56. doi: 10.1016/j.jconrel.2017.08.009. Epub 2017 Aug 15. PMID: 28818619.

16. Kunda NK, Somavarapu S, Gordon SB, Hutcheon GA, Saleem IY. Nanocarriers targeting dendritic cells for pulmonary vaccine delivery. *Pharm Res.* 2013;30(2):325–41.
17. Padera TP, Meijer EF, Munn LL. The Lymphatic System in Disease Processes and Cancer Progression. *Annu Rev Biomed Eng.* 2016 Jul 11;18:125-58.
18. Cho HY, Lee YB. Nano-sized drug delivery systems for lymphatic delivery. *J Nanosci Nanotechnol.* 2014;14(1):868–80.
19. Chaudhary S, Garg T, Murthy RSR, Rath G, Goyal AK. Recent approaches of lipid-based delivery system for lymphatic targeting via oral route. *J Drug Target.* 2014;22(10):871–82.
20. Yang H, Wu X, Zhou Z, Chen X, Kong M. Enhanced transdermal lymphatic delivery of doxorubicin via hyaluronic acid based transfersomes/microneedle complex for tumor metastasis therapy. *Int J Biol Macromol.* 2019;125:9–16.
21. Zhang XY, Lu WY. Recent advances in lymphatic targeted drug delivery system for tumor metastasis. *Cancer Biol Med.* 2014;11(4):247–54.
22. Chaulagain B, Jain A, Tiwari A, Verma A, Jain SK. Passive delivery of protein drugs through transdermal route. *Artif Cells, Nanomedicine Biotechnol.* 2018;46(sup1):472–87.
23. Zhu J, Tang X, Jia Y, Ho CT, Huang Q. Applications and delivery mechanisms of hyaluronic acid used for topical/transdermal delivery – A review. *Int J Pharm.* 2020;578(February):119127.
24. Jiang T, Xu G, Chen G, Zheng Y, He B, Gu Z. Progress in transdermal drug delivery systems for cancer therapy. *Nano Res.* 2020;13(7):1810–24.
25. Dehdashtian A, Stringer TP, Warren AJ, Mu EW, Amirlak B, Shahabi L. Anatomy and physiology of the skin. *Melanoma A Mod Multidiscip Approach.* 2018;15–26.
26. Ghasemiyeh P, Mohammadi-Samani S. Potential of nanoparticles as permeation enhancers and targeted delivery options for skin: Advantages and disadvantages. *Drug Des Devel Ther.* 2020;14:3271–89.
27. Alexandra M, Trindade L, Alexandra M, Trindade L. Nanotecnologia aplicada a sistemas transdérmicos. 2017;
28. Lemos CN, Pereira F, Dalmolin LF, Cubayachi C, Ramos DN, Lopez RFV. Nanoparticles influence in skin penetration of drugs: In vitro and in vivo

- characterization [Internet]. *Nanostructures for the Engineering of Cells, Tissues and Organs: From Design to Applications*. Elsevier Inc.; 2018. 187–248 p.
29. Bos JD, Meinardi MMHM. The 500 Dalton rule for the skin penetration of chemical compounds and drugs. *Exp Dermatol*. 2000;9(3):165–9.
 30. Jhawar VC, Saini V, Kamboj S, Maggon N. *Transdermal_Drug_Delivery_Systems_Approa*. 2013;20(1):47–56.
 31. Singpanna, K., Dechsri, K., Patrojanasophon, P., Limpachayaporn, P., Opanasopit, P., & Nuntharatanapong, N. Transdermal delivery, cytotoxicity and anti-melanogenic activity of p-chlorophenyl benzyl ether loaded-liposomes. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 65, 102746.
 32. Kumar R, Philip A. Modified Transdermal Technologies: Breaking the Barriers of Drug Permeation via the Skin. *Trop J Pharm Res*. 2007;6(1):633–44.
 33. Neupane R, Boddu SHS, Renukuntla J, Babu RJ, Tiwari AK. Alternatives to Biological Skin in Permeation Studies: Current Trends and Possibilities. *Pharmaceutics*. 2020 Feb 13;12(2):152
 34. Saravanakumar K, Swapna P, Nagaveni P, Vani P, Pujitha K. Transdermal drug delivery system: A review. *J Glob Trends Pharm Sci*. 2015;6(1):2485–90.
 35. Mathur V, Satrawala Y, Rajput MS. Physical and chemical penetration enhancers in transdermal drug delivery system. *Asian J Pharm*. 2010;4(3):173–83.
 36. Münch S, Wohlrab J, Neubert RHH. Dermal and transdermal delivery of pharmaceutically relevant macromolecules. *Eur J Pharm Biopharm* [Internet]. 2017;119:235–42
 37. Palmer BC, DeLouise LA. Nanoparticle-enabled transdermal drug delivery systems for enhanced dose control and tissue targeting. *Molecules*. 2016;21(12):7–9.
 38. Al-Kassas R, Bansal M, Shaw J. Nanosizing techniques for improving bioavailability of drugs. *J Control Release* [Internet]. 2017;260:202–12.
 39. Bamrungsap S, Zhao Z, Chen T, Wang L, Li C, Fu T, et al. Nanotechnology in therapeutics : a focus on nanoparticles as a drug delivery system R eview. *Carbohydr Polym*. 2016;1(1):71–88.
 40. Nair RS, Morris A, Billa N, Leong CO. An Evaluation of Curcumin-Encapsulated Chitosan Nanoparticles for Transdermal Delivery. *AAPS PharmSciTech*. 2019;20(2):1–13.

41. Gul R, Ahmed N, Shah KU, Khan GM, Asim.ur.Rehman. Functionalised nanostructures for transdermal delivery of drug cargos. *J Drug Target*. 2018;26(2):110–22.
42. Khan AA, Mudassir J, Mohtar N, Darwis Y. Advanced drug delivery to the lymphatic system: Lipid-based nanoformulations. *Int J Nanomedicine*. 2013;8:2733–44.
43. Jeong SH, Jang JH, Cho HY, Lee YB. Soft- and hard-lipid nanoparticles: a novel approach to lymphatic drug delivery. *Arch Pharm Res*. 2018;41(8):797–814.
44. Liu G, Deng Y, Song Y, Sui Y, Cen J, Shao Z. Transdermal Delivery of Adipocyte Phospholipase A2 siRNA using Microneedles to Treat Thyroid Associated Ophthalmopathy-Related Proptosis. 2021;30:1–8.
45. Waghule T, Singhvi G, Dubey SK, Pandey MM, Gupta G, Singh M, et al. Microneedles: A smart approach and increasing potential for transdermal drug delivery system. *Biomed Pharmacother*. 2019;109(September 2018):1249–58.
46. Amani H, Shahbazi MA, D'Amico C, Fontana F, Abbaszadeh S, Santos HA. Microneedles for painless transdermal immunotherapeutic applications. *J Control Release*. 2021;330:185–217
47. Elsabahy M, Wooley KL. Design of polymeric nanoparticles for biomedical delivery applications. *Chem Soc Rev*. 2012 Apr 7;41(7):2545-61.
48. Malviya R, Sharma PK, Dubey SK. Modification of polysaccharides: Pharmaceutical and tissue engineering applications with commercial utility (patents). *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2016 Nov 1;68:929-938.
49. Chaves, L. L. (2017). New technologies for the improvement of leprosy multidrug therapy: a Quality by Design approach.
50. de Oliveira, A. M., Jäger, E., Jäger, A., & Giacomelli, F. C. Produção de Nanopartículas Poliméricas com tamanho controlado com potencial aplicação na liberação controlada de agentes antitumorais.