

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Desenvolvimento de sistema inovador para terapia ocular empregando lentes de contato
hidrofílicas e dispersões nanoestruturadas

TATIELE KATZER

PORTO ALEGRE, 2012.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Desenvolvimento de sistema inovador para terapia ocular empregando lentes de contato hidrofílicas e dispersões nanoestruturadas

Dissertação apresentada por **Tatiele Katzer** para obtenção do GRAU DE MESTRE em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Ruy Carlos Ruver Beck

PORTO ALEGRE, 2012.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado – Produção e Controle de Qualidade de Produtos Farmacêuticos – da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada com mérito com louvor em 23.03.2012, pela Banca Examinadora constituída por:

Prof. Dr. Armando da Silva Cunha Júnior
Universidade Federal de Minas Gerais

Profa. Dra. Cristiane de Bona da Silva
Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Helder Ferreira Teixeira
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Katzer, Tatiele

Desenvolvimento de sistema inovador para terapia ocular empregando lentes de contato hidrofílicas e dispersões nanoestruturadas / Tatiele Katzer. - - 2012.

134 f.

Orientador: Ruy Carlos Ruver Beck

Dissertação (Mestrado) - - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-RS, 2012.

1. Nanopartículas 2. Lente de contato 3. Prednisolona 4. Liberação *in vitro*. I: Beck, Ruy Carlos Ruver. II. Título

Bibliotecária Responsável:

Este trabalho foi realizado no Laboratório 405 da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e contou com apoio financeiro do CNPq e FAPERGS.

**À minha família e ao Guilherme,
pelo amor, estímulo e cumplicidade.**

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Ruy C. R. Beck pela disponibilidade, conhecimentos transmitidos, estímulo e tempo que dedicou à minha orientação.

À Profa. Dra. Silvia S. Guterres pela oportunidade ímpar em participar de seu grupo de pesquisa como aluna de iniciação científica, mesmo que por um curto período.

À Profa. Dra. Adriana R. Pohlmann pelas aulas estimulantes e desafiadoras.

À Profa. Dra. Claudia Regina Müller pela orientação no trabalho de conclusão de curso, quando me apresentou o “universo nano”.

À pesquisadora Andressa Bernardi, pela colaboração com os experimentos de citotoxicidade e à aluna de iniciação científica Paula dos Santos Chaves, pela colaboração ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

Aos colegas e amigos do Laboratório 405 e K204 muito obrigado pelo apoio, pelas discussões científicas, pelo aprendizado coletivo e pelos inúmeros bons momentos. Em especial, à amiga Msc. Renata Contri, que me acolheu, me ensinou e serviu de exemplo desde o primeiro dia em que entrei neste laboratório. Aos moradores da “vila”, os quais fizeram com que esta trajetória se tornasse muito mais leve e prazerosa.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela oportunidade na construção da minha carreira.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), órgão financiador da bolsa de estudos.

E a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a construção deste trabalho.

RESUMO

Objetivo: Estudar a viabilidade tecnológica de um sistema inovador baseado na associação de lentes de contato (LC) e nanoestruturas [nanocápsulas (NC) ou nanoemulsões (NE)], visando aumentar o tempo de residência de substâncias de interesse terapêutico na cavidade ocular. **Método:** NC e NE foram preparadas por deposição interfacial de polímero e emulsificação espontânea, respectivamente, e caracterizadas quanto às propriedades físico-químicas e de toxicidade ocular *in vitro* (HET-CAM e linhagem celular SIRC). A associação das nanoestruturas com as LC foi realizada através de imersão ou instilação. A influência desta associação nas propriedades das LC foi avaliada através da sua transparência, permeabilidade iônica e morfologia. O teor de fármaco (prednisolona) associado às LC, a liberação *in vitro* do fármaco a partir das lentes e a resistência da prednisolona à lavagem foram avaliados. A influência do tempo de imersão foi estudada através de análises morfológicas e determinação do teor de fármaco nas lentes. **Resultados:** As formulações apresentaram características físico-químicas adequadas e ausência de toxicidade nas condições experimentais avaliadas. Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) demonstraram a presença de partículas na superfície e no interior da lente. A transparência e permeabilidade iônica se mantiveram adequadas. As LC apresentaram teor de $\sim 60 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, com liberação do fármaco durante 6-8 h. A prednisolona nanoencapsulada foi mais resistente à lavagem em relação à solução do fármaco. A análise das imagens de MEV das lentes não evidenciou a influência do tempo de imersão, no entanto os resultados de teor indicam que a quantidade de fármaco associada após 2, 8 ou 24 h de imersão é estatisticamente igual. **Conclusões:** Pela primeira vez demonstrou-se a interação entre nanopartículas e LC após a associação por imersão ou instilação. Esta associação não alterou as propriedades da lente, sendo esta estratégia uma promissora alternativa terapêutica para a liberação de fármacos ou outras substâncias na cavidade ocular.

Palavras-chave: nanopartículas, lente de contato, prednisolona, liberação *in vitro*.

ABSTRACT

Aim: To study the technological viability of an innovative system based on the association of contact lenses (CL) with nanostructures [nanocapsules (NC) or nanoemulsions (NE)], aiming to increase the residence time of therapeutic substances in the pre-corneal area. **Methods:** NC and NE were obtained by interfacial deposition of polymer and spontaneous emulsification, respectively, and were characterized. *In vitro* ocular toxicity of the particles was assessed by HET-CAM and SIRC cell line. The association of these nanostructures with CL was obtained by means of immersion or instillation. The influence of this association on CL properties was evaluated regarding the transparency and ion permeability measurements, as well as, morphology. The drug content (prednisolone) in CL, the *in vitro* drug release from the lenses and the prednisolone resistance to the washing procedure were analyzed. The influence of the soaking time on contact lenses was evaluated by means of morphological analysis and drug loading. **Results:** Formulations presented suitable physicochemical characteristics and absence of toxicity in the experimental conditions. Scanning electron microscopy (SEM) micrographs showed particle on the CL surface and inner part. CL transparency and ion permeability remained suitable. Near 60 μg of prednisolone per cm^2 were associated to the CL, showing a drug release over 6-8 h. Nanoencapsulated prednisolone was more resistant to the washes compared to the drug solution. The analysis of the SEM images did not evidence the influence of the soaking time. However, results of the drug content showed that regardless the immersion period (2, 8 or 24 h) the amount of associated drug remained statistically similar. **Conclusions:** For the first time we have demonstrated the interaction between nanoparticles and CL after immersion or instillation. Such association did not compromise any essential property of the lens, being this approach a promising therapeutic alternative for the release, in the pre-corneal area, of drug or other compounds with ophthalmic applicability.

Keywords: nanoparticle, contact lens, prednisolone, *in vitro* release.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA	11
Figura 1: Número de publicações em revistas indexadas junto ao <i>Institute of Scientific Information</i> , de 1975-2011, para o cruzamento das palavras-chave <i>drug delivery</i> e <i>contact lens</i>	20
Figura 2: Diferentes possibilidades de obtenção de lentes de contato carregadas com fármacos para liberação controlada através de modificações na sua composição ou superfície. (A) imobilização reversível do fármaco por ligação lábil; (B) copolimerização com monômeros funcionais capaz de interagirem com o fármaco não-covalentemente; (C) incorporação de estruturas coloidais contendo o fármaco; (D) fármaco alojado em cavidades moleculares impressas (<i>molecular imprinting</i>)	21
ARTIGO EM REDAÇÃO 1: Lentes de contato e nanoemulsões de óleo de rícino + óleo mineral: avaliação de uma estratégia inovadora para liberação oftálmica	35
Fig 1. Size distribution by nanoparticle tracking analysis of nanoemulsion with the corresponding video frame and 3D graph (size vs. intensity -*vs. concentration)	46
Fig 2. Transmission electron microscopy images of mineral oil + castor oil nanodroplets	46
Fig 3. Profile of transmission and delta backscattering light intensity during 1 hour analysis (one scan every 5 min) of nanoemulsion	47
Fig 4. Cell viability of rabbit cornea cell line after treatment with nanoemulsion by MTT assay: 48 h and 72 h of treatment. Control: SIRC not exposed to nanoemulsion	48
Fig 5. Scanning electron microscopy images of contact lens surface and cross section before and after instillation of 2 drops of nanoemulsion.	49

ARTIGO EM REDAÇÃO 2: Nanocápsulas e lentes de contato: uma plataforma para o desenvolvimento de um sistema ocular inovador de liberação de fármacos	57
Fig 1. Swelling/dissolution experiment: polymeric [Eudragit [®] RS100 or poly(ϵ -caprolactone)] films weight at different time intervals of contact with castor or mineral oil	71
Fig 2. Transmission electron microscopy images of blank and prednisolone-loaded nanocapsules	73
Fig 3. Cell viability of rabbit cornea cell line (SIRC) after 48 h and 72 h of treatment with formulations by MTT assay; control: SIRC not exposed to nanoparticles	77
Fig 4. Cell viability of rabbit cornea cell line (SIRC) after 48 h and 72 h of treatment with formulations (0.25 mM of prednisolone) by Trypan blue assay; control: SIRC not exposed to nanoparticles	78
Fig 5. Scanning electron microscopy images of contact lens surface and transversal section before and after impregnation with prednisolone-loaded nanocapsules	79
Graphical abstract	80
 ARTIGO EM REDAÇÃO 3: Lentes de contato impregnadas com nanopartículas: caracterização de uma plataforma inovadora para liberação ocular de fármacos	 89
Fig 1. Transmission electron microscopy images of blank and prednisolone-loaded nanoemulsions	102
Fig 2. <i>In vitro</i> prednisolone release profiles from Eudragit [®] RS100 or poly(ϵ -caprolactone) nanocapsules and the correspondent nanoemulsions, as well as the diffusion profile from the prednisolone hydroalcoholic solution (Control) by direct dialysis method. The continuous and dashed lines correspond to the fitting to the mono- and biexponential equation, respectively	103

Fig 3. Ion permeability of lenses after 8 h of immersion in prednisolone-loaded Eudragit [®] RS100 or poly(ϵ -caprolactone) nanocapsules and the correspondent nanoemulsions	105
Fig 4. Transmittance analysis of contact lenses as a function of time until 48 h of immersion in prednisolone-loaded formulations	106
Fig 5. Prednisolone loadings into contact lenses after 8 h of immersion in prednisolone-loaded Eudragit [®] RS100 or poly(ϵ -caprolactone) nanocapsules and the correspondent nanoemulsions	107
Fig 6. <i>In vitro</i> prednisolone release profiles from contact lens after 8 h of immersion in prednisolone-loaded Eudragit [®] RS100 or poly(ϵ -caprolactone) nanocapsules and the correspondent nanoemulsions	107
Fig 7. Scanning electron microscopy images of contact lenses surface and cross section after association with prednisolone-loaded Eudragit [®] RS100 nanocapsules for 2, 8 or 24 h	110
Fig 8. Scanning electron microscopy images of contact lenses surface and cross section after association with prednisolone-loaded poly(ϵ -caprolactone) nanocapsules for 2, 8 or 24 h	111
Fig 9. Prednisolone loadings into contact lenses after 2 or 24 h of immersion in Eudragit [®] RS100 or poly(ϵ -caprolactone) prednisolone-loaded nanocapsules	112

LISTA DE TABELAS

ARTIGO EM REDAÇÃO 1: Lentes de contato e nanoemulsões de óleo de rícino + óleo mineral: avaliação de uma estratégia inovadora para liberação oftálmica	35
Table 1. Physicochemical characteristics of nanoemulsions	47
ARTIGO EM REDAÇÃO 2: Nanocápsulas e lentes de contato: uma plataforma para o desenvolvimento de um sistema ocular inovador de liberação de fármacos ...	57
Table 1. Quali-quantitative composition of nanocapsule formulations	63
Table 2. Particle size distribution and mean particle size of the formulations by different techniques: laser diffraction, nanoparticle tracking analysis and photon correlation spectroscopy	72
Table 3. Results of the physicochemical parameters of the formulations: pH, zeta potential, drug content and encapsulation efficiency	74
ARTIGO EM REDAÇÃO 3: Lentes de contato impregnadas com nanopartículas: caracterização de uma plataforma inovadora para liberação ocular de fármacos	89
Table 1. Quali-quantitative composition of formulations	95
Table 2: Observed rate constants k , correlation coefficients and model selection criteria obtained by fitting prednisolone release profiles from formulations to monoexponential and biexponencial equations	104
Table 3: Observed rate constants k , correlation coefficients and model selection criteria obtained by fitting prednisolone release profiles from contact lenses to monoexponential and biexponencial equations	108

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	7
2.1. Objetivo geral	9
2.2. Objetivos específicos	9
3. REVISÃO DE LITERATURA	11
3.1. Formulações convencionais na terapia oftálmica	13
3.2. Sistemas inovadores não-invasivos na terapia oftálmica	17
3.2.1. Lentes de contato como plataforma para liberação de fármacos	18
3.2.2. Sistemas nanoestruturados e sua aplicação oftálmica	22
3.2.3. Sistemas nanoestruturados e lentes de contato	28
4. ARTIGOS EM REDAÇÃO	33
4.1. Artigo em redação 1: Lentes de contato e nanoemulsões de óleo de rícino + óleo mineral: avaliação de uma estratégia inovadora para liberação oftálmica	35
4.2. Artigo em redação 2: Nanocápsulas e lentes de contato: uma plataforma para o desenvolvimento de um sistema ocular inovador de liberação de fármacos	57
4.3. Artigo em redação 3: Lentes de contato impregnadas com nanopartículas: caracterização de uma plataforma inovadora para liberação ocular de fármacos	89
5. DISCUSSÃO GERAL	121
6. CONCLUSÕES	133
REFERÊNCIAS	137

1. INTRODUÇÃO

Apesar dos inúmeros avanços científicos, a liberação oftálmica de fármacos permanece um grande desafio para os pesquisadores da área médica e farmacêutica. A maioria das doenças oculares é tratada topicamente através da aplicação de formas farmacêuticas líquidas convencionais (colírios), como soluções e suspensões (SAHOO; DILNAWAZ; KRISHNAHUMAR, 2008), as quais apresentam baixa biodisponibilidade ocular (LANG, 1995; LANGER; ZIMMER; KREUTER, 1997). Ao longo dos anos, diversas alternativas foram propostas visando solucionar este problema, seja através de mudanças tecnológicas nas formulações, como o aumento da viscosidade e a utilização de veículos oleosos, ou através do uso de novos dispositivos, como implantes oftálmicos, lentes de contato e sistemas carreadores. Em geral, o objetivo primário é evitar a rápida eliminação dos fármacos do domínio ocular e obter uma liberação lenta a partir de um depósito intraocular ou pré-corneal (LANGER; ZIMMER; KREUTER, 1997).

Lentes de contato são materiais médicos usados majoritariamente visando à correção de erros refrativos oculares (ametropias) que causam prejuízo à qualidade da visão, como miopia, hipermetropia e astigmatismo. No entanto, também podem ser empregadas visando o alívio de dor ocular e auxiliando no processo de cicatrização da córnea, através da proteção mecânica entre as pálpebras e a superfície corneana, além de contribuir para a manutenção da hidratação do epitélio corneano (ALVAREZ-LORENZO; HIRATANI; CONCHEIRO, 2006) e neste caso classificadas como lentes de contato terapêuticas. Lentes de contato foram descritas como um possível sistema para liberação de fármacos pela primeira vez em 1960 (WICHTERLE, 1960) e, embora diversos grupos de pesquisa tenham desenvolvido e caracterizado lentes de contato para este fim (KIM; CONWAY; CHAUHAN, 2008; CIOLINO *et al.*, 2011; DANION *et al.*, 2007a), ainda não há um produto disponível comercialmente (CIOLINO *et al.*, 2011). O seu alto grau de conforto, aceitabilidade, biocompatibilidade e a capacidade de aumentar o tempo de permanência de fármacos na cavidade ocular são propriedades das lentes hidrofílicas que as tornam uma alternativa interessante para a liberação de fármacos (CREECH; CHAUHAN; RADKE, 2001; LI; CHAUHAN, 2006).

Lentes medicamentosas podem ser obtidas a partir de diferentes técnicas com variados graus de complexidade, sendo a pioneira e mais simples delas a imersão em soluções do fármaco (KIM; CHAUHAN, 2008). No entanto, esta estratégia não proporciona controle na velocidade de liberação, sendo que baixa dose de fármaco é carregada e esta se esgota em um curto período (KIM; CHAUHAN, 2008). Dentre as técnicas mais complexas, destacam-se a impregnação de fármacos por fluido supercrítico (COSTA *et al.*, 2010), alterações na composição da mistura pré-polimerização [adição de uma solução do fármaco (CIOLINO *et al.*, 2011), de uma dispersão coloidal (GULSEN; CHAUHAN, 2005) ou ciclodextrinas (XU; LI; SUN, 2010a)], imobilização do fármaco na matriz da lente através de ligações lábeis reversíveis e alojamento do fármaco em cavidades moleculares impressas (*molecular imprinting*) (ALVAREZ-LORENZO; HIRATANI; CONCHEIRO, 2006).

No âmbito das ciências farmacêuticas, a nanobiotecnologia ou nanomedicina tem sido utilizada para o desenvolvimento de sistemas coloidais nanoestruturados capazes de controlar a liberação de fármacos (MIYAZAKI; ISLAM, 2007). Estes nanossistemas podem ser administrados por diferentes vias como a intravenosa, ocular ou dérmica, indicando a sua versatilidade (ALONSO, 2004). Dentre os sistemas nanoestruturados para uso terapêutico, as nanopartículas lipídicas e poliméricas, nanoemulsões, lipossomas, niossomas, dendrímeros e ciclodextrinas (SAHOO; DILNAWAZ; KRISHNAKUMAR, 2008) tem sido amplamente estudadas.

As nanopartículas poliméricas são sistemas carreadores que apresentam diâmetro inferior a 1 μm e diferem entre si de acordo com a composição e organização estrutural (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003; KUMARI; YADAV; YADAV, 2010), podendo diferenciar-se em nanocápsulas e nanoesferas. Nanocápsulas apresentam em sua estrutura um núcleo oleoso envolto por uma membrana polimérica, ao passo que as nanoesferas caracterizam-se pela ausência de óleo, configurando-se como uma matriz polimérica. As nanoemulsões, por sua vez, não apresentam polímeros em sua composição, constituindo-

se por gotículas de óleo estabilizadas por uma combinação de tensoativos (SCHAFAZZICK *et al.*, 2003). Para a aplicação oftálmica destas nanoestruturas é necessário que elas não sejam irritantes aos tecidos oculares, como córnea, íris ou conjuntiva, podendo agir como carreadores inertes de fármacos oftálmicos (SAHOO; DILNAWAZ; KRISHNAKUMAR, 2008) e oferecendo vantagens como o aumento da estabilidade e o controle da liberação de substâncias ativas (OURIQUE *et al.*, 2008), ação terapêutica com menor dose e menos efeitos colaterais oculares e sistêmicos (VANDAMME, 2002). Neste sentido, a associação de lentes de contato, que por si só atuam como uma barreira para a difusão de fármacos, com nanopartículas apresenta-se como uma alternativa promissora para liberação controlada de fármacos e outros compostos de interesse na cavidade ocular.

Com base no exposto, este trabalho tem como objetivo avaliar a viabilidade tecnológica de desenvolvimento de um sistema ocular inovador, baseado na associação de lentes de contato hidrofílicas e dispersões nanoestruturadas (nanocápsulas ou nanoemulsões), visando o aumento da permanência de fármacos ou outras substâncias de interesse na cavidade ocular. É importante ressaltar que na literatura científica pertinente não há relatos explorando essa estratégia. Sendo assim, este estudo apresenta um aspecto inédito através da proposição de um sistema ocular diferenciado fazendo uso da nanotecnologia.

De acordo com as normas vigentes do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, a presente dissertação foi redigida na forma de encarte de publicações. Assim, este exemplar encontra-se dividido da seguinte forma: Introdução, contendo a apresentação do tema e a formulação da hipótese geral deste trabalho; Objetivo geral e específicos; Revisão de literatura; Artigos em redação 1, 2 e 3 a serem submetidos a distintos periódicos científicos; Discussão geral, visando a compreensão global dos resultados apresentados nas diferentes etapas do trabalho; Conclusões e Referências.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Desenvolver um sistema ocular inovador para terapia ocular baseado na associação de lentes de contato hidrofílicas e dispersões nanoestruturadas como alternativa para aumentar o tempo de permanência de fármacos e outros compostos de interesse na superfície ocular.

2.2. Objetivos específicos

- Desenvolver nanocápsulas e nanoemulsões contendo óleo de rícino e óleo mineral pelos métodos de deposição interfacial de polímero pré-formado e emulsificação espontânea, respectivamente;
- Estudar a incorporação de um fármaco modelo com aplicação oftálmica, a prednisolona, às nanoestruturas propostas;
- Determinar o potencial de irritação ocular *in vitro* e de citotoxicidade das dispersões coloidais desenvolvidas;
- Avaliar a viabilidade tecnológica de se obter um sistema para terapia ocular através da associação de nanoestruturas a lentes de contato hidrofílicas, estudando os efeitos da associação às propriedades da lente;
- Estudar o perfil de liberação *in vitro* do fármaco modelo a partir das formulações e da plataforma desenvolvida.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Formulações convencionais na terapia oftálmica

As formulações atualmente disponíveis para aplicação tópica de fármacos oftálmicos sob a forma farmacêutica de colírio (solução ou suspensão) representam aproximadamente 70% do total e são prescritas em 9 de 10 receituários para tratar alguma desordem ou promover alívio de desconfortos oculares (COSTA *et al.*, 2010). No entanto, frequentemente apresentam-se ineficazes devido ao baixo tempo de residência na cavidade ocular (LANG, 1995), à absorção errática e conseqüente flutuação na concentração do fármaco, gerando uma alta concentração transitória seguida de um curto tempo com concentração terapêutica efetiva e então um longo período de doses baixas (JÄRVINEN; JÄRVINEN; URTTI, 1995; CALVO; VILA-JATO; ALONSO, 1997).

Há uma série de eficientes mecanismos de eliminação de substâncias estranhas da cavidade ocular, tais como a produção lacrimal normal e reflexa, drenagem nasolacrimal e mesmo o ato de piscar que fazem com que após a instilação de um colírio a formulação seja eliminada da área pré-corneal em menos de 5 minutos (LEE; ROBINSON, 2003). Além disso, a drenagem nasolacrimal pode levar à absorção sistêmica do fármaco pela mucosa nasal, trato gastrointestinal ou através dos vasos locais da conjuntiva, podendo gerar efeitos colaterais indesejáveis (CALVO; VILA-JATO; ALONSO, 1997; MACHA; MITRA; HUGHES, 2003; GULSEN; CHAUHAN, 2005; GULSEN; LI; CHAUHAN, 2005).

Esquemas de administração com repetidas doses diárias, concentrações elevadas ou alta viscosidade da formulação (cremes, géis e pomadas) são necessários para aumentar o tempo de permanência do fármaco na cavidade pré-corneal. No entanto, implicam na diminuição da adesão do paciente ao tratamento, graves efeitos adversos locais ou sistêmicos e após a administração de formulações com viscosidade aumentada, visão turva e irritação ocular são frequentemente relatadas (XU; LI; SUN, 2010a).

As formas farmacêuticas oftálmicas convencionais são relativamente simples, nas quais fármacos hidrossolúveis são formulados em solução aquosa, enquanto os lipossolúveis em suspensão ou pomada (CUNHA JÚNIOR *et al.*, 2003). Considerando as formulações líquidas (colírios), a estas podem ser adicionadas substâncias doadoras de viscosidade como os polímeros sintéticos [álcool polivinílico (PVA), polivinilpirrolidona (PVP), polietilenoglicol (PEG) e ácido poliacrílico (PAA)], bem como os derivados da celulose, pois são biocompatíveis e apresentam propriedades físico-químicas satisfatórias. Entretanto, a eliminação destas formulações da área pré-corneal é ainda muito rápida (SINTZEL *et al.*, 1996).

Promotores de absorção ou penetração, como tensoativos, cloreto de benzalcônio, EDTA e quitosana podem ser utilizados para aumentar a permeabilidade da membrana celular ou desestruturar as fenestrações justapostas da córnea, podendo aumentar o transporte de substâncias através desta (KAUR; SMITHA, 2002). No entanto, há evidências de que os próprios promotores de absorção ao penetrarem nos tecidos oculares podem acumular-se na córnea, corpo ciliar e íris e causar complicações, como irritação ocular e alterações na permeabilidade dos vasos sanguíneos do trato uveal (constituído pela íris, o corpo ciliar e a coróide), acelerando indiretamente a remoção do fármaco do humor aquoso (KAUR *et al.*, 2004). Por sua vez, a administração de fármaco pela via oral para o tratamento de distúrbios da via ocular pode acarretar severos efeitos colaterais em função da elevada dose que se faz necessária (SHIMMER; PARKER, 2006).

Embora não seja uma alternativa terapêutica convencional é importante mencionar as vias de administração periocular (subconjuntival, subtenoniana ou retrobulbar) e intra-ocular (intracameral ou intravitreal), utilizadas no tratamento de doenças oculares que acometem o vítreo e a retina, principalmente devido à dificuldade de acesso a esses tecidos. Estas vias apresentam vantagens como a superação da barreira exercida pelo epitélio corneano e conjuntiva, a obtenção de maiores concentrações no meio intra-ocular e menor frequência de aplicação. No entanto, podem gerar aumento da pressão intra-ocular,

catarata, hifema (acúmulo de sangue na câmara anterior do olho), estrabismo, entre outras (GAUDANA *et al.*, 2009). Além disso, a injeção intra-ocular de formas farmacêuticas líquidas fica suscetível à rápida circulação sanguínea, promovendo meia-vida reduzida e concentrações a níveis subterapêuticos. Para manter os níveis do fármaco dentro da faixa terapêutica, são necessárias injeções repetidas, as quais podem causar desconforto para o paciente e ocasionar complicações como hemorragia vítrea, infecções, catarata e descolamento da retina (FIALHO *et al.*, 2003).

Visando aumentar a biodisponibilidade e o tempo de ação dos fármacos, sistemas de liberação poliméricos (biodegradáveis ou não) para utilização intravítrea tem sido estudados (FIALHO *et al.*, 2003; FIALHO *et al.*, 2007). Da Silva e colaboradores (2011) sintetizaram implantes intraoculares para o tratamento da uveíte através da incorporação de acetato de dexametasona em nanocompósitos de poliuretano biodegradável [derivado da poli(ϵ -caprolactona)], sem a utilização de solventes orgânicos. A incorporação de nanopartículas (MMT Cloisite[®] Na⁺, Southern Clay Products, EUA) ao polímero permitiu modular as propriedades mecânicas e a biodegradabilidade deste sistema, obtendo-se um dispositivo com propriedades mecânicas comparáveis aos tecidos oculares. Não foi observada toxicidade *in vitro* frente à linhagem celular representativa do epitélio pigmentado da retina humana (ARPE-19) após 7 dias de contato com o nanocompósito. Além disso, em estudo de liberação *in vitro*, este sistema foi capaz de liberar o fármaco por um longo período (371 dias) a uma velocidade quase constante, demonstrando o potencial para aplicação como um dispositivo de longa duração.

Em outro estudo (FIALHO *et al.*, 2007) do mesmo grupo de pesquisa foi estudado o desenvolvimento de implantes intra-oculares para tratamentos de longa duração (doenças crônicas do vítreo e retina), com a vantagem de poder implantá-lo sem cirurgia, utilizando uma nova técnica. Os resultados demonstram que o dispositivo desenvolvido prolongou o tempo de liberação do fármaco, sem provocar alterações histológicas na

retina ou elevar a pressão intra-ocular em olhos de coelhos. Estudos *in vivo* estão em andamento para avaliar a eficácia do implante.

Exemplos de implantes para utilização intravítrea, como o Retisert[®] (fluocinolona acetona 0,59 mg, tratamento de uveíte não-infecciosa crônica no segmento posterior do olho) (BAUSCH & LOMB, 2012a) e Vitrasert[®] (ganciclovir 4,5 mg, tratamento da retinite causada por citomegalovírus em pacientes com imunodeficiência adquirida) (BAUSCH & LOMB, 2012b), ambos da empresa Bausch & Lomb Inc., estão disponíveis comercialmente a custo elevadíssimo. Embora a via periocular seja um pouco menos invasiva que as injeções intravítreas, ambas são traumáticas e, por isso, reservadas para o tratamento de condições severas quando outras possibilidades são inviáveis (ALVAREZ-LORENZO; HIRATANI; CONCHEIRO, 2006).

Considerando as classes de fármacos empregadas em tratamentos tópicos oculares, destacam-se os antimicrobianos, antivirais, mióticos, midríaticos, anestésicos locais, anti-inflamatórios e antihistamínicos (ALVAREZ-LORENZO; HIRATANI; CONCHEIRO, 2006). Para a realização deste trabalho, a prednisolona, um anti-inflamatório glicocorticóide, foi selecionado como fármaco modelo. Os glicocorticóides representam um papel importante devido aos seus efeitos anti-inflamatórios e imunossupressores, atuando de forma a diminuir ou impedir a resposta tissular ao processo inflamatório por intermédio da redução do desenvolvimento dos sintomas da inflamação (BARNES, 1993). A prednisolona encontra-se comercialmente disponível sob a forma farmacêutica de colírio, comprimido e solução para via oral e, na oftalmologia, é utilizada no tratamento de hipersensibilidade ocular, uveíte, doenças inflamatórias da parte posterior do olho associadas com infecções e cicatrização ocular, assim como no tratamento de inflamações pós-operatórias de cirurgia refrativa, córnea e intra-ocular (HENDERER; RAPUANO, 2006). Os efeitos colaterais dos glicocorticóides têm-se revelado estritamente dependentes da dose (ROSEN; MINER, 2005), apresentando algumas complicações decorrentes da sua absorção sistêmica e uso contínuo, tais como: distúrbios

hidroeletrólitos, hipertensão, hiperglicemia e osteoporose, além de aumento da pressão intra-ocular (SHIMMER; PARKER, 2006) e retinopatia central serosa (descolamento da retina) (SHAH *et al.*, 2011; ALTEN; MEYER, 2011).

3.2. Sistemas inovadores não-invasivos na terapia oftálmica

As pesquisas na área visando desenvolver um sistema que possa ser mais efetivo na liberação oftálmica de fármacos são estimuladas frente às limitações dos sistemas convencionais. Diferentes tipos de sistemas inovadores não-invasivos para administração oftálmica tem sido propostos para aumentar o tempo de permanência pré-corneal de fármacos (GULSEN; CHAUHAN, 2005; MACHA; MITRA; HUGHES, 2003; LEE; ROBINSON, 2003). Entre estes se destacam as ciclodextrinas (XU; LI; SUN, 2010a), as nanopartículas (FRONZA; CAMPOS; TEIXEIRA, 2004; PIGNATELLO *et al.*, 2006; NAGARWAL *et al.*, 2009; GUPTA *et al.*, 2010), os polímeros bioadesivos (LE BOURLAIS *et al.*, 1998; PIGNATELLO *et al.*, 2002; IBRAHIM; EL-LEITHY; MAKKY, 2010; DE LA FUENTE *et al.*, 2010) e as lentes de contato (WALTMAN; KAUFMAN, 1970; HILLMAN, 1974; JAIN, 1988; HEHL *et al.*, 1999; THAI; TOMLINSON; SIMMONS, 2002; DANION *et al.*, 2007a; KIM; CONWAY; CHAUHAN, 2008; KAPOOR *et al.*, 2009; SANTOS *et al.*, 2009; COSTA *et al.*, 2010).

Formulações preparadas com base em polímeros bioadesivos, como os derivados da celulose (metilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose, carboximetilcelulose sódica), polissacarídeos (quitosana, goma xantana, ácido poligalacturônico) e acrilatos (ácido poliacrílico e carbômeros) podem interagir com as mucinas do filme lacrimal e aumentar o tempo de permanência na área pré-corneal (LUDWIG, 2005). Dentre estes polímeros, a quitosana, um biopolímero policatiônico biodegradável, com propriedades cicatrizantes e antimicrobianas, tem sido intensamente estudado, sendo empregada para a obtenção de géis para uso dermatológico (CONTRI *et al.*, 2010), como veículo para a liberação de fármacos oftálmicos (KHANGTRAGOOL *et al.*, 2011) ou para o revestimento de partículas (SIQUEIRA *et al.*, 2011). As propriedades mucoadesivas da quitosana são

determinadas pela formação de interações iônicas entre os grupamentos amino positivamente carregados da quitosana e os resíduos de ácido siálico negativamente carregados das mucinas, dependendo do pH local (LUDWIG, 2005).

Uma alternativa terapêutica mais sofisticada utiliza polímeros fluidos (poloxamers) à temperatura ambiente que, quando aplicados na área pré-corneal, adquirem consistência semissólida, através de um processo denominado gelificação *in situ*. Este fenômeno é causado por uma mudança na conformação do polímero, que passa da forma micelar para uma forma auto-organizada, podendo ser ativada pela temperatura da superfície ocular, pH da lágrima ou conteúdo iônico do filme lacrimal (KAUR; KANWAR, 2002). Embora amplamente utilizado, estes polímeros apresentam a desvantagem de possuírem baixa resistência mecânica, sendo bastante suscetíveis à erosão (GRATIERI *et al.*, 2011).

Visando contornar esta limitação, Gratieri e colaboradores (2011) desenvolveram uma combinação de quitosana e poloxamer para aumentar e sustentar a liberação de fluconazol após a administração tópica usando a estratégia da gelificação *in situ*. Os resultados da permeação *ex vivo* em córnea de suínos mostraram que há aumento da permeação do fármaco quando a combinação de quitosana e poloxamer foi empregada, o qual é independente da concentração de quitosana em uma faixa de 0,5 a 1,5 % (v/v). No estudo de permeação *in vivo*, usando coelhos albinos da raça Nova Zelândia, os resultados foram similares para a formulação desenvolvida e uma solução do fármaco contendo 1% de quitosana, apresentando permeação 3,5 vezes maior comparada a uma solução aquosa do fármaco. Assim como para os sistemas convencionais, duas das principais desvantagens dessas formulações de elevada viscosidade é a pegajosidade e a visão turva (ALVAREZ-LORENZO; HIRATANI; CONCHEIRO, 2006).

3.2.1. Lentes de contato como plataforma para liberação de fármacos

Estima-se que 125 milhões de pessoas no mundo sejam usuárias de lentes de contato (BARR, 2005) e este número aumenta a cada ano. No entanto, quando há

necessidade de tratar alguma desordem ocular, os usuários de lentes de contato podem esbarrar em algumas dificuldades. O uso de suspensões e pomadas oftálmicas, por exemplo, pode causar extremo desconforto, uma vez que as partículas do fármaco das suspensões podem se acomodar entre a córnea e a lente e as pomadas podem não apenas embaçar a visão, mas também manchar a lente. Uma forma farmacêutica alternativa, como uma solução oftálmica, pode ser prescrita, no entanto, a sua eliminação é muito rápida e evitar o uso de lentes até que a terapia seja finalizada, aumenta a possibilidade de o paciente não aderir ao tratamento (REDDY; GANESAN, 2011).

Uma busca no banco de dados do *Institute for Scientific Information* (Thomson Reuters Corporation), cruzando as palavras-chave *contact lens* e *drug delivery* reflete o interesse nas lentes de contato como sistema para a liberação de fármacos, dado o crescente volume de publicações entre os anos de 1975 e 2011 (Figura 1). No mesmo período, 156 patentes foram registradas (dado não apresentado). Sugere-se que este grande interesse em lentes de contato, especialmente hidrofílicas, como plataforma para liberação de fármacos, seja devido ao seu elevado grau de conforto (XU; LI; SUN, 2010a).

As lentes medicamentosas podem ser obtidas a partir de diferentes técnicas de impregnação com variados graus de complexidade, sendo a mais simples e também pioneira a imersão em soluções do fármaco (WALTMAN; KAUFMAN, 1970; HILLMAN, 1974; HEHL *et al.*, 1999; BOONE; HUI; LYNDON, 2009). Nesta técnica, as lentes absorvem os fármacos e os liberam majoritariamente no fluido lacrimal pós-lente (entre a lente e a córnea), minimizando a eliminação e absorção via conjuntiva (ALVAREZ-LORENZO; HIRATANI; CONCHEIRO, 2006). A habilidade das lentes de contato para atuarem como reservatório de fármacos depende do seu conteúdo de água, espessura e tamanho dos poros, bem como do peso molecular e concentração do fármaco na solução de imersão (JAIN; BATRA, 1979; ALVAREZ-LORENZO; HIRATANI; CONCHEIRO, 2006), variáveis que influenciam no tempo necessário para atingir a

concentração de saturação da lente. De maneira geral, quanto maior o conteúdo de água da lente, maior a sua capacidade de carreamento, uma vez que é esperado que a quantidade de fármaco carregada seja proporcional ao volume de água do hidrogel. No entanto, embora a capacidade de carga seja maior, também o é a velocidade de liberação (KIM; BAE; OKANO, 1992).

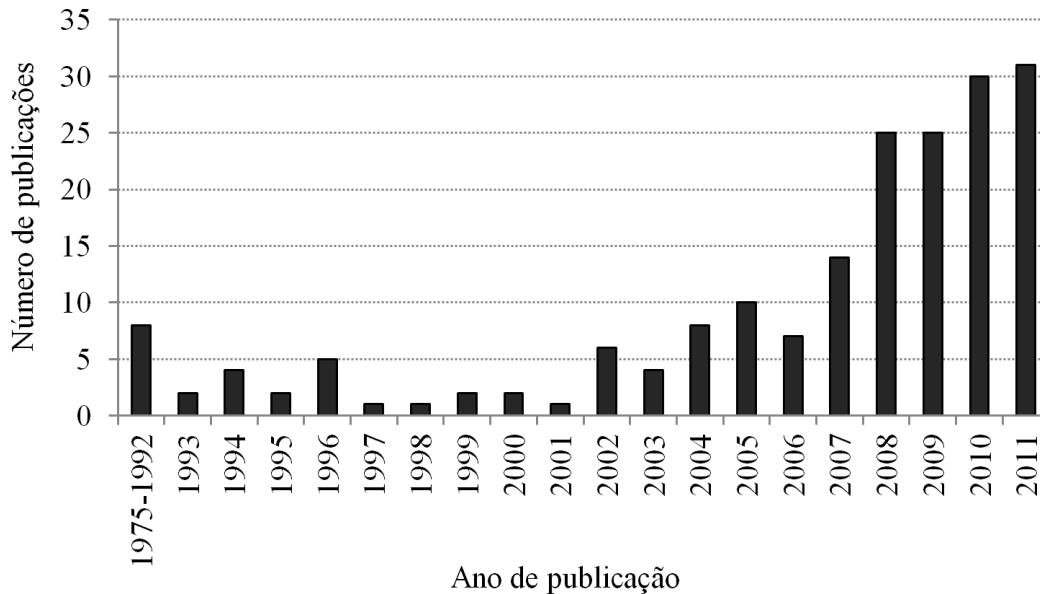


Figura 1: Número de publicações (artigos e revisões) em revistas indexadas junto ao *Institute of Scientific Information*, de 1975-2011, para o cruzamento das palavras-chave *drug delivery* e *contact lens*. (Fonte: Plataforma ISI Web of Sciences®, Thomson Reuters Corporation. Acesso: 17.01.12).

Após a imersão da lente em uma solução do fármaco, este se encontrará livremente disperso na sua estrutura e, por isso, a sua velocidade de liberação apresentará baixo ou nenhum controle (DANION *et al.*, 2007b), levando ao esgotamento do fármaco em um curto período. Além disso, quanto menor o peso molecular do fármaco mais rápido ocorrerá a sua liberação (ALVAREZ-LORENZO; HIRATANI; CONCHEIRO, 2006). Estas limitações também são observadas em outras abordagens, como na adição da solução contendo o fármaco na concavidade da lente antes de posicioná-la no olho ou instilação de gotas de um colírio na sua superfície depois de posicionada (RUBINSTEIN; EVANS, 1997).

Visando contornar esta rápida liberação, a dissolução do fármaco diretamente na mistura de monômeros que originará a lente de contato após a polimerização (KIM; CHAUHAN, 2008; XU; LI; SUN, 2010b) foi a primeira abordagem descrita. No entanto, este método limita a incorporação de fármacos hidrofóbicos devido à baixa solubilidade na solução de hidroetilmetacrilato (HEMA), um dos polímeros mais amplamente utilizados para obtenção de lentes de contato hidrofílicas. Além disso, a possibilidade de que as moléculas do fármaco reajam com os monômeros durante a polimerização e conseqüentemente percam sua atividade (GULSEN; CHAUHAN, 2005) é uma desvantagem deste método. Outras modificações mais elaboradas na composição e superfície da lente de contato tem sido propostas (Figura 2).

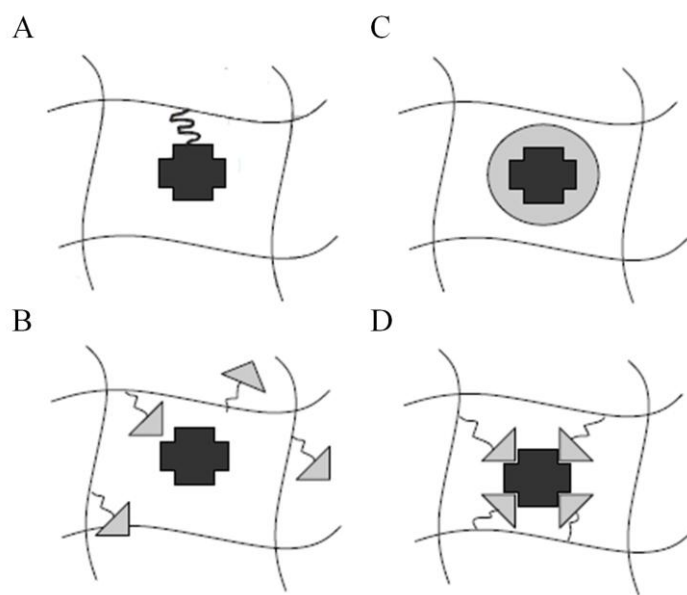


Figura 2: Diferentes possibilidades de obtenção de lentes de contato carregadas com fármacos para liberação controlada através de modificações na sua composição ou superfície. (A) imobilização reversível do fármaco por ligação lábil; (B) copolimerização com monômeros funcionais capaz de interagirem com o fármaco não-covalentemente; (C) incorporação de estruturas coloidais contendo o fármaco na mistura de polimerização; (D) fármaco alojado em cavidades moleculares impressas (*molecular imprinting*). Adaptado de: ALVAREZ-LORENZO; HIRATANI; CONCHEIRO, 2006.

É importante ressaltar que, embora algumas destas estratégias tenham conseguido prolongar o tempo de liberação dos fármacos associados, os processos de obtenção são

mais elaborados e/ou em nível de fabricação. Além disso, independente da estratégia utilizada, a lente de contato deve manter-se hidrofílica, permeável a íons e oxigênio e com suas propriedades ópticas, morfológicas e mecânicas, garantindo sua adequabilidade para o uso (ALVAREZ-LORENZO; HIRATANI; CONCHEIRO, 2006).

Dentre as técnicas citadas na Figura 2, a de incorporação de estruturas coloidais à mistura de monômeros será abordada na sessão 3.2.3. No entanto, as demais estratégias não serão aqui descritas, pois a obtenção de novos hidrogéis não é o foco deste trabalho.

3.2.2. Sistemas nanoestruturados e sua aplicação oftálmica

Os resultados de pesquisas científicas sugerem que a medicina ocular se beneficiará enormemente do uso da tecnologia na escala nanométrica (DIEBOLD; CALONGE, 2010). Carreadores coloidais de fármacos, como os lipossomas, as nanopartículas poliméricas e lipídicas e as nanoemulsões tem atraído crescente interesse nos últimos 30 anos como veículos para administração de fármacos. Algumas vantagens destes sistemas na terapia ocular tópica são a facilidade de aplicação tal como um colírio; o tamanho diminuto das partículas, o que evita a sensação de desconforto quando comparado com partículas maiores (LANGER; ZIMMER; KREUTER, 1997; DAS; SURESH; DESMUKH, 2010); a proteção do fármaco frente às enzimas lacrimais ou do epitélio corneano (KAUR *et al.*, 2004); a capacidade de aumentar a biodisponibilidade de fármacos no segmento posterior e anterior do olho, podendo levar à diminuição da frequência de administração, dose e toxicidade local e/ou sistêmica. A escolha do tipo de nanossistema a ser utilizado recairá, principalmente, sobre a sua biodegradabilidade, biocompatibilidade, compatibilidade física e química com o fármaco, e a via de administração a ser utilizada (ROSSI-BERGMANN, 2008).

A efetividade das nanoestruturas como sistema de liberação ocular depende de diversos fatores, incluindo a eficiência de encapsulação do fármaco, o tamanho e a carga de superfície da partícula, a localização do fármaco na estrutura, a estabilidade no saco

conjuntival e demais tecidos oculares e sua afinidade com a córnea (KAUR *et al.*, 2004). De maneira geral, sabe-se que as nanoestruturas que apresentam potencial zeta positivo podem interagir com as mucinas, proteínas negativamente carregadas presentes na superfície da córnea e conjuntiva (CALVO; VILA-JATO; ALONSO, 1997), prolongando o tempo de residência do fármaco no saco conjuntival, uma vez que a eliminação será controlada pela renovação bem mais lenta do muco ocular em detrimento da renovação lacrimal (KAUR; SMITHA, 2002). Neste sentido, o revestimento das partículas com polímeros bioadesivos (ácido hialurônico, quitosana e ácido poliacrílico) pode potencializar este sistema de liberação de fármacos.

Os lipossomas representam a primeira geração de carreadores coloidais e, por isso, encontram-se bem caracterizados em termos de físico-química, estrutura, estabilidade, toxicidade e formas de administração *in vivo*, incluindo a ocular (SANTOS; CASTANHO, 2002; EBRAHIM; PEYMAN; LEE, 2005). Constituem-se em estruturas formadas por membranas fosfolipídicas organizadas em uma ou mais bicamadas concêntricas em torno de um núcleo aquoso, sendo completamente biodegradáveis. Devido ao caráter anfifílico dos fosfolipídios e sua organização em estruturas fechadas, os lipossomas podem encapsular moléculas hidrofóbicas na membrana da bicamada e/ou compostos hidrofílicos na cavidade aquosa interna. Entretanto, dificuldades de transposição de escala, limitada estabilidade físico-química e o alto custo de formulação são as maiores barreiras para a sua produção (GABRIELLE-MADELMONT; LESIEUR; OLLIVON, 2004; JOSHI; MÜLLER, 2009).

Com relação à aplicação ocular, os lipossomas oferecem vantagens no tratamento de distúrbios do segmento anterior e posterior do olho. Sabe-se que os lipossomas podem aumentar a absorção de fármacos para a região anterior por interagirem intimamente com a córnea e a conjuntiva (SCHAEFFER; KROHN, 1982; ALVAREZ-LORENZO; HIRATANI; CONCHEIRO, 2006), enquanto que para ação na parte posterior do olho, as vantagens de utilização dos lipossomas são o aumento do tempo de permanência, a baixa

toxicidade e a liberação específica para o epitélio pigmentado da retina (EBRAHIM; PEYMAN; LEE, 2005). Uma desvantagem dos lipossomas na aplicação ocular é a captura das vesículas que são positivamente carregados pelas mucinas, proteínas presentes no fluido lacrimal, em detrimento das aniônicas e não-iônicas, que pode levar à sua completa desintegração (NAGARWAL *et al.*, 2009).

Li e colaboradores (2012) desenvolveram lipossomas contendo diclofenaco sódico e os revestiram com quitosana de baixo peso molecular (8 kDa). O revestimento inverteu o potencial zeta das vesículas para valores positivos, aumentou sutilmente o tamanho de partícula e melhorou a estabilidade físico-química da formulação (30 dias à 25°C). Os resultados do teste de Draize não demonstraram irritação ou toxicidade durante ou após o tratamento contínuo (7 dias) com a formulação desenvolvida. A bioadesividade ocular foi avaliada *in vivo* em coelhos e os resultados demonstraram que os lipossomas revestidos foram superiores comparados aos não revestidos ou à solução do fármaco. Esta bioadesividade superior explicaria a maior penetração transcorneal observada.

Há comercialmente disponível uma formulação de lipossomas para infusão intravenosa (Visudyne[®], Novartis Ophthalmics), contendo o fármaco verteporfina, utilizado no tratamento de degeneração macular relacionada à idade que provoca manchas escuras no centro da visão e pode levar à cegueira. Este medicamento é ativado no olho por incidência de um laser não-térmico (terapia fotodinâmica), 15 minutos após a administração intravenosa. Esse procedimento provoca o fechamento dos vasos sanguíneos coroidianos anormais, deixando os vasos normais em funcionamento (ANVISA, 2012a). Outro produto disponível no mercado é o *Tears Again Advanced Liposome Eyelid Spray* (OCuSOFT, Inc., 2012), indicado para o tratamento da síndrome do olho seco, de leve à moderada. O produto é aplicado sobre as pálpebras fechadas, provoca mínima distorção visual e acredita-se agir como um “selante” da produção lacrimal.

As nanopartículas poliméricas, estudadas desde a década de 80, são sistemas coloidais constituídos de partículas menores do que 1 μm (normalmente entre 100-500 nm) e incluem tanto nanocápsulas como nanoesferas (NAGARWAL *et al.*, 2009; MORA-HUERTAS; FESSI; ELAISSARI, 2010). As nanocápsulas consistem em sistemas reservatórios contendo um núcleo oleoso envolto por uma membrana polimérica, enquanto nanoesferas não apresentam óleo em sua composição, originando uma matriz polimérica (KUMARI; YADAVI; YADAVI, 2010). Se adicionado à formulação, o fármaco poderá estar disperso no núcleo ou na matriz polimérica e/ou adsorvido à parede da partícula (NAGARWAL *et al.*, 2009). Recentemente, o desenvolvimento de nanocápsulas de núcleo lipídico foi descrito na literatura (JÄGER *et al.*, 2009). Estas partículas se caracterizam por apresentar um núcleo composto pela dispersão de um lipídio sólido em um lipídio líquido envolto por uma membrana polimérica. Estas nanoestruturas podem ser revestidas com polímeros hidrofílicos ou mesmo funcionalizadas com anticorpos (DIEBOLD; CALONGE, 2010).

As nanopartículas poliméricas podem ser compatíveis com tecidos e células se preparadas a partir de materiais poliméricos que sejam biocompatíveis ou biodegradáveis (ZHANG *et al.*, 2008). Vantagens das nanocápsulas poliméricas incluem a alta eficiência de encapsulação, especialmente de fármacos hidrofóbicos devido à natureza lipofílica do núcleo, menor conteúdo de material polimérico em relação às nanoesferas e a proteção de substâncias ativas contra agentes de degradação extrínsecos, como a luz (OURIQUE *et al.*, 2008; FONTANA *et al.*, 2009). Em relação aos lipossomas, as nanopartículas poliméricas apresentam maior estabilidade *in vivo* e durante o armazenamento (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003).

Para aplicação oftálmica, as nanopartículas poliméricas podem ser administradas como colírios em função de sua baixa viscosidade e com maior intervalo, devido à permanência prolongada na porção extraocular (NAGARWAL *et al.*, 2009). Nanocápsulas de poli(ϵ -caprolactona) com núcleo oleoso composto por Mygliol[®] 840

foram obtidas pelo método de nanoprecipitação e avaliadas como potencial sistema de liberação ocular de ciclosporina A (CALVO *et al.*, 1996), um fármaco imunossupressor utilizado para aumentar a produção lacrimal em pacientes cuja produção é suprimida devido à ceratoconjuntive seca (ANVISA, 2012b). A quantidade de fármaco encontrada na córnea foi 5 vezes maior quando a ciclosporina foi nanoencapsulada, comparada à solução oleosa de igual concentração. Em outro estudo empregando nanocápsulas do mesmo polímero, também obtidas por nanoprecipitação, Marchal-Heussler e colaboradores (1993) encapsularam o fármaco antiglaucomatoso carteolol visando aumentar a sua absorção ocular. Os resultados dos testes *in vivo* em coelhos com hipertensão ocular induzida demonstraram que a redução da pressão intraocular foi muito mais pronunciada após o tratamento com o fármaco nanoencapsulado em comparação ao colírio comercial, além de proporcionar um decréscimo dos efeitos colaterais cardiovasculares, sugerindo que a absorção sistêmica foi reduzida.

Nanocápsulas de Eudragit[®] RS 100 positivamente carregadas contendo 0,1% de ibuprofeno sódico foram obtidas pelo método de quase-emulsão difusão do solvente, visando aumentar a biodisponibilidade intra-ocular do fármaco. O ibuprofeno é um anti-inflamatório não esteróide utilizado no tratamento da miose induzida por traumas cirúrgicos, como a extração de catarata. Os resultados de eficácia foram avaliados *in vivo* em coelhos Nova Zelândia com trauma ocular induzido por paracentese, bem como avaliou-se o potencial de irritação ocular através do teste de Draize. As suspensões de nanocápsulas não foram tóxicas aos tecidos oculares e, quanto à eficácia, uma diminuição da resposta miótica ao trauma cirúrgico foi observada, comparada a um colírio aquoso, mesmo quando uma concentração menor de fármaco livre foi detectada no saco conjuntival após administração do sistema nanoparticulado. Além disso, a concentração do fármaco foi maior no humor aquoso após a aplicação das nanoestruturas (PIGNATELLO *et al.*, 2002). Os autores sugerem que a liberação gradual e prolongada do fármaco a partir das nanocápsulas, associada ao maior tempo de permanência na

superfície da córnea (devido à carga positiva das nanoestruturas, na ordem de +50 mV) resultou nas maiores concentrações no humor aquoso.

As nanopartículas lipídicas foram desenvolvidas em meados de 1990 como nanocarreadores alternativos aos lipossomas, micro- e nanopartículas poliméricas. As nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) constituem a primeira geração deste tipo de partícula e caracterizam-se pelo núcleo formado por um lipídio sólido cristalino (MÜLLER; MÄDER; GOHLA, 2000; JOSHI; MÜLLER, 2009). Apresentam vantagens como proteção de substâncias lábeis da degradação química e a modulação da liberação de fármacos. Entretanto, baixa capacidade de carga e reduzida estabilidade durante o armazenamento são desvantagens destas partículas. Visando superar estas limitações, foram desenvolvidas as nanopartículas lipídicas de segunda geração ou carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN), a partir da adição de um lipídio líquido à composição das NLS.

As nanopartículas lipídicas apresentam diversos produtos comercialmente disponíveis na área dermatológica e cosmética, pois além das propriedades já citadas, são facilmente preparadas em escala industrial (homogeneização à alta pressão) (MÜLLER; MÄDER; GOHLA, 2000; JOSHI; MÜLLER, 2009). Evidenciando o interesse nos CLN para aplicação oftálmica, Wu e Xia (2010) são os autores de uma patente cuja descrição especifica o uso de CLN contendo azitromicina para uso oftálmico, constituídas de monoestearato de glicerila, óleo de rícino, óleo de oliva ou triacetato de glicerila como material lipídico. Dentre as vantagens do carreador, os inventores elencam a estabilidade, alta biocompatibilidade e fácil preparação (homogeneização à alta pressão).

As nanoemulsões são sistemas reservatórios coloidais de dois líquidos imiscíveis (usualmente água e óleo), estabilizados por um filme de compostos tensoativos, localizados na interface. As gotículas da fase dispersa, também denominada fase interna, apresentam diâmetro inferior a 1 μm (geralmente entre 100 e 300 nm) (TEDESCO; SIMIONI; PRIMO, 2007). Nanoemulsões óleo em água tem sido particularmente

investigadas como um potencial sistema para administração ocular tópica de fármacos uma vez que sua apresentação líquida de baixa viscosidade possibilitaria a administração na forma de gotas oculares. 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 (TEIXEIRA; FRONZA; CAMPOS, 2004).

Ammar e colaboradores (2009) desenvolveram nanoemulsões contendo cloridrato de dorzolamida, um fármaco atualmente utilizado no tratamento da hipertensão ocular (glaucoma). As nanoemulsões não apresentaram toxicidade *in vivo* no teste de Draize, tampouco modificações histológicas nos tecidos oculares. A avaliação da eficácia realizada em coelhos normotensos demonstrou que as nanoemulsões foram mais eficazes na diminuição da pressão intraocular, bem como tiveram início da ação mais rápida e por tempo mais prolongado em relação ao colírio comercial e a uma solução aquosa do fármaco. Estes resultados demonstram o potencial das nanoemulsões no tratamento de glaucoma, com menor número de aplicações diárias e, conseqüentemente, melhor adesão do paciente.

A aprovação pelo *Food and Drug Administration* (FDA), em 2002, do Restasis[®] (Allergan, Inc., 2012), uma nanoemulsão contendo ciclosporina A (0,05%) para terapia em pacientes com a síndrome do olho seco (ceratoconjuntivite seca) demonstra o interesse do uso deste tipo de sistema para a administração de fármacos oftálmicos. É importante ressaltar que este medicamento não pode ser utilizado durante o uso de lentes de contato, conforme advertido pelo fabricante, o que pode diminuir a adesão de usuários de lentes ao tratamento.

3.2.3. Sistemas nanoestruturados e lentes de contato

A associação de lentes de contato e nanopartículas para a liberação de fármacos oftálmicos tem sido estudada como alternativa à aplicação de colírios que, sabidamente,

são rapidamente eliminados da região pré-corneal. Como vantagem em relação às lentes medicamentosas obtidas por imersão em soluções do fármaco, as lentes de contato contendo algum tipo de nanoestrutura podem proporcionar uma liberação contínua do fármaco, em função da lenta difusão das moléculas a partir das partículas e da estrutura da lente. Sendo assim, o tempo de liberação do fármaco pode ser aumentado significativamente se este é primeiramente encapsulado em nanoestruturas, como lipossomas, nanopartículas ou microemulsões, o que também evita a interação do fármaco com a mistura de polimerização (SAHOO; DILNAWAZ; KRISHNAKUMAR, 2008)

O maior número de publicações referentes a lentes de contato e nanoestruturas trata da incorporação de estruturas coloidais contendo o fármaco na mistura pré-polimerização (GULSEN; CHAUHAN, 2005; KAPOOR; CHAUHAN, 2008; XU; LI; SUN, 2010a). Microemulsões óleo em água (GULSEN; CHAUHAN, 2005) ou lipossomas (GULSEN; LI; CHAUHAN, 2005) contendo o fármaco modelo hidrofóbico lidocaína foram dispersos na mistura de monômeros (HEMA) antes da polimerização. Os hidrogéis obtidos apresentaram-se transparentes e liberaram o fármaco em duas escalas de tempo: uma liberação inicial rápida, correspondente à cerca de 50% do total (fármaco adsorvido na superfície das nanopartículas e do hidrogel) e em seguida, uma liberação mais lenta por 8 dias (fármaco presente no interior das gotículas de óleo ou vesículas). Essa abordagem permitiu a incorporação de maiores concentrações do fármaco e uma liberação mais prolongada quando comparada aos resultados da lente que foi imersa apenas em solução do fármaco. Nesta estratégia, alguns aspectos são importantes para manter a transparência do hidrogel obtido, como: reduzido diâmetro das partículas/gotículas, ausência de agregação e estabilidade das estruturas na mistura pré-polimerização. Gulsen, Li e Chauhan (2005) relataram ainda que a lente obtida a partir do hidrogel contendo os lipossomas dispersos deve ser armazenada em solução tampão saturada com o fármaco para evitar a liberação deste.

Embora a incorporação de estruturas coloidais na mistura pré-polimerização seja a estratégia mais descrita, há relatos na literatura de outras estratégias, como a modificação da superfície de lentes de contato disponíveis comercialmente. Exemplo deste tipo de estudo foi publicado por Santos e colaboradores (2009), onde os autores desenvolveram hidrogéis de HEMA contendo β -ciclodextrinas pendentas em sua estrutura. Para tanto, numerosas etapas são necessárias para a preparação e obtenção deste material. Estes hidrogéis mantiveram sua transparência, grau de inchamento, viscoelasticidade, permeabilidade ao oxigênio e ângulo de contato de superfície. Além disso, aumentaram em 1300% a capacidade de carga do fármaco modelo diclofenaco, que foi liberado de maneira sustentada durante duas semanas, em fluido lacrimal simulado, em experimento *in vitro*.

Danion e colaboradores (2007a) desenvolveram uma plataforma para liberação de fármacos baseada na imobilização de lipossomas na superfície de lentes de contato gelatinosas. A imobilização foi realizada através de sucessivas modificações químicas na superfície da lente de contato, iniciando pela ativação dos grupamentos hidroxil de um dos polímeros formador da lente (HEMA). Lentes recobertas com 5 e 10 camadas de lipossomas apresentaram-se tão transparentes quanto às lentes de contato originais, quando avaliada a transmissão da luz na faixa de 200-800 nm. Além disso, em experimento de citotoxicidade, estas lentes não induziram mudanças significativas na viabilidade e crescimento celular, indicando a sua biocompatibilidade (DANION *et al.*, 2007b).

Outro estudo do mesmo grupo (DANION; ARSENAULT; VERMETTE, 2007) apresenta os resultados de liberação e atividade antibacteriana de lentes recobertas com 2, 5 ou 10 camadas de lipossomas contendo o fármaco levofloxacino, a partir das quais a liberação do fármaco sustentou-se por 6 dias, enquanto o controle (lente de contato imersa em solução do fármaco a 5 mg/mL, *overnight*) apresentou 100 % do fármaco no meio de liberação em 3 h. A atividade antibacteriana das lentes de contato foi demonstrada frente

a inóculo igual ou menor do que 10^6 UFC/mL, com total inibição do crescimento bacteriano em 2 h. Quando um inóculo de 10^8 UFC/mL foi utilizado foi necessária uma dose inicial maior (*burst release*), obtida por meio da imersão *overnight* da lente de contato recoberta com 10 camadas de lipossomas em uma solução do fármaco, seguida da liberação sustentada.

Cabe ressaltar que embora estas estratégias sejam promissoras na área de liberação de fármacos oftálmicos, a dependência de um processo em nível tecnológico-industrial para o desenvolvimento de um novo hidrogel com características adequadas é um obstáculo ao prosseguindo da iniciativa. Além disso, seria necessário desenvolver um novo tipo de lente para cada fármaco que se desejasse associar.

5. DISCUSSÃO GERAL

A proposta do presente trabalho foi desenvolver uma plataforma para liberação de fármacos ou outros componentes de interesse ocular, baseado na associação de lentes de contato com nanoestruturas. A primeira etapa (Artigo em redação 1) visou desenvolver e caracterizar nanoemulsões contendo óleos lubrificantes (óleo de rícino e óleo mineral), bem como, avaliar a sua interação com lentes de contato hidrofílicas (Soflens 66[®], Bausch & Lomb, Porto Alegre, Brasil). De maneira geral, a escolha dos constituintes dessa e das demais formulações estudadas nos capítulos subsequentes foi realizada com base em materiais que já tem seu uso aprovado para a via ocular ou que apresentam diversos estudos na literatura sugerindo a sua adequabilidade. Os óleos foram escolhidos por suas propriedades lubrificantes, sendo que o ácido ricinoléico, constituinte majoritário do óleo de rícino, apresenta também propriedades anti-inflamatórias.

As formulações preparadas pelo método de emulsificação espontânea (BOUCHEMAL *et al.*, 2004) apresentaram aspecto leitoso homogêneo, efeito *Tyndall* (característico do movimento browniano das partículas em suspensão) e baixa viscosidade (~ 1,2 mPas/s), com perfil Newtoniano. A distribuição de partículas foi unimodal, nanométrica, sendo que as partículas apresentaram-se esféricas com diâmetro médio de ~ 240 nm e baixa polidispersão. Os valores de potencial zeta foram negativos (~ -10 mV) e os valores de pH levemente ácidos. A análise de espalhamento múltiplo de luz (retroespalhamento) demonstrou que há uma baixa tendência ao surgimento de fenômenos de instabilidade física, como floculação ou cremagem. Além disso, o potencial de toxicidade ocular das formulações foi avaliado *in vitro* pelo teste em membrana corioalantóide de ovos de galinha embrionados (HET-CAM) e frente a uma linhagem celular representativa do epitélio corneal de coelhos (SIRC). Nas condições experimentais empregadas, as nanoemulsões estudadas não demonstraram potencial irritante ou citotoxicidade.

Uma vez caracterizada, a associação da formulação com a lente de contato deu-se através da instilação de duas gotas da nanoemulsão (40 µL) sobre a superfície da lente.

Antes e após a instilação, a transparência e a morfologia da lente de contato foram avaliadas, assim como a sua permeabilidade a íons. Estes resultados foram comparados àqueles de uma lente sem tratamento prévio. As imagens de microscopia eletrônica de varredura, tanto da superfície como do corte transversal da lente de contato, demonstram a presença de partículas com diâmetro desde poucos nanômetros até alguns micrômetros (possivelmente coalescência das nanogotículas), diferenciando-a das imagens da lente de contato original, caracterizada por apresentar superfície lisa, porosa, sem a presença de partículas. Uma vez verificada a presença destas partículas na lente de contato, avaliou-se a sua transparência e permeabilidade iônica, características essenciais para a adequabilidade da lente. Pode-se observar a manutenção da transmitância da luz (96,91%, $\lambda = 600$ nm) através da lente após a instilação, muito semelhante à da lente original (98,12%). Da mesma forma, não houve diferença estatística entre os coeficientes de difusão iônica da lente original e da lente associada à nanoemulsão. Esses resultados demonstram que a associação entre a lente de contato e a nanoemulsão não altera estes parâmetros. Sendo assim, esta estratégia é promissora para o desenvolvimento de sistemas de lubrificação oftálmica para usuários de lente de contato.

Uma vez que a associação de nanogotículas com a lente de contato demonstrou-se uma alternativa viável e não causou prejuízos às propriedades da lente, a próxima hipótese (Artigo em redação 2) estudada foi: seria possível associar lentes de contato com outro tipo de nanoestrutura (nanocápsulas poliméricas) contendo um fármaco modelo? Esta associação possibilitaria a proposição de uma nova plataforma para liberação de fármacos e uma estratégia para aumentar o tempo de residência dos fármacos na área pré-corneal.

Para avaliarmos esta hipótese, primeiramente focamos no desenvolvimento das formulações. Um estudo de pré-formulação, com base no experimento de inchamento do polímero, foi conduzido a fim de avaliar se os óleos de rícino e mineral seriam matérias-primas adequadas para a preparação das nanocápsulas. Sabe-se que o polímero formador

da parede das nanocápsulas não pode ser solúvel em água, tampouco nos componentes oleosos empregados (GUTERRES *et al.*, 2000). Filmes poliméricos de Eudragit[®] RS100 ou poli(ϵ -caprolactona) foram obtidos e mantidos em contato com os óleos por um período de sessenta dias consecutivos. Os filmes de poli(ϵ -caprolactona) mantiveram o peso durante este período, enquanto os filmes de Eudragit[®] RS100 apresentaram decréscimo menor que 10% em relação ao tempo inicial. Sendo assim, consideramos que tais óleos poderiam ser utilizados no desenvolvimento desses nanocarreadores sem comprometer a integridade da parede polimérica.

As nanocápsulas obtidas pelo método de deposição interfacial de polímero pré-formado (FESSI; PUISIEUX; DEVISSAGUET, 1988) apresentaram distribuição de tamanho de partícula unimodal na escala nanométrica, independentemente do tipo de polímero e do método de análise (espalhamento de luz dinâmico, espectroscopia de correlação de fótons e *nanoparticle tracking analysis*). A análise das imagens de microscopia eletrônica de transmissão evidenciou a morfologia esférica das partículas. As formulações apresentaram pH levemente ácido, potencial zeta positivo para as nanocápsulas de Eudragit[®] RS100 e negativo para as nanocápsulas de poli(ϵ -caprolactona). Esses resultados estão de acordo com outros relatos da literatura, sendo que o potencial zeta positivo das nanocápsulas de Eudragit[®] RS100 é consequência do caráter catiônico deste polímero, que contém um percentual de grupamentos amino quaternários (EVONIK Industries AG, 2011). Para as nanocápsulas de poli(ϵ -caprolactona), o valor de potencial zeta levemente negativo pode ser devido ao recobrimento das partículas com o tensoativo polissorbato 80, que apresenta carga superficial negativa em função da presença de átomos de oxigênio na sua molécula (FONTANA *et al.*, 2009) ou ainda devido à presença de grupos éster na estrutura do polímero (MÜLLER *et al.*, 2001). Com relação ao perfil reológico, todas as formulações apresentaram baixa viscosidade e um comportamento Newtoniano, característico desse tipo de sistema (SHAKEEL; RAMADAN; AHMED, 2009). Pode-se observar que a presença do fármaco modelo (prednisolona) não influenciou nas características físico-químicas das formulações

(diâmetro médio de partícula e distribuição granulométrica, potencial zeta, pH, viscosidade e morfologia), sendo os resultados semelhantes para partículas contendo ou não o fármaco.

O conteúdo e a taxa de associação da prednisolona foram avaliados. O teor de todas as formulações foi próximo do teórico (0,5 mg/mL), sendo que a taxa de encapsulação foi de ~ 50%, sem diferença em relação ao polímero utilizado. Para confirmar se a taxa de associação estaria sendo influenciada pela presença de nanocristais (os quais ficariam retidos no filtro, sendo considerados como parcela de fármaco associada) um estudo foi conduzido por 15 dias. Pode-se verificar que, ao longo do tempo, não houve decréscimo no teor das formulações mantidas em repouso em relação àquelas agitadas antes da coleta de alíquota para a análise, indicando que não há nanocristais nestas formulações.

Um estudo preliminar de estabilidade física foi realizado com base em análises de espalhamento múltiplo de luz. Os resultados demonstraram que a variação na luz retroespalhada no topo da cubeta, em relação à leitura inicial (linha de base), foi menor que 5%, indicando baixa tendência à cremagem. A variação menor do que 1% observada ao longo da cubeta indica que as formulações apresentam baixa tendência à agregação, floculação ou coalescência.

Quando avaliadas quanto ao potencial de irritação ocular pela técnica HET-CAM, assim como o de citotoxicidade (MTT e *trypan blue*) frente à linhagem representativa do epitélio corneal de coelhos (SIRC), os resultados demonstraram que as formulações não são irritantes ou citotóxicas, dadas as condições experimentais empregadas.

Uma vez caracterizadas, procedeu-se à associação das nanocápsulas com as lentes de contato através de imersão da lente em 2 mL da formulação, por 8 horas. Para se avaliar a interação das nanocápsulas com as lentes, realizou-se um estudo morfológico através de microscopia eletrônica de varredura. A lente de contato original apresentou

superfície e corte transversal porosos, sem partículas com limites definidos. Por outro lado, após a associação com a formulação, nanopartículas com diâmetro variando de poucos nanômetros até alguns micrômetros foram visualizadas na superfície e corte transversal da lente. Nas circunstâncias atuais, uma lente de contato capaz de liberar um fármaco ou outra substância de interesse na cavidade ocular poderia melhorar o tratamento de distúrbios oculares pela praticidade de administração, manutenção da concentração e melhora da adesão do paciente ao tratamento. Sendo assim, esta estratégia pode ser sugerida para o desenvolvimento de uma plataforma inovadora na liberação ocular de fármacos.

Tendo visto que as nanocápsulas interagem com a lente de contato, de maneira a associarem-se com a superfície desta e serem internalizadas, o terceiro artigo foi dedicado a uma caracterização mais profunda deste sistema, visando avaliar se esta associação por imersão geraria distúrbios nas propriedades da lente (transparência e permeabilidade iônica). Além disso, o teor de fármaco associado, a sua liberação a partir da lente e das formulações e a influência do tempo de imersão foram estudadas. Um experimento de lavabilidade foi realizado para avaliar a resistência do fármaco (encapsulado ou não) à lavagem. As suspensões de nanocápsulas foram previamente caracterizadas (artigo 2). As nanoemulsões correspondentes foram preparadas (emulsificação espontânea) e caracterizadas (BOUCHEMAL *et al.*, 2004) para fins comparativos. Após o preparo, as nanoemulsões apresentaram teor de prednisolona próximo ao teórico (0,5 mg/mL), eficiência de encapsulação de ~ 70% e pH levemente ácido (6,08 - 6,51). O diâmetro médio das gotículas, que apresentaram morfologia esférica regular, ficou entre 237 e 281 nm, com baixo índice de polidispersão ($< 0,2$) e potencial zeta levemente negativo (~ -10 mV); sendo estes valores compatíveis com a técnica de emulsificação espontânea e normalmente encontrados para este tipo de nanoestrutura (ALMEIDA *et al.*, 2010; FONTANA *et al.*, 2009).

O estudo da liberação *in vitro* do fármaco modelo a partir das nanoestruturas (nanocápsulas e nanoemulsões) foi realizado através do método dos sacos de diálise, onde se avaliou a influência da nanoestruturação e da parede polimérica. Uma solução hidroalcoólica foi utilizada como controle do fármaco livre. Cem por cento do fármaco foi liberado das nanoemulsões e nanocápsulas em 4 h e 5 h, respectivamente. Tanto as nanoemulsões quanto as nanocápsulas foram capazes de retardar a liberação quando comparadas com a solução controle que apresentou difusão total do fármaco em 2 h. De acordo com a modelagem matemática, para as suspensões de nanocápsulas, independente do polímero [Eudragit[®] RS 100 ou poli(ϵ -caprolactona)], foi observada uma rápida liberação inicial (correspondente à cerca de 40%) seguida de uma liberação mais lenta do fármaco (correspondente à cerca de 60%), conforme o modelo biexponencial. Não houve diferença entre as constantes de velocidade da fase lenta em função do tipo de polímero utilizado, no entanto na fase sustentada a velocidade de liberação da prednisolona a partir das nanocápsulas de Eudragit[®] RS100 foi mais lenta do que a partir das nanocápsulas de poli(ϵ -caprolactona). Por sua vez, as nanoemulsões e a solução controle obedeceram à equação monoexponencial, apresentando apenas uma velocidade de liberação. Quanto à influência da parede polimérica, apenas a suspensão de nanocápsulas preparada com Eudragit[®] RS100 foi capaz de controlar a liberação em relação à nanoemulsão correspondente, quando comparados os percentuais de liberação ponto a ponto. Quanto às nanocápsulas de poli(ϵ -caprolactona), este comportamento pode ser explicado devido à permeabilidade deste polímero a alguns fármacos lipofílicos, como os esteróides, por exemplo (PITT, 1990, citado em LAO; VENKATRAMAN; PEPPAS, 2008).

Procedeu-se então à associação das nanoestruturas com as lentes de através da imersão destas em 2 mL de formulação por 8 h. Verificou-se que cerca de 60-70 μg de prednisolona são carregados por cm^2 de lente, representando cerca de 100 μg por lente. Não houve diferença estatística no teor de fármaco associado à lente em função das diferentes formulações (nanocápsulas, nanoemulsões e solução hidroalcoólica). Levando em consideração que a posologia inicial de um colírio contendo acetato de prednisolona é

de 1-2 gotas no saco conjuntival do olho afetado 2-4 vezes ao dia e assumindo um volume de 40 μL por gota, a quantidade de fármaco base em uma administração de 2 gotas seria 0,72 mg. No entanto, sabe-se que a capacidade de retenção na superfície corneal é de aproximadamente 10 μL , sendo que volume excedente será drenado ou expulso da área pré-corneal em menos de 2 minutos. Sendo assim, apenas 12,5% do volume administrado, correspondente à 90 μg de fármaco, estará disponível para ação na superfície ocular. Portanto, o teor de 100 μg por lente pode ser considerado uma quantidade compatível com a posologia atualmente empregada.

Com base nos resultados obtidos nesta etapa do trabalho, a próxima hipótese foi: a associação destas nanoestruturas com as lentes de contato seria capaz de retardar ainda mais a liberação do fármaco? Os resultados da liberação *in vitro* em célula de Franz mostram que a liberação do fármaco obedece à equação biexponencial, sendo dividida em duas fases, uma liberação mais rápida (*burst release*), seguida de uma liberação mais lenta até 6-8 h. A rápida liberação inicial pode ser compreendida frente à taxa de encapsulação do fármaco nas nanoestruturas, cerca 50 à 70%, o que significa que 30 à 50% do fármaco está disponível na forma não encapsulada. Esta parcela do fármaco, assim como as partículas que estiverem na superfície da lente, difundirão mais facilmente. O tempo de liberação do fármaco passou de 4-5 h, a partir das formulações, para 6-8 h a partir da lente de contato associada às nanoestruturas, o que pode ser consequência do efeito barreira que a lente exerce. Além disso, há uma diferença na velocidade de liberação a partir da lente, dependente do tipo de nanoestrutura associada, sendo que ambas nanocápsulas apresentam velocidade de liberação na fase controlada menor do que as nanoemulsões correspondentes. Este resultado sugere que, assim como na liberação utilizando a técnica dos sacos de diálise, a parede polimérica exerce influência sobre a liberação do fármaco.

Os resultados dos estudos de transmitância e permeabilidade iônica mostram que a lente permaneceu com adequada transparência (> 90% de transmitância da luz em $\lambda = 600$

nm) e permeável a íons tal qual a lente de contato original, demonstrando que a associação com as nanoestruturas não afeta estas características.

Buscando avaliar a influência da encapsulação da prednisolona na resistência à eliminação da lente, realizou-se um estudo de lavabilidade. As suspensões de nanocápsulas de Eudragit[®] RS100 e poli(ϵ -caprolactona) foram utilizadas para realizar este experimento devido às menores velocidades de liberação obtidas nos estudos de liberação *in vitro*. Uma solução hidroalcoólica contendo a mesma quantidade de prednisolona (0,5 mg/mL) foi utilizada como controle do fármaco não-encapsulado. Os resultados demonstraram que o teor de prednisolona que permanece na lente previamente associada às nanocápsulas, independente do polímero, é estatisticamente maior em relação aos resultados obtidos com a solução do fármaco. Esta diferença pode ser interpretada como uma resistência da prednisolona nanoencapsulada à lavagem, podendo refletir também em uma resistência à drenagem nasolacrimal, consequentemente, aumentando o tempo de permanência na superfície ocular.

Para avaliar a influência do tempo de imersão, realizou-se um estudo de microscopia eletrônica de varredura após 2, 8 ou 24 h de imersão das lentes nas formulações nanoestruturadas. Em todos os tempos de imersão foi possível visualizar partículas tanto na superfície quanto no corte transversal da lente de contato, similares às imagens obtidas no artigo 2, após 8 h de imersão. O diâmetro das partículas foi variável, sendo que as partículas maiores podem ser aglomerados formados durante a preparação da amostra. No entanto, não foi possível estabelecer uma relação assertiva entre o tempo de imersão e a quantidade de partículas visualizadas. Desta forma, o teor de fármaco na lente foi utilizado como parâmetro para avaliar a influência do tempo de imersão. Os resultados foram similares após 2, 8 e 24 h de imersão, mantendo-se em $\sim 70 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, demonstrando que os tempos de imersão avaliados não provocam mudanças no teor de fármaco associado. Com base no exposto, é plausível sugerir que a saturação da lente ocorra em até 2 h.

É provável que liberação a partir da lente de contato posicionada no olho seja diferente daquela obtida no experimento *in vitro* realizado, pois embora a maior parte do fármaco seja liberada no filme lacrimal pós-lente (entre a lente e a córnea), outra parcela será liberada no filme pré-lente e, assim, mais facilmente eliminada pelo ducto nasolacrimal (GULSEN; CHAUHAN, 2005). No entanto, os resultados obtidos neste trabalho são interessantes e o conceito de uma nova plataforma para liberação ocular de fármacos utilizando lentes de contato comercialmente disponíveis associadas a nanoestruturas por simples imersão ou instilação demonstrou-se uma alternativa viável e promissora à terapia tópica ocular.

6. CONCLUSÕES

✓ As formulações desenvolvidas (nanocápsulas poliméricas e nanoemulsões) apresentaram distribuição de partícula nanométrica e características físico-químicas adequadas para aplicação oftálmica.

✓ As nanoestruturas não demonstraram potencial de irritação ocular (teste HET-CAM) ou citotoxicidade (linhagem celular SIRC – teste MTT e azul de tripano).

✓ A nanoestruturação retardou a liberação do fármaco comparado com uma solução controle. A liberação *in vitro* de prednisolona a partir da lente de contato ocorreu em 6-8 h, tempo maior do que a partir as formulações *per se*. Ambas nanocápsulas apresentam velocidade de liberação na fase controlada menor do que as nanoemulsões correspondentes.

✓ Imagens de microscopia eletrônica de varredura demonstram que há interação entre as nanoestruturas e as lentes de contato após associação por imersão ou instilação. No entanto, não foi possível estabelecer uma relação entre o tempo de imersão (2, 8 ou 24 h) e a quantidade de partículas associadas.

✓ O teor de prednisolona associada à lente é de 60-70 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, independente da formulação (nanocápsulas, nanoemulsões e solução hidroalcoólica) e do tempo de imersão (2, 8 ou 24 h). Pode-se observar a manutenção da transparência (> 90%) e da permeabilidade iônica da lente após a associação com as formulações.

✓ A prednisolona nanoencapsulada apresenta resistência à eliminação da lente de contato em relação à prednisolona em solução.

✓ A associação de nanocápsulas ou nanoemulsões com lentes de contato representa uma estratégia promissora no desenvolvimento de sistemas de liberação oftálmica de fármacos ou outros compostos de interesse na cavidade ocular. A estratégia desenvolvida neste trabalho apresentou-se como uma nova aplicação dos sistemas coloidais no âmbito da oftalmologia.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, J. S. *et al.* Nanosctructured systems containing rutin: in vitro antioxidant activity and photostability studies. **Nanoscale Research Letters**, v. 5, p. 1603-10. 2010.

ALONSO, M. J. Nanomedicines for overcoming biological barriers. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 58, p. 168-172. 2004.

ALTEN, F.; MEYER, C. H. Sudden unilateral loss of vision under high-dosage corticosteroid therapy for pansinusitis. **HNO**, v. 59, n. 5, p. 511-513. 2011.

ALVAREZ-LORENZO, C.; HIRATANI, H.; CONCHEIRO, A. Contact lenses for drug delivery: Achieving Sustained Release with Novel Systems. **American Journal of Drug Delivery**, v. 4, n. 3, p. 131-151. 2006.

AMMAR, H. O. *et al.* Nanoemulsions as potential ophthalmic delivery system for dorzolamide hydrochloride. **AAPS PharmSciTech**, v. 10, n. 3, p. 808-819. 2009.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em:
<<http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/BM/BM%5B26181-1-0%5D.PDF>>. Acesso em 18.01.2012a.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em:
<<http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/BM/BM%5B25523-1-0%5D.PDF>>. Acesso em 18.01.2012b.

ALLERGAN, Inc. Disponível em:
<http://www.allergan.com/assets/pdf/restasis_pi.pdf>. Acesso em 19.01.2012.

BARNES, P. J. Anti-inflammatory actions of steroids: molecular mechanisms. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 14, n. 12, p. 436-441. 1993.

BARR, J. **2004 Annual Report**. Estados Unidos da América, 2005. Disponível em: <<http://www.clspectrum.com/article.aspx?article=12733>>. Acesso em: 30 nov. 2011.

BAUSCH & LOMB INC. VITRASERT[®] prescribing information 130128, Rev. E. Disponível em: <http://www.bauschvrx.com/vitrasert_prescribing_information.pdf>. Acesso em: 09 fev. 2012a.

BAUSCH & LOMB INC. RETISERT[®] prescribing information. Disponível em: <http://www.bauschvrx.com/vitrasert_prescribing_information.pdf>. Acesso em: 09 fev. 2012b.

BOONE, A.; HUI, A.; LYNDON, J. Uptake and Release of Dexamethasone Phosphate From Silicone Hydrogel and Group I, II, and IV Hydrogel Contact Lenses. **Eye & Contact Lens: Science & Clinical Practice**, v. 35, n. 5, p. 260-267. 2009.

BOUCHEMAL, K. *et al.* Nanoemulsion formation using spontaneous emulsification: solvent, oil and surfactant optimization. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 280, p. 241-251. 2004.

CALVO, P. *et al.* Polyester nanocapsules as new topical ocular delivery systems for cyclosporine A. **Pharmaceutical Research**, v. 13, n. 2, p. 311-315. 1996.

CALVO, P.; VILA-JATO, J. L.; ALONSO, M. J. Evaluation of cationic polymer-coated nanocapsules as ocular drug carriers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 53, n. 1, p. 41-50. 1997.

CIOLINO, J. B. *et al.* A prototype antifungal contact lens. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 52, n. 9, p. 6286-6291. 2011.

CONTRI, R. V. *et al.* Chitosan hydrogel containing capsaicinoids-loaded nanocapsules: an innovative formulation for topical delivery. **Soft Materials**, v.8, n. 4, p. 370-385. 2010.

COSTA, V. *et al.* Development of therapeutic contact lenses using a supercritical solvent impregnation method. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 52, n. 3, p. 306-316. 2010.

CREECH, J. L.; CHAUHAN, A.; RADKE, C.J. Dispersive mixing in the posterior tear film under a soft contact lens. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 40, p. 15-26. 2001.

CUNHA JÚNIOR, A. S. *et al.* Microemulsões como veículo de drogas para administração ocular tópica. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 66, n. 3, p. 385-391. 2003.

DA SILVA, G. R. *et al.* Biodegradable polyurethane nanocomposites containing dexamethasone for ocular route. **Material Science & Engineering C- Materials for Biological Applications**, v. 31, n. 2, p. 414-422. 2011.

DANION, A. *et al.* Fabrication and characterization of contact lenses bearing surface-immobilized layer of intact liposomes. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 82A, n. 1, p. 41-51. 2007a.

DANION, A. *et al.* Biocompatibility and light transmission of liposomal lenses. **Optometry and Vision Science**, v. 84, n. 10, p. 954-961. 2007b.

DANION, N.; ARSENAULT, I.; VERMETTE, P. Antibacterial Activity of Contact Lenses Bearing Surface-Immobilized Layers of Intact Liposomes Loaded with Levofloxacin. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, n. 9, p. 2350-2363. 2007.

DAS, S.; SURESH, P. K.; DESMUKH, R. Design of Eudragit RL 100 nanoparticles by nanoprecipitation method for ocular drug delivery. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 6, n. 2, p. 318-323. 2010.

DE LA FUENTE, M. *et al.* Chitosan-based nanostructures: A delivery platform for ocular therapeutics. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, n. 1, p. 100-117. 2010.

DIEBOLD, Y.; CALONGE, M. Applications of nanoparticles in ophthalmology. **Progress in Retinal and Eye Research**, v. 29, p. 596-609. 2010.

EBRAHIM, S.; PEYMAN, G. A.; LEE, P. J. Applications of liposomes in ophthalmology. **Survey of Ophthalmology**, v. 50, n. 2, p. 167-182. 2005.

EVONIK Industries AG. INFO 7.7/E: Specification and test methods for EUDRAGIT[®] RL 100 and EUDRAGIT[®] RL PO, EUDRAGIT[®] RS 100 and EUDRAGIT[®] RS PO. Available at: <http://eudragit.evonik.com/product/eudragit/en/products-services/eudragit-products/sustained-release-formulations/rs-100/pages/default.aspx>. Access: 10 October 2011.

FESSI, H.; PUISIEUX, F.; DEVISSAGUET, J. P. Procédé de préparation des systèmes colloïdaux d'une substance sous forme de nanocapsules. **European Patent** 0274961 A1. 1988.

FIALHO, S. L. *et al.* Implantes biodegradáveis destinados à administração intra-ocular. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 66, n. 6, p. 891-896. 2003.

FIALHO, S. L. *et al.* Biodegradable implants for ocular delivery of anti-inflammatory drug. **Journal of Drug Delivery Science & Technology**, v. 17, n. 1, p. 93-97. 2007.

FONTANA, M.C. *et al.* Nanoencapsulation as a way to control the release and to increase the photostability of clobetasol propionate: influence of the nanostructured system. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 5, p. 1-10. 2009.

FRONZA, T.; CAMPOS, A.; TEIXEIRA, H. Nanoemulsões como Sistemas de Liberação para Fármacos Oftálmicos. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 23, n. 4, p. 558-566. 2004.

GABRIELLE-MALDEMONT, C.; LESIEUR, S.; OLLIVON, M. Characterization of loaded liposomes by size exclusion chromatography. **Journal of Biomedical and Biophysics methods**, v. 56, p.189-217. 2004.

GAUDANA, R. *et al.* Recent perspectives in ocular drug delivery. **Pharmaceutical Research**, v. 26, n. 5, p. 1197-1216. 2009.

GULSEN, D.; CHAUHAN, A. Dispersion of microemulsion drops in HEMA hydrogel: a potencial ophthalmic drug delivery vehicle. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 292, n. 1-2, p. 95-117. 2005.

GULSEN, D.; LI, C-C.; CHAUHAN, A. Dispersion of DMPC Liposomes in Contact Lenses for Ophthalmic Drug Delivery. **Current Eye Research**, v. 30, n. 12, p. 1071-1080. 2005.

GUPTA, H. *et al.* Sparfloxacin-loaded PLGA nanoparticles for sustained ocular drug delivery. **Nanomedicine**, v. 6, p. 324-333. 2010.

GUTERRES, S.S. *et al.* Influence of benzyl benzoate as oil core on the physicochemical properties of spray-dried powders from polymeric nanocapsules containing indomethacin. **Drug Delivery**, v. 7, p.195-199. 2000.

GRATIERI, T. *et al.* Enhancing and sustaining the topical ocular delivery of fluconazole using chitosan solution and poloxamer /chitosan *in situ* forming gel. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 79, n. 2, p. 320-327. 2011.

HEHL, E. M. *et al.* Improved penetration of aminoglycosides and fluoroquinolones into the aqueous humour of patients by means of Acuvue contact lenses. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 55, n. 4, p. 317-323. 1999.

HENDERER, J. D.; RAPUANO, C. J. Overview of ocular anatomy, physiology and biochemistry. In: _____. **Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics**. Edição de L. Brunton et al. New York: McGraw-Hill, 2006, p. 1095-1114.

HILLMAN, J. S. Management of acute glaucoma with Pilocarpine-soaked hydrophilic lens. **British Journal of Ophthalmology**, v. 58, n. 7, p. 674-679. 1974.

IBRAHIM, H. K.; EL-LEITHY, I. S.; MAKKY, A. A. Mucoadhesive Nanoparticles as Carrier Systems for Prolonged Ocular Delivery of Gatifloxa.cin/Prednisolone Bitherapy. **Molecular Pharmaceutics**, v. 7, n. 2, p. 576-585. 2010.

JAIN, M. R. Drug delivery through soft contact lenses. **British Journal of Ophthalmology**, v. 72, n. 2, p. 150-154. 1988.

JAIN, M. R.; BATRA, V. Steroid penetration in human aqueous with 'Sauflon 70' lenses. **Indian Journal of Ophthalmology**, v. 27, n. 2, p. 26-31. 1979.

JÄGER, C.G. *et al.* Sustained release from lipid-core nanocapsules by varying the core viscosity and the particle surface area. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 5, p. 130-140. 2009.

JÄRVINEN, K.; JÄRVINEN, T.; URTTI, A. Ocular absorption following topical delivery. **Advanced drug delivery reviews**, v. 16, n. 1, p. 3-19. 1995.

JOSHI, M.; MÜLLER, R. Lipid nanoparticles for parenteral delivery of actives. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 71, p. 161-172. 2009.

KAPOOR, Y. *et al.* Surfactant-laden soft contact lenses for extended delivery of ophthalmic drugs. **Biomaterials**, v. 30, n. 5, p. 867-878. 2009.

KAPOOR, Y.; CHAUHAN, A. Ophthalmic delivery of Cyclosporine A from Brij-97 microemulsion and surfactant-laden p-HEMA hydrogels. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 361, p. 222-229. 2008.

KAUR, I. P. *et al.* Vesicular systems in ocular drug delivery: an overview. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 269, p. 1-14. 2004.

KAUR, I. P.; KANWAR, M. Ocular preparations: the formulation approach. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 28, p. 473-493. 2002.

KAUR, I. P.; SMITHA, R. Penetration enhancers and ocular bioadhesives: two new avenues for ophthalmic drug delivery. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 28, n. 444, p. 353-369. 2002.

KHANGTRAGOOL, A. *et al.* Chitosan as an ocular drug delivery of vancomycin. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 122, n. 5, p. 3160-3167. 2011.

KIM, S. W.; BAE, Y. H.; OKANO, T. Hydrogels: swelling, drug loading and release. **Pharmaceutical Research**, v. 9, n. 3, p. 283-290. 1992.

KIM, J.; CONWAY, A.; CHAUHAN, A. Extended delivery of ophthalmic drugs by silicone hydrogel contact lenses. **Biomaterials**, v. 29, n. 14, p. 2259-2269. 2008.

KIM, J.; CHAUHAN, A. Dexamethasone transport and ocular delivery from poly(hydroxyethyl methacrylate) gels. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 353, n. 1-2, p. 205-222. 2008.

KUMARI, A.; YADAV, S. K.; YADAV, S. C. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, V. 75, p. 1-18. 2010.

LANG, J. C. Ocular drug delivery: conventional ocular formulations. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 16, n. 1, p. 39-43. 1995.

LANGER, K.; ZIMMER, A.; KREUTER, J. Acrylic nanoparticles for ocular drug delivery. **STP Pharma Sciences**, v.7, n. 6, p. 445-451. 1997.

LAO, L.L.; VENKATRAMAN, S.S.; PEPPAS, N.A. Modeling of drug release from biodegradable polymer blends. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v. 70, p. 796-803. 2008.

LE BOURLAIS, C. *et al.* Ophthalmic drug delivery systems – recent advances. **Progress in Retinal and Eye Research**, v. 17, n. 1, p. 33-58. 1998.

LEE, T. W-Y.; ROBINSON, J. R. Ocular Penetration Enhancers. In: _____. **Ophthalmic Drug Delivery Systems**. Edição de A. K. MITRA. New York: Headquarters, 2003. p. 281-308.

LI, C.C.; CHAUHAN, A. Modeling ophthalmic drug delivery by soaked contact lenses. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 45, p. 18-34. 2006.

LI, N. *et al.* Low molecular weight chitosan-coated liposomes for ocular drug delivery: *In vitro* and *in vivo* studies. **Drug delivery**, v. 19, n. 1, p. 28-35. 2012.

LUDWIG, A. The use of mucoadhesive polymers in ocular drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, p. 1595-1639. 2005.

MACHA, S; MITRA, A. K.; HUGHES, P. M. Overview of ocular drug delivery. In: _____. **Ophthalmic Drug Delivery Systems**. Edição de A. K. Mitra. New York : Headquarters, 2003. p. 1-12.

MARCHAL-HEUSSLER, L. *et al.* Poly(ϵ -caprolactone) nanocapsules in carteolol ophthalmic delivery. **Pharmaceutical Research**, v. 10, n. 3, p. 386-390. 1993.

MIYAZAKI, K.; ISLAM, N. Nanotechnology systems of innovation—An analysis of industry and academia research activities. **Techinovation**, v. 27, p. 661-675. 2007.

MÜLLER, C.R. *et al.* Spray-dried diclofenac poly(ϵ -caprolactone) nanocapsules and nanospheres: preparation and physicochemical characterization. **Pharmazie**, v. 56, p. 864-867. 2001.

MÜLLER, R. H.; MÄDER, K.; GOHLA, S. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery – a review of the state of the art. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, p. 161-177. 2000.

MORA-HUERTAS, C. E.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 385, p. 113-142. 2010.

NAGARWAL, R. C. *et al.* Polymeric nanoparticulate system: A potential approach for ocular drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 136, n. 1, p. 2-13. 2009.

OCuSOFT, Inc. Tears Again advanced liposome spray. Disponível em: <<http://www.tearsagainpray.com/spray.html>>. Acesso em 15.02.2012.

OURIQUE, A. *et al.* Tretinoin-loaded nanocapsules: Preparation, physicochemical characterization, and photostability study. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 352, p. 1-4. 2008.

PIGNATELLO, R. *et al.* Eudragit RS100 nanosuspensions for the ophthalmic controlled delivery of ibuprofen. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 16, n. 1-2, p. 53-61. 2002.

PIGNATELLO, R. *et al.* Preparation and Characterization of Eudragit Retard Nanosuspensions for the Ocular Delivery of Cloricromene. **American Association of Pharmaceutical Scientists PharmSciTech**, v. 7, n. 1, p. E1-E7. 2006.

PITT C.G. Poly- ϵ -caprolactone and its copolymers. In: : _____. **Biodegradable polymers as drug delivery systems**. Edição de M. Chasin, R. Langer. New York: Marcel Dekker, 1990, p. 71-120.

REDDY, K.; GANESAN, M.G. Soluções e suspensões especiais. In: : _____. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. Edição de H.C. Ansel, L.V. Allen Jr, N.G. Popovich. Porto Alegre: Artmed, 2011, p. 586.

ROSEN, J.; MINER, J. N. The Search of Safer Glucocorticoid Receptor Ligands. **Endocrine Reviews**, v. 26, n. 3, p. 452-464. 2005.

ROSSI-BERGMANN, R. A nanotecnologia: da saúde para além do determinismo tecnológico. **Ciência e Cultura**, v. 60, n. 2, p. 54-57. 2008.

RUBINSTEIN, M. P.; EVANS, J. E. Therapeutic contact lenses and eyedrops — is there a problem? **Contact Lens and Anterior Eye**, v. 20, n. 1, p. 9-11. 1997.

SAHOO, S. K.; DILNAWAZ, F.; KRISHNAKUMAR, S. Nanotechnology in ocular drug delivery. **Drug discovery today**, v.13, n. 3/4, p. 144-151. 2008.

SANTOS, N. C.; CASTANHO, M. A. R. B. Lipossomas: a bala mágica acertou? **Química Nova**, v. 25, n. 6b, p. 1181-1185. 2002.

SANTOS, J.-F. R. *et al.* Soft contact lenses functionalized with pendant cyclodextrins for controlled drug delivery. **Biomaterials**, v. 30, n. 7, p. 1348-1355. 2009.

SCHAFFAZICK, S. R. *et al.* Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v. 25, n. 5, p. 726-737. 2003.

SCHAEFFER, H. E.; KROHN, D. L. Liposomes in topical drug delivery. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 22, p. 220-227. 1982.

SHAH, S. P. *et al.* Steroid-induced central serous retinopathy. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 43, n. 5, p. 607-608. 2011.

SHAKEEL, F.; RAMADAN, W.; AHMED, M. A. Investigation of true nanoemulsion for transdermal potential of indomethacin: characterization, rheological characteristics, and ex vivo skin permeation studies. **Journal of Drug Targeting**, v. 17, p. 435-441. 2009.

SHIMMER, B. P.; PARKER, K. L. Adrenocorticotrophic hormone; adrenocortical steroids and their synthetic analogs; inhibitors of the synthesis and actions of adrenocortical hormones. In: _____. **Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics**. Edição de BRUNTON, L. *et al.* New York: McGraw-Hill, 2006, p. 1023-1036.

SINTZEL, M. B. *et al.* Biomaterials in ophthalmic drug delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.42, n. 6, p. 358-374. 1996.

SIQUEIRA, N. M. *et al.* Innovative Sunscreen Formulation Based on Benzophenone-3-Loaded Chitosan-Coated Polymeric Nanocapsules. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 24, p. 166-174. 2011.

TEDESCO, A. C.; SIMIONI, A. R.; PRIMO, F. L. Introdução a Nanotecnologia. In: _____. **Terapias avançadas: células-tronco, terapia gênica e nanotecnologia aplicada à saúde**. Edição de MORALES, M. M. São Paulo: Atheneu, 2007, p. 237-246.

TEIXEIRA, H.; FRONZA, T.; CAMPOS, A. Nanoemulsões como Sistemas de Liberação para Fármacos Oftálmicos. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 23, n. 4, p. 558-566. 2004.

THAI, L. C.; TOMLINSON, A.; SIMMONS, P. A. In vitro and in vivo effects of a lubricant in a contact lens solution. **Ophthalmic and Physiological Optics**, v. 22, n. 4, p. 319-329. 2002.

VANDAMME, T. F. Microemulsions as ocular drug delivery systems: recent developments and future challenges. **Progress in Retinal and Eye Research**, v. 21, p.15-34. 2002.

WALTMAN, S. R.; KAUFMAN, H. E. Use of hydrophilic contact lenses to increase ocular penetration of topical drugs. **Investigative Ophthalmology**, v. 9, p. 250-255. 1970.

WICHTERLE, O. L. D. Hydrophilic gels for biological use. **Nature**, v. 185, p. 117-118. 1960.

WU, J.; XIA, Q. Azithromycin nanostructured lipid carrier for use in preparing ophthalmic delivery azithromycin antibacterial agent, comprises azithromycin, mixture of polyoxyl stearate and poloxamer as emulsifier, lipid material e.g. castor oil, and water. **Chinese patent** CN101658493-A. 2010.

XU, J.; LI, X.; SUN, F. Cyclodextrin-containing hydrogels for contact lenses as a platform for drug incorporation and release. **Acta Biomaterialia**, v. 6, n. 2, p. 486-493. 2010a.

XU, J.; LI, X.; SUN, F. Preparation and evaluation of a contact lens vehicle for puerarin delivery. **Journal of Biomaterials Science: Polymer Edition**, v. 21, n. 3, p. 271-288. 2010b.

ZHANG, Y. *et al.* Preparation, characterization and biocompatibility of poly(ethylene glycol)-poly(n-butyl cyanoacrylate) nanocapsules with oil core via miniemulsion polymerization. **European Polymer Journal**, v. 44, p. 1654-1661. 2008.