



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Margarida Ribeiro Alberto

Relatórios de Estágios e Monografia intitulada “Nanopartículas intranasais para o tratamento da depressão e ansiedade” referentes à Unidade Curricular “Estágio” sob a orientação da Dra. Carla Sofia das Neves Rasteiro Branco, da Dra. Carla Gonçalves de Carvalho e da Professora Doutora Patrícia Sofia Cabral Pires, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2022



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Margarida Ribeiro Alberto

Relatórios de Estágios e Monografia intitulada “Nanopartículas intranasais para o tratamento da depressão e ansiedade” referentes à Unidade Curricular “Estágio” sob a orientação da Dra. Carla Sofia das Neves Rasteiro Branco, da Dra. Carla Gonçalves de Carvalho e da Professora Doutora Patrícia Sofia Cabral Pires, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.


Setembro de 2022

## **Declaração de autoria**

Eu, Margarida Ribeiro Alberto, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2017269930, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Nanopartículas intranasais para o tratamento da depressão e ansiedade” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 1 de setembro de 2022.

A handwritten signature in blue ink that reads "Margarida Ribeiro Alberto". The signature is written in a cursive style and is positioned above a horizontal line.

(Margarida Ribeiro Alberto)

## **Agradecimentos**

À minha mãe e ao meu pai, por todo o amor e por acreditarem sempre em mim.

Ao meu irmão, pelo apoio incondicional que sempre me deu.

À minha madrinha, Alexandra, por ter sempre a mão estendida para mim.

A toda a minha família, pelo carinho e pelas palavras de incentivo em todo o meu percurso.

Ao Leonardo, por ter estado sempre ao meu lado nos últimos 5 anos.

Aos meus padrinhos, Gabriela e Guilherme, por me terem apresentado a Coimbra e por me deixarem fazer parte das vossas vidas.

Aos meus amigos, por todos os momentos de diversão, estudo e dedicação.  
Levo-vos comigo para a vida.

À Phartuna- Tuna de Farmácia de Coimbra por me ter dado uma segunda família em Coimbra e por todas as vivências e memórias.

À Dra. Carla Rasteiro e a toda a equipa da Farmácia Sitália por todos os ensinamentos e amizade.

À Dra. Carla Carvalho e a toda a equipa do departamento da Garantia de Qualidade da Bluepharma pela disponibilidade e simpatia com que me receberam.

À Professora Doutora Patrícia Pires por toda a disponibilidade, orientação e palavras de ânimo na realização da monografia.

A Coimbra, por me ter proporcionado os melhores 5 anos da minha vida e por me ter deixado crescer.

Obrigada!

## Índice

### Capítulo I- Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

1. Introdução.....	8
2. Análise SWOT .....	8
2.1 Pontos Fortes.....	8
2.1.1 Equipa e Ambiente de trabalho.....	8
2.1.2 Organização e gestão da farmácia.....	9
2.1.3 Prestação de serviços.....	10
2.1.4 Utentes fidelizados.....	10
2.2 Pontos Fracos.....	11
2.2.1 Receitas desmaterializadas e Receitas manuais .....	11
2.2.2 Conhecimento de MNSRM e nomes comerciais de medicamentos .....	11
2.2.3 Stocks.....	12
2.3 Oportunidades .....	12
2.3.1 Consolidação de conhecimentos.....	12
2.3.2 Formação contínua .....	12
2.4 Ameaças.....	13
2.4.1 Parafarmácias.....	13
2.4.2 Produtos esgotados.....	13
3. Casos Clínicos.....	13
4. Considerações Finais .....	15
5. Bibliografia.....	16

### Capítulo II- Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Abreviaturas.....	18
1. Introdução.....	19
1.1 Bluepharma .....	19
2. Análise SWOT .....	20
2.1 Pontos Fortes.....	20
2.1.1 Receção e integração na equipa.....	20
2.1.2 Formação .....	21
2.1.3 Visão global sobre o processo do medicamento.....	21
2.1.4 Comunicação interdepartamental e intradepartamental .....	22
2.2 Pontos Fracos.....	22
2.2.1 Adaptação ao funcionamento da indústria farmacêutica e duração do estágio curricular .....	22
2.2.2 Impacto da expansão das instalações de São Martinho do Bispo .....	23
2.3 Oportunidades .....	23
2.3.1 Oportunidade de trabalhar com <i>software</i> prestigiado .....	23
2.3.2 Visita à Fabricação e Embalagem e aos laboratórios do Controlo de Qualidade ...	23
2.4 Ameaças.....	24
2.4.1 Competências fora do plano curricular de MICF .....	24
3. Considerações Finais .....	24
4. Bibliografia.....	25

## Capítulo III- Monografia "Nanopartículas intranasais para o tratamento da depressão e ansiedade"

1. Introdução.....	30
1.1 Vantagens da administração intranasal .....	32
1.2 Limitações da administração intranasal .....	32
1.3 Anatomia da cavidade nasal.....	33
1.4 Absorção nasal.....	34
1.4.1 Fatores físico-químicos que influenciam a absorção de fármaco.....	34
1.4.2 Fatores associados à formulação que influenciam a absorção de fármaco .....	35
1.4.3 Estratégias utilizadas para melhorar a absorção de fármacos.....	36
1.5 Sistemas nanométricos de transporte de fármacos.....	37
1.5.1 Lipossomas .....	38
1.5.2 Nanoemulsões .....	38
1.5.3 Nanopartículas.....	39
2. Objetivo do trabalho .....	40
3. Métodos.....	40
4. Resultados e discussão.....	41
4.1 Fármacos utilizados para o tratamento da depressão .....	41
4.1.1 Icariin .....	41
4.1.2 Albiflorin.....	42
4.1.3 Fluoxetina .....	43
4.1.4 Agomelatina.....	45
4.1.5 Desvenlafaxina .....	46
4.1.6 Venlafaxina.....	48
4.1.7 Selegilina.....	52
4.1.8 Tramadol.....	53
4.2 Fármacos utilizados para o tratamento da ansiedade .....	54
4.2.1 Buspirona.....	54
4.2.2 Riluzol.....	56
5. Conclusão.....	57
6. Bibliografia.....	60

# **CAPÍTULO I**

**Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária**

**Farmácia Sitália**

Sob a orientação da Dra. Carla Sofia das Neves Rasteiro Branco

## **Abreviaturas**

**FFUC** - Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

**IMC** - Índice de massa corporal

**MICF** - Mestrado integrado em Ciências Farmacêuticas

**MNSRM** - Medicamento não sujeito a receita médica

**MSRM** - Medicamento sujeito a receita médica

**SNS** - Serviço Nacional de Saúde

**SWOT** - *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*



## **1. Introdução**

O farmacêutico, enquanto profissional de saúde e especialista do medicamento, desempenha um papel de extrema importância na comunidade, nomeadamente como prestador de serviços e cuidados de saúde, promotor de saúde e bem-estar e apresentando-se ainda como fonte de informação atual e verdadeira. A farmácia comunitária, área mais representativa da atuação do farmacêutico devido à visibilidade e importância conferida pelo público, apresenta-se como um local de esclarecimento e acompanhamento dos utentes <sup>1</sup>.

No âmbito da unidade curricular “Estágio Curricular” do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), tive a oportunidade de contactar com o exercício da farmácia comunitária. Assim, a 10 de janeiro de 2022 iniciei o meu estágio curricular na Farmácia Sitália, que se prolongou até 29 de abril de 2022, sob a orientação da Dra. Carla Branco.

A Farmácia Sitália, localizada na Rua General Humberto Delgado, em Coimbra, encontra-se em funcionamento das 9:00h até às 19:30h em dias úteis e das 9:00h às 13:00h ao sábado, encerrando aos domingos e feriados. Nos dias de serviço permanente a farmácia encontra-se em funcionamento desde a hora de abertura até à hora de fecho do dia seguinte <sup>2</sup>. A equipa é constituída pelo Diretor Técnico, o Dr. João Reis, duas farmacêuticas, a Dra. Susana Sousa e a Dra. Carla Branco e uma técnica administrativa, a D. Célia Simões.

## **2. Análise SWOT**

A análise SWOT, do inglês *Strengths* (Forças), *Weaknesses* (Fraquezas), *Opportunities* (Oportunidades) e *Threats* (Ameaças), será a ferramenta utilizada como auxílio na análise do estágio curricular realizado, quer a nível interno, avaliando os pontos fortes e fracos, quer a nível externo, avaliando as oportunidades e ameaças.

### **2.1 Pontos Fortes**

#### **2.1.1 Equipa e Ambiente de trabalho**

Desde o dia em que iniciei o estágio que a equipa da Farmácia Sitália se apresentou sempre com bastante profissionalismo e amigabilidade, tendo feito todos os possíveis por me integrar e me deixar confortável para conhecer a farmácia e o seu modo de funcionamento, disponibilizando-se desde logo para me ajudar em todas as situações e questões apresentadas.

Acompanhar os farmacêuticos concedeu-me a oportunidade de desenvolver competências e aprofundar conhecimentos, avaliando e respondendo a situações reais com que um farmacêutico se depara no seu dia-a-dia em farmácia comunitária.

A confiança e os ensinamentos que os farmacêuticos me foram transmitindo ao longo de todo o estágio, bem como o incentivo à minha autonomia, permitiram-me ganhar segurança nos meus conhecimentos aquando do atendimento ao balcão, possibilitando assim um auxílio adequado e uma resposta eficaz às necessidades dos utentes.

### **2.1.2 Organização e gestão da farmácia**

A organização da farmácia é de extrema importância de forma a otimizar a gestão de *stocks* e de prazos de validade, garantindo a qualidade dos medicamentos e, por sua vez, assegurar o bom funcionamento da farmácia.

Os medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) encontram-se armazenados por forma farmacêutica, ordem alfabética, e por fim por dosagem, seguindo ainda a regra do “*first in - first out*” sendo verificados os prazos de validade aquando da arrumação, de forma a garantir que os prazos de validade mais curtos são os primeiros a serem dispensados. Existem ainda medicamentos que requerem condições de armazenamento especiais, como os estupefacientes e psicotrópicos que são armazenados em local próprio e ainda os medicamentos que necessitam de ser conservados a baixas temperaturas que são armazenados no frigorífico.

Os medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) e produtos de venda livre encontram-se atrás do balcão de atendimento, organizados por aplicação (por exemplo, produtos oftálmicos, produtos dentários, suplementos alimentares, etc.), por ordem alfabética e seguindo ainda a mesma regra dos MSRM do “*first in - first out*”.

A forma como os medicamentos e produtos de saúde estão organizados permitiu-me uma rápida adaptação ao espaço, e, mais tarde, uma otimização do tempo de atendimento. A organização dos produtos de venda livre facilitou a identificação das diferentes opções para o utente, permitindo, na altura do aconselhamento, avaliar a melhor opção disponível para o efeito pretendido pelo utente, uma vez que, identificando a necessidade, os produtos para esse efeito se encontram localizados no mesmo local, permitindo uma visão direta de todas as opções disponíveis na farmácia.

Durante o meu estágio, a disposição os MNSRM e produtos de venda livre expostos por trás do balcão sofreram alterações na disposição, por forma a expor produtos com menor

rotação e a colocar no campo de visão dos utentes produtos sazonais. Estas alterações permitem a rotação dos produtos, captando a atenção do utente para as alterações e potenciando as compras por impulso <sup>3</sup>.

### **2.1.3 Prestação de serviços**

Tendo como principal foco a saúde no geral e o utente em particular <sup>4</sup>, para além do aconselhamento durante o atendimento, existem serviços prestados na farmácia que contribuem para acompanhar o estado de saúde dos utentes. Alguns destes serviços incluem a medição do peso corporal, do índice de massa corporal (IMC), da pressão arterial, a administração de injetáveis, consultas de aconselhamento farmacêutico, entre outros.

Estes serviços permitem fazer um acompanhamento mais próximo dos utentes, concedendo a oportunidade de detetar situações em que seja necessária intervenção médica ou efeitos adversos ou erros na administração dos medicamentos e ainda interações medicamentosas que possam ser relevantes.

Ao longo do meu estágio realizei várias vezes a medição da pressão arterial, tendo tido a oportunidade de acompanhar alguns utentes, referenciando alguns destes ao médico quando estes valores se encontravam constantemente alterados, o que resultou, nalguns casos, em ajustes de medicação ou introdução de terapêutica para manutenção destes valores.

### **2.1.4 Utentes fidelizados**

A maioria dos utentes da Farmácia Sitália são fidelizados. O sistema informático utilizado, “4DigitalCare<sup>®</sup>”, permite a criação de ficha do utente, possibilitando o acesso ao histórico de vendas e identificação da medicação habitual. O acesso à ficha do utente facilita o atendimento, uma vez que existe uma grande diversidade de genéricos de diferentes laboratórios e, por vezes, os utentes não estão suscetíveis a alterações nas embalagens mas não conseguem identificar o laboratório habitual.

O facto de serem utentes fidelizados permite ainda um acompanhamento contínuo, nomeadamente na evolução de patologias e em alterações de medicação. Este acompanhamento pode permitir identificar patologias menosprezadas, efeitos secundários de medicamentos, interações medicamentosas, entre outros. O farmacêutico desempenha assim um papel crucial nessas situações.

## **2.2 Pontos Fracos**

### **2.2.1 Receitas desmaterializadas e Receitas manuais**

As receitas desmaterializadas ou “receitas sem papel” continuam a ser um desafio para os utentes. Seja para os utentes de mais idade que têm dificuldade em aceder ao email ou às mensagens no telemóvel, seja para os utentes mais novos que deixam acabar a validade das receitas ou que pensam ainda ter medicação prescrita quando já não têm. Apesar da aplicação do Serviço Nacional de Saúde (SNS) facilitar a consulta das receitas ainda por dispensar ou parcialmente dispensadas, muitas pessoas ainda desconhecem ou têm dificuldade em perceber como funciona.

As receitas desmaterializadas dificultam assim o acompanhamento pelo utente da medicação prescrita, sendo que muitos ainda recorrem às receitas impressas em papel para o levantamento e acompanhamento das receitas que possuem.

As receitas manuais têm vindo a ser cada vez menos utilizadas pelos prescritores, no entanto, ainda podem ser utilizadas em quatro situações diferentes, seja falência do sistema informático, inadaptação do prescritor, prescrição ao domicílio e noutras situações até um máximo de 40 receitas médicas por mês. Assim, este tipo de receitas ainda aparece na farmácia, requerendo especial atenção na confirmação do preenchimento de todos os campos necessários para uma prescrição correta. A receita deve então possuir a justificação de prescrição manual dentro das 4 opções disponíveis, a vinheta e assinatura do médico, a data de prescrição que deve ser igual ou inferior à data de dispensa, e tendo ainda em atenção que cada receita só pode ter até 4 medicamentos ou produtos de saúde diferentes, sendo que o número de embalagens não pode ultrapassar o limite de duas por medicamento ou produto, nem o total de quatro embalagens por receita <sup>5</sup>. Para além de todos estes aspetos, a caligrafia do prescritor por vezes não é clara, dificultando o entendimento do medicamento prescrito, sendo por vezes necessário recorrer a outros farmacêuticos de forma a garantir que os medicamentos ou produtos dispensados são os corretos.

### **2.2.2 Conhecimento de MNSRM e nomes comerciais de medicamentos**

Ao chegar à farmácia deparamo-nos com uma quantidade imensa de medicamentos e produtos de saúde com nomes comerciais com os quais não contactamos na faculdade. A adaptação a esses nomes demora algum tempo o que por vezes dificulta o atendimento ao balcão, uma vez que os utentes conhecem o nome de marca, mas não identificam o princípio ativo. Para além dos MSRM, também os MNSRM são reconhecidos pelo utente pelos seus nomes comerciais, sendo por vezes difícil identificar a necessidade do utente.

Neste sentido, a ajuda dos profissionais da Farmácia Sitália foi crucial na identificação de alguns produtos solicitados pelos utentes. Para além disso, o sistema informático mostrou-se também como uma ferramenta bastante útil, uma vez que pesquisando pelo nome comercial, a ficha do produto possui todas as informações necessárias para identificar o princípio ativo e a partir daí fazer um aconselhamento adequado.

### **2.2.3 Stocks**

Devido à variedade de produtos que existem no mercado, tanto em MSRM como em MNSRM, é inconcebível possuir todos esses produtos em *stock*, o que por vezes faz com que não estejam disponíveis de imediato os produtos para o utente.

A distribuição farmacêutica detém um papel decisivo no circuito do medicamento, permitindo o acesso rápido e constante aos medicamentos. A Farmácia Sitália trabalha com diversos distribuidores, no entanto, na grande maioria recorre à distribuidora “Empifarma”, que realiza entregas duas vezes por dia, permitindo assim que, as encomendas feitas no período da manhã estejam disponíveis no período da tarde e as encomendas do período da tarde estejam disponíveis no dia seguinte, desde que a distribuidora possua *stock*.

## **2.3 Oportunidades**

### **2.3.1 Consolidação de conhecimentos**

O MICF possui nove semestres de unidades curriculares teóricas, assim o estágio curricular em farmácia comunitária é bastante enriquecedor, na medida que permite colocar em prática e consolidar os conhecimentos teóricos adquiridos ao longo do curso.

### **2.3.2 Formação contínua**

Todos os dias há progressos relacionados com a saúde, sendo por isso indispensável que o farmacêutico, enquanto agente de saúde pública, se mantenha informado e atualizado de forma a transmitir informação verdadeira e atual.

Para além da aprendizagem contínua adquirida todos os dias pelo contacto direto com a profissão do farmacêutico em farmácia comunitária, ao longo do meu estágio fui incentivada e tive a oportunidade de participar em diversas formações que me permitiram alargar conhecimentos e familiarizar-me com alguns produtos disponíveis na farmácia. Entre estas formações destaco PharmaNord- BioAtivo<sup>®</sup>, Niquitin<sup>®</sup> e Fresubin<sup>®</sup>.

Os profissionais da Farmácia Sitália incentivaram-me desde logo a participar nestas formações, não só pelo contacto com os produtos, mas também para ouvir perspetivas e partilhas de outros farmacêuticos e profissionais de saúde que participam nestas formações.

## **2.4 Ameaças**

### **2.4.1 Parafarmácias**

O Decreto-Lei n.º 134/2005, de 16 de agosto veio possibilitar a venda de MNSRM fora das farmácias <sup>6</sup>. O poder de compra de grandes superfícies comerciais é muito superior ao da farmácia, permitindo-lhes efetuar compras em grandes quantidades, levando a que os preços por parte dos distribuidores e armazenistas seja mais acessível e por sua vez, possibilitando a marcação de preços mais baixos para o consumidor final. A Farmácia Sitália encontra-se localizada a poucos minutos de uma grande superfície comercial. Dessa forma, os utentes optam muitas vezes por adquirir MNSRM nessas superfícies, fazendo com que a farmácia tenha menos procura e rotação desses produtos. É, no entanto, importante reforçar aos utentes que os MNSRM, apesar de serem de venda livre, possuem efeitos adversos e interações que podem comprometer a eficácia de medicação crónica ou perturbar o estado de saúde atual. A dispensa destes medicamentos deve ser feita sempre com atenção à medicação já existente e de forma consciente e ponderada.

### **2.4.2 Produtos esgotados**

No decorrer do meu estágio deparei-me diversas vezes com medicamentos “esgotados” em todos os armazenistas com que a Farmácia Sitália trabalha, o que dificulta a aquisição destes para disponibilizar ao utente. Muitas das vezes existem alternativas, nomeadamente genéricos, no entanto, nalgumas situações, a falta de *stock* devido ao produto se encontrar “esgotado” pode afetar o tratamento contínuo, podendo ter consequências na saúde do utente.

## **3. Casos Clínicos**

### **Caso I**

Um rapaz com cerca de 20 anos dirige-se à farmácia e pede algo que o ajude com os sintomas gripais que tem sentido nos últimos dias, não apresentando febre. Tendo em conta a situação pandémica vivida durante o período em que realizei o estágio, questionei o rapaz se realizou um teste ao SARS-CoV-2, ao qual me responde que não. Aconselho-o a realizar um autoteste ou um teste participado numa farmácia aderente e a toma de paracetamol de 8 em 8h para alívio dos sintomas gripais.

## **Caso 2**

Uma senhora, com cerca de 70 anos dirige-se à farmácia para levantar a sua medicação, referindo ainda que tem sentido um mau estar intestinal e apresentado diarreia sem conseguir identificar um motivo concreto para esses sintomas. Ao analisar a receita identifiquei que a senhora toma metformina para controlo da diabetes. O desconforto pode estar associado à toma de metformina, pelo que informo a senhora que o desconforto intestinal pode estar relacionado com a toma do medicamento, sendo um efeito secundário frequente que tende a passar ao fim de alguns dias. Reforço que não deve suspender a medicação e aconselho a ingestão de muitos líquidos e a monitorização da situação, sendo que em caso de persistência dos sintomas deve dirigir-se ao médico.

## **Caso 3**

Uma senhora dirige-se à farmácia e afirma que o marido se queixa de dores musculares, congestão nasal e febre. A senhora refere que ela também tem o nariz congestionado há já uns dias, sendo que não apresenta mais nenhum sintoma. Ambos realizaram um teste à SARS-CoV-2 que deu resultado negativo. Questiono desde quando tem febre, ao qual me responde que começou no dia anterior.

Para o senhor aconselho um antigripal composto por paracetamol e fenilefrina, de 8h em 8h, que vai ter uma ação antipirética, analgésica e descongestionante, aliviando os sintomas apresentados. Reforço ainda que se os sintomas persistirem por mais de 3 dias deve dirigir-se ao médico. Para a senhora aconselho um descongestionante nasal em spray que contém cloridrato de xilometazolina e dexpanthenol, que vai ajudar a descongestionar e a manter a hidratação da mucosa nasal, reforçando que o tratamento deve ser descontinuado ao fim de 5 dias de forma a evitar o efeito *rebound*.

## **Caso 4**

Uma senhora com cerca de 70 anos dirige-se à farmácia para levantar a sua medicação habitual. Aquando do atendimento refere que nos últimos dias apresenta tosse que parece não passar por nada. Questiono a senhora qual o tipo de tosse, ao qual me responde que é seca e irritativa. Ao avaliar a medicação habitual, questionei se algum dos medicamentos tinha sido alterado recentemente, ao qual me responde que o médico lhe trocou o medicamento da tensão por um novo. Avaliando a receita, vejo que o medicamento novo é uma combinação de perindopril, indapamida e amlodipina, ou seja, um inibidor da enzima de conversão da angiotensina, um diurético tiazídico e um bloqueador da entrada de cálcio. Sabendo que um

dos efeitos secundários mais comuns provocado pelos inibidores da enzima de conversão da angiotensina é tosse seca irritativa devido ao aumento da bradicinina, explico à senhora que a tosse que apresenta pode ser um efeito secundário do medicamento da tensão e que tem de informar o médico, de forma a avaliar a situação e possivelmente alterar-lhe novamente a medicação, reforçando no entanto que não deve parar a medicação.

### **Caso 5**

Um senhor com cerca de 50 anos dirige-se à farmácia à procura de um medicamento para a tosse que tem sentido nos últimos dias, tendo testado negativo à SARS-CoV-2. Questiono o senhor se a tosse é seca ou produtiva, se é pior à noite e se possui alguma outra patologia nomeadamente problemas de tensão arterial ou diabetes, ao qual me responde que é uma tosse com alguma expectoração, sem agravamento noturno e que não possui mais nenhuma patologia. Avaliando a situação aconselho um comprimido efervescente de acetilcisteína, ao almoço, até alívio dos sintomas visto que esta vai ajudar na libertação da expectoração.

## **4. Considerações Finais**

O farmacêutico, enquanto agente de saúde, desempenha um papel de extrema importância junto da população, nomeadamente em farmácia comunitária cujo contacto com os utentes é direto, permitindo assim instruir o utente sobre o medicamento, com o objetivo de melhorar a saúde individual e a saúde pública.

A farmácia comunitária apresenta-se assim como um local de prestação de serviços que permitem monitorizar, avaliar e identificar problemas que possam afetar a saúde dos utentes, desde a medição da pressão arterial até à possível identificação de efeitos adversos provocados pela medicação ou a presença de sintomas que necessitem de avaliação médica.

Durante quatro meses tive a oportunidade de, através da realização do meu estágio curricular na Farmácia Sitália, aplicar conhecimentos teóricos adquiridos ao longo de todo o plano curricular do MICE, desde a receção de encomendas e reposição de *stocks* até ao atendimento e aconselhamento farmacêutico, o que me permitiu obter uma visão prática do que é a realidade da profissão farmacêutica em farmácia comunitária, tendo sido bastante enriquecedor quer a nível pessoal quer enquanto futura profissional.



## 5. Bibliografia

1. PITA, João Rui; BELL, Victoria - A farmácia em Portugal nos últimos 30 anos. Algumas reflexões sobre a farmácia de oficina ou comunitária. Debater a Europa. ISSN 1647-6336. 15 (2016) 197–215. doi: 10.14195/1647-6336\_15\_11.
2. DIÁRIO DA REPÚBLICA - Decreto-Lei n.º 53/2007, de 8 de março [Consult. 22 aug. 2022]. Disponível em: <https://data.dre.pt/eli/dec-lei/53/2007/03/08/p/dre/pt/html>
3. FABIÁN, Carlos; SERRA, Juan Carlos - Merchandising de gestión: Espacio y animación. Farmacia Profesional. Vol.18:Issue 10. (2004) 26–33.
4. DIÁRIO DA REPÚBLICA - Lei n.º 131/2015, de 4 de setembro [Consult. 22 aug. 2022]. Disponível em: <https://dre.pt/dre/detalhe/lei/131-2015-70186240>
5. DIÁRIO DA REPÚBLICA - Portaria n.º 224/2015 de 27 de julho [Consult. 22 aug. 2022]. Disponível em: <https://data.dre.pt/eli/port/224/2015/07/27/p/dre/pt/html>
6. DIÁRIO DA REPÚBLICA - Decreto-Lei n.º 134/2005, de 16 de agosto [Consult. 22 aug. 2022]. Disponível em: <https://dre.pt/dre/detalhe/decreto-lei/134-2005-243692>

# **CAPÍTULO II**

**Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica**

**Bluepharma, Indústria Farmacêutica, S.A.**

Sob orientação da Dra. Carla Gonçalves de Carvalho

## **Abreviaturas**

**CAPAs** - *Corrective and preventive actions*

**FFUC** - Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

**MICF** - Mestrado integrado em ciências farmacêuticas

**PQRs** - *Product Quality Reviews*

**QA** - *Quality Assurance*

**SOPs** - *Standard Operating Procedures*

**SWOT** - *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

## **I. Introdução**

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) possui um plano curricular bastante completo que prepara os estudantes para o mercado de trabalho num conjunto de diversas áreas do medicamento, incluindo, entre outras, a farmácia comunitária, a farmácia hospitalar e a indústria farmacêutica. De forma a possibilitar aos estudantes o contacto e realização do estágio curricular em diversas áreas do medicamento, a FFUC estabelece protocolos com diversas empresas e entidades. Nesse seguimento, tive a oportunidade de estabelecer um primeiro contacto com a indústria farmacêutica através da realização do meu estágio curricular na Bluepharma. A minha preferência pela Bluepharma partiu do contacto que vamos tendo com a própria indústria ao longo do curso, que nos permite conhecer os seus valores e objetivos e por ser sediada em Coimbra.

### **I.1 Bluepharma**

A Bluepharma foi fundada em 2001 por um conjunto de profissionais que decidiu adquirir a unidade industrial pertencente à multinacional alemã Bayer, localizada em São Martinho do Bispo, Coimbra. Em pouco mais de 20 anos conseguiu adquirir uma notória reputação internacional no setor farmacêutico. A Bluepharma trabalha todas as áreas do medicamento, desde a investigação e desenvolvimento até ao mercado tendo como valores o profissionalismo, competência, honestidade, integridade, transparência e compromisso<sup>1; 2; 3</sup>.

A possibilidade de realizar o estágio curricular na Bluepharma começa com a realização de uma entrevista, o que logo à partida nos dá um primeiro contacto com o mercado de trabalho. No seguimento da entrevista somos contactados, sendo explicitado o departamento onde teremos oportunidade de realizar o estágio. Assim, a 2 de maio de 2022 iniciei o meu estágio curricular no departamento da Garantia de Qualidade da Bluepharma que se prolongou até 29 de julho, sob a orientação da Dra. Carla Carvalho.

O departamento da Garantia de Qualidade tem como função garantir a implementação e manutenção do sistema de gestão integrado. Encontra-se dividido em grupos de trabalho especializados por áreas internas, que permitem o bom funcionamento do departamento: Produto (*QA Product*), Auditorias (*QA Audits*), Projetos (*QA Projects*) e Fornecedores (*QA Suppliers*). Eu tive a oportunidade de integrar o *QA Product*, que é responsável, entre outras tarefas relacionadas com o produto, pela realização de *Product Quality Reviews (PQRs)*.

Os PQRs são um requisito das boas práticas de fabrico, consistindo numa revisão de todos os dados relativos a um determinado produto. A Bluepharma divide os PQRs em dois grupos: PQRs *Bulk* e PQRs *Finished Product*. A finalidade dos PQRs prende-se com a possibilidade de analisar toda a informação, permitindo identificar tendências, necessidade de implementação de CAPAs (*corrective and preventive actions*) e oportunidades de melhoria, tendo em vista a melhoria contínua dos processos.

## **2. Análise SWOT**

A análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*) será a ferramenta utilizada para a análise do estágio curricular realizado na Bluepharma. Esta ferramenta possibilita uma análise a nível interno, avaliando os pontos fortes e fracos e a nível externo, avaliando as oportunidades e ameaças.

### **2.1 Pontos Fortes**

#### **2.1.1 Receção e integração na equipa**

O primeiro dia na Bluepharma inicia-se com uma sessão de acolhimento com os Recursos Humanos, que dão as boas-vindas aos estagiários, apresentando a história da Bluepharma e introduzindo-nos a vários novos conceitos e procedimentos que vão passar a fazer parte do nosso dia-a-dia durante a realização do estágio curricular. Esta sessão inicial demonstrou ser bastante importante para a integração dos novos estagiários na empresa bem como para a aquisição de noções importantes sobre o modo de funcionamento geral da Bluepharma. Posteriormente à apresentação, fomos entregues ao nosso orientador, que será a pessoa responsável pela nossa integração no departamento e por nos acompanhar ao longo de todo o estágio.

Desde logo fui muito bem recebida, tendo sido apresentada à sala dedicada ao departamento da Garantia de Qualidade e às pessoas aí presentes e foi-me atribuído todo o material necessário para a realização das minhas tarefas. O meu estágio realizou-se em modo híbrido, tendo tido a oportunidade de realizar as minhas tarefas presencialmente na Bluepharma e também em teletrabalho.

Durante todo o meu estágio, todos os colaboradores da Bluepharma com que tive oportunidade de contactar mostraram-se sempre bastante disponíveis e prestáveis no esclarecimento das minhas dúvidas e no auxílio da realização das minhas tarefas, fazendo-me sempre sentir como parte da equipa e proporcionando um bom ambiente de trabalho.

### **2.1.2 Formação**

Os meus primeiros dias na Bluepharma foram preenchidos com a realização de formações iniciais, que permitem uma melhor compreensão do funcionamento da empresa e das nossas obrigações enquanto colaboradores. Estas formações realizaram-se em modo presencial e em modo vídeo, sendo seguidas de um pequeno exame de compreensão dos conceitos transmitidos. Algumas das formações que realizei incluíram “Introdução aos Assuntos Regulamentares”, “Melhoria Contínua”, “Noções de Farmacovigilância: Reações Adversas Medicamentosas”, “Boas Práticas de Distribuição” e “Boas Práticas de Documentação e Introdução aos Processos de Qualidade”.

Para além de todas as formações iniciais, tive ainda a oportunidade de contactar com *guidelines* e procedimentos internos, SOPs (*Standard Operating Procedure*), que me permitiram ficar a conhecer a organização da Bluepharma e o objetivo dos PQRs e de outros documentos.

Toda a formação que recebi, não só no início do meu estágio, mas também durante a realização das minhas tarefas, foi importante não só enquanto colaborador da Bluepharma mas também pessoalmente, permitindo-me adquirir e desenvolver competências.

### **2.1.3 Visão global sobre o processo do medicamento**

Durante os três meses em que integrei a equipa da Garantia de Qualidade, tive a oportunidade de contactar e aprender a realizar PQRs. Como já referido, os PQRs encontram-se divididos em dois grupos: PQRs *Bulk* e PQRs *Finished Product*, sendo que apenas realizei PQRs de *Bulk*.

A possibilidade de realizar PQRs permitiu-me contactar com todas as etapas da produção do medicamento, oferecendo-me a oportunidade de me familiarizar com o que acontece na produção industrial de medicamentos uma vez que para a realização de PQRs é necessário recolher todos os dados relacionados com o produto, desde as matérias primas, desvios, reclamações, resultados do controlo de qualidade, entre outros, e analisá-los, incitando assim à minha capacidade de análise crítica por forma a realizar propostas de melhoria.

Todo o meu trabalho foi revisto pela minha orientadora, tendo sido possível identificar erros e melhorar a qualidade do meu trabalho ao longo da duração do estágio.

#### **2.1.4 Comunicação interdepartamental e intradepartamental**

Na realização das minhas tarefas necessitei muitas vezes de abordar colaboradores de outros departamentos de forma a esclarecer dúvidas provenientes da realização das minhas tarefas, dando-me a oportunidade não só de contactar com pessoas do departamento em que me inseri, mas também com colaboradores de outros departamentos, como por exemplo, *Compliance*, *Scale up*, Fabricação e Controlo de Qualidade.

Para além disso, no final do meu estágio foi-me pedido que realizasse uma pequena análise do meu estágio em modo apresentação para todo o departamento da Garantia de Qualidade. Esta apresentação foi benéfica não só no sentido em que me permitiu consolidar os conhecimentos adquiridos ao longo do estágio, mas também me permitiu aperfeiçoar as minhas capacidades de comunicação e de apresentação, duas competências necessárias em indústria farmacêutica para o bom funcionamento de toda a empresa.

### **2.2 Pontos Fracos**

#### **2.2.1 Adaptação ao funcionamento da indústria farmacêutica e duração do estágio curricular**

De forma a permitir o bom funcionamento de todas as partes que constituem a indústria farmacêutica, o nível de organização interno tem de ser bastante elevado. A Bluepharma não é exceção, possuindo documentação que contempla todos os procedimentos bem definidos, de forma a atenuar erros e a corrigir possíveis falhas. A compreensão do modo de funcionamento da empresa e uma cooperação contínua entre os diversos departamentos, bem como um esforço por parte de todos os colaboradores, na compreensão e execução das suas tarefas é assim fundamental.

O primeiro contacto que tive com a indústria farmacêutica foi através da realização do estágio curricular, assim, e devido à dimensão e complexidade da empresa, apesar das formações iniciais que a Bluepharma proporciona a todos os colaboradores, o período de adaptação à forma de funcionamento da empresa e às tarefas que nos são atribuídas é demorado. Desta forma, a duração do estágio não me permitiu ganhar autonomia na realização das minhas tarefas, sendo necessário apoio por parte, não só da minha orientadora mas também de outros colaboradores, uma vez que as tarefas que realizei implicam contacto com todas as etapas de produção do medicamento, desde a aquisição das matérias-primas até à libertação do lote em *bulk*. Esta fraqueza foi atenuada pelos colaboradores com que tive

oportunidade de contactar que se mostraram sempre compreensivos e prestáveis no esclarecimento das minhas dúvidas.

### **2.2.2 Impacto da expansão das instalações de São Martinho do Bispo**

Durante a realização do meu estágio, o polo de São Martinho do Bispo em Coimbra, onde se encontra localizado o escritório da Garantia de Qualidade, encontrou-se em expansão, pelo que durante os três meses que estive na Bluepharma realizaram-se obras constantes nas instalações. Apesar da expansão não estar relacionada com a área dos escritórios, foi possível ouvir o ruído provocado pelas obras no local, que por vezes teve impacto na concentração necessária para a realização das minhas tarefas. Esta fraqueza foi atenuada pela possibilidade de realizar teletrabalho nos dias de maior movimento, permitindo-me assim manter a concentração e empenho necessário na realização das minhas tarefas.

Apesar de considerar este ponto como uma fraqueza na realização do meu estágio, pela interferência que o ruído provocou, reconheço a sua importância a longo prazo para a Bluepharma, possibilitando a sua expansão e melhoria a nível das instalações.

## **2.3 Oportunidades**

### **2.3.1 Oportunidade de trabalhar com *software* prestigiado**

A Bluepharma possui diversos *softwares* que são utilizados a nível nacional e internacional pelas mais variadas empresas, nomeadamente SAP (Sistema de Gestão), Veeva Vault (Sistema Documental) e JMP (Sistema de análise estatística). Para a realização das minhas tarefas tive a oportunidade de contactar e aprender a utilizar estes *softwares*. Estas competências adquiridas podem ser necessárias mais tarde na minha vida profissional, tendo esta sido uma mais-valia na realização do meu estágio curricular.

### **2.3.2 Visita à Fabricação e Embalagem e aos laboratórios do Controlo de Qualidade**

Antes de terminar o meu estágio foi-me dada a oportunidade de fazer uma visita às instalações da Bluepharma onde se localiza a Fabricação e Embalagem e posteriormente aos laboratórios do Controlo de Qualidade. Considero estas visitas extremamente benéficas uma vez que esta foi a primeira visita que visitei instalações de fabricação e controlo de qualidade de uma indústria farmacêutica. Do ponto de vista das tarefas que desenvolvi durante o meu estágio, estas visitas possibilitaram-me uma melhor compreensão dos dados que fui analisando para a realização de PQRs e permitiram-me visualizar as instalações e equipamentos utilizados



em todo o percurso realizado pelos medicamentos, desde a chegada das matéria-prima, passando pelos laboratórios do Controlo de Qualidade, até ao embalamento.

## **2.4 Ameaças**

### **2.4.1 Competências fora do plano curricular de MICF**

O plano curricular de MICF é bastante completo, no entanto, para a realização das minhas tarefas no departamento da Garantia de Qualidade, foi necessário ter um conhecimento vasto na utilização de diferentes tipos de *softwares*, desde o Microsoft Exel até ao programa de análise estatística, pelo que necessitei de desenvolver estas competências, tendo sido crucial o apoio dos colaboradores do departamento da Garantia de Qualidade que se mostraram sempre disponíveis para esclarecer todas as minhas dúvidas.

A otimização na utilização destes *softwares* foi importante no sentido em que a utilização correta e o vasto conhecimento das suas funções permitem reduzir o tempo necessário para o processamento dos dados, havendo assim mais tempo para a análise desses mesmos dados, que acaba por ser a parte com maior importância para a melhoria contínua dos processos.

## **3. Considerações Finais**

A possibilidade de realizar o estágio curricular em diversas áreas do medicamento é sem dúvida uma oportunidade para os estudantes da FFUC experienciarem e explorarem diferentes áreas pelas quais possuam interesse. A realização do estágio curricular na Bluepharma permitiu-me um primeiro contacto com a indústria farmacêutica, uma das áreas do medicamento em que o farmacêutico é imprescindível.

Ao longo de três meses tive a oportunidade de experienciar o dia-a-dia de um farmacêutico integrante do departamento da Garantia da Qualidade da Bluepharma o que me permitiu, de acordo com as tarefas que me foram atribuídas, perceber a importância da realização de PQRs para a melhoria contínua dos processos, incitando à minha análise crítica dos dados a que tive acesso e possibilitou-me ainda perceber melhor o funcionamento de uma indústria farmacêutica.

Considero que a realização do meu estágio curricular na Bluepharma foi uma mais-valia para a minha formação enquanto estudante finalista de MICF e futura profissional, permitindo-me desenvolver e adquirir um conjunto de competências que serão necessárias no meu futuro profissional.

#### **4. Bibliografia**

1. BLUEPHARMA - História [Consult. 19 aug. 2022]. Disponível em: <https://www.bluepharma.pt/about-history.php>
2. BLUEPHARMA - Desenvolvimento e negócio [Consult. 19 aug. 2022]. Disponível em: <https://www.bluepharmagroup.com/pt/desenvolvimento-do-negocio/cdmo>
3. BLUEPHARMA - Sobre nós [Consult. 19 aug. 2022]. Disponível em: <https://www.bluepharmagroup.com/pt/sobre-nos/empresa>

# **CAPÍTULO III**

Monografia

“Nanopartículas intranasais para o tratamento da depressão  
e ansiedade”

Sob orientação da Professora Doutora Patrícia Sofia Cabral Pires

## Resumo

O tratamento de doenças do sistema nervoso central, como é o caso da depressão e ansiedade, apoia-se maioritariamente na administração oral de fármacos com ação antidepressiva ou ansiolítica. Atendendo ao crescente aumento da incidência destas doenças e às desvantagens apresentadas pelo tratamento administrado por essa via (como o efeito de primeira passagem hepático, a necessidade de administrações regulares, a restrição pela barreira hematoencefálica e pelo líquido cefalorraquidiano e as variações das concentrações de fármaco no plasma), têm vindo a ser elaborados estudos com o objetivo de desenvolver novas formas de tratamento que permitam ultrapassar essas desvantagens e melhorar a eficácia das terapêuticas aplicadas.

Nesse sentido, a via intranasal tem vindo a ganhar interesse como via de administração de fármacos até ao local de ação no cérebro devido às suas características que permitem um transporte direto para o sistema nervoso central, ultrapassando a barreira hematoencefálica e permitindo assim um início de ação mais rápido e um direcionamento para o local de ação mais eficaz. Para além desta via de administração, as nanopartículas têm vindo a ser estudadas como possíveis alternativas às formulações convencionais, com o objetivo de melhorar a biodisponibilidade dos fármacos que, quando administrados por via intranasal, sofrem degradação enzimática, elevada *clearance* mucociliar ou possuem fraca permeabilidade ou absorção. O presente trabalho teve como objetivo analisar o potencial da administração de nanopartículas pela via intranasal para o tratamento da depressão e ansiedade, recorrendo à análise de diversos estudos já realizados.

Da análise realizada, concluiu-se que o desenvolvimento das formulações tem em atenção as características da mucosa nasal de forma a que permitam ultrapassar desvantagens e potenciar a absorção e permeabilidade do fármaco. A utilização de nanopartículas permite proteger o fármaco da degradação enzimática e a modulação dos seus componentes permite conferir-lhes propriedades vantajosas na administração intranasal, como a diminuição da *clearance* mucociliar, e o aumento do tempo de residência na cavidade nasal, da absorção e da permeabilidade pela mucosa. Estudo *in vitro* de libertação foram realizados, demonstrando na grande maioria, uma vantagem da utilização destas formulações. Estudos *in vivo* em ratos ou murganhos foram também realizados, permitindo averiguar a eficácia do tratamento com as formulações desenvolvidas, tendo os resultados sido bastante promissores.

**Palavras-chave:** nanopartículas; intranasal; depressão; ansiedade

## **Abstract**

The treatment of diseases of the central nervous system, such as depression and anxiety, relies on the oral administration of drugs with antidepressant or anxiolytic action. Given the increased incidence of these diseases, and the disadvantages of drug oral administration (such as the hepatic first-pass effect, the need for regular administrations, the restrictions presented by the blood-brain barrier and by the cerebrospinal fluid, and the variations of plasma drug concentrations), studies with the aim of developing new ways of treatment, that allow to overcome these disadvantages and improve the effectiveness of the therapies applied, are being developed.

Therefore, the intranasal pathway gained interest as a route of administration of drugs to the target the brain, due to its characteristics that allow a direct transport to the central nervous system, overcoming the blood brain barrier and allowing a faster onset of action and guiding the drug to the intended target. In addition to the route of administration, nanoparticles have been studied as possible alternatives to conventional formulations, with the objective of improving the bioavailability of drugs that, when administered intranasally, undergo enzymatic degradation, mucociliary clearance or have low permeability or absorption. The present work aimed to analyze the potential of intranasal nanoparticle administration for the treatment of depression and anxiety, using the analysis of several studies already performed.

From the carried-out analysis, it was concluded that nanoparticle development takes into consideration the characteristics of the nasal mucosa in order to allow to overcome disadvantages and enhance drug absorption and permeability. The use of nanoparticles allows to protect the drug from enzymatic degradation, and the modulation of its components provides advantages for intranasal administration, such as decrease of mucociliary clearance, increase in the residence time of the drug in the nasal cavity, as well as an enhancement in permeability and absorption through the mucosa. *In vitro* release studies were conducted, demonstrating, in the majority of cases, an advantage of the use of these formulations. *In vivo* studies, in rats or mice, were also carried out, allowing to verify the efficacy of the treatment with the developed formulations with results being very promising.

**Keywords:** nanoparticles; intranasal; depression; anxiety

## **Abreviaturas**

**AUC** - Área sob a curva

**CUMS** - *Chronic Unpredictable Mild Stress*

**DTE%** - *Drug targeting efficiency*

**DTP%** - *Drug transport percentage*

**EDTA** - Ácido etilenodiaminotetracético

**EE%** - Eficiência de encapsulação

**GABA** - Ácido  $\gamma$ -aminobutírico

**HPMC** - Hidroxipropilmetilcelulose

**IMAO** - Inibidores da monoamina oxidase

**NLC** - Transportadores lipídicos nanoestruturados (*nanostructured lipid carriers*)

**PDI** - Índice de polidispersão

**PLGA** - Poli(D,L-lactídeo co- glicolídeo)

**PVA** - Álcool polivinílico

**SLN** - Nanopartículas lipídicas sólidas (*solid lipid nanoparticles*)

**SNC** - Sistema nervoso central

**t<sub>1/2</sub>** - Tempo de semi-vida

**Tf** - Transferrina

**TfRp** - Péptido específico contra Tf

**TPP** - Tripolifosfato de sódio

## I. Introdução

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, a saúde mental desempenha um papel de extrema importância na sociedade, sendo necessário um maior investimento na conscientização da população para a compreensão e redução de discriminação referente a patologias desta natureza, uma melhoria no acesso a um tratamento eficaz e de qualidade, e um reforço na investigação e desenvolvimento de novos tratamentos, bem como na melhoria dos tratamentos já existentes <sup>1</sup>.

A depressão é uma das principais causas de incapacidade em todo o mundo, contribuindo ainda para o desenvolvimento de outras doenças, incluindo condições neuropsiquiátricas, metabólicas e cardiovasculares. Caracteriza-se por desinteresse pelas atividades do dia-a-dia, tristeza, irritabilidade, fadiga, sentimentos de culpa, baixa autoestima, perturbações no sono, pensamentos suicidas, entre outros, estando por isso associada à diminuição da qualidade de vida. Pode ser classificada em dois grandes grupos, depressão *major*, quando os sintomas são mais intensificados e há uma maior carga emocional, ou depressão *minor*, quando existe menor número de sintomas permitindo a realização das atividades diárias <sup>2: 3</sup>. A hipótese mais aceite como etiologia da depressão sustenta-se num distúrbio da transmissão monoaminérgica, ou seja, existe uma perturbação na transmissão de serotonina, noradrenalina e dopamina no cérebro devido à interação complexa de vários fatores sociais (por exemplo eventos traumáticos da vida), psicológicos (a própria personalidade e a forma como cada pessoa lida com problemas) e biológicos (podendo haver uma predisposição hereditária). A maioria dos fármacos utilizados no tratamento da depressão tem como ação aumentar a disponibilidade desses neurotransmissores na fenda sináptica, recorrendo a diversos mecanismos de ação, podendo ser, inibidores seletivos da recaptção neuronal de serotonina, como a fluoxetina, sertralina, escitalopram; inibidores não seletivos da recaptção neuronal de serotonina e de noradrenalina, como a venlafaxina; antidepressivos tricíclicos, como a amitriptilina, ou não tricíclicos, como a trazodona e mirtazapina; inibidores da monoamina oxidase (IMAO) do tipo A, como a moclobemida; entre outros, como a agomelatina, que atua como agonista da melatonina e antagonista seletivo da recaptção neuronal de serotonina <sup>4: 5: 6</sup>.

A ansiedade é um tipo de perturbação do sistema nervoso central (SNC) cuja intensidade e frequência interferem com as atividades do dia-a-dia, podendo prejudicar o desempenho no local de trabalho ou na vida escolar, estando ainda associada a um aumento da morbidade cardiovascular e da mortalidade. Os sintomas mais prevalentes da ansiedade

incluem sensação de preocupação, impotência, medo ou pânico, manifestando-se fisicamente através do aumento da frequência cardíaca e respiratória, suores e tremores. Existem diferentes tipos de ansiedade, como a doença obsessiva compulsiva (em que o doente sente a necessidade de repetir um determinado ato sem razão ou propósito aparentes), *stress* pós-traumático (em que o doente revive uma situação traumática, experienciando sintomas emocionais e físicos intensos), agorafobia, pânico, transtorno de ansiedade generalizada, social ou de separação. A excitabilidade neuronal cerebral é regulada pela transmissão sináptica do ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), quando este sistema é inibido, surgem os sintomas associados à ansiedade. O tratamento farmacológico da ansiedade inclui fármacos ansiolíticos, como as benzodiazepinas (por exemplo diazepam ou alprazolam) que, através da sua ligação ao recetor GABA<sub>A</sub> em locais distintos de onde se liga o GABA, aumentam a afinidade do GABA para o recetor e potenciam a sua ação <sup>7; 8; 9; 10; 11</sup>.

A depressão e ansiedade são duas patologias que surgem muitas vezes associadas, sendo que um doente com depressão tem tendência a desenvolver ansiedade, que pode ser mais ou menos pronunciada, e, da mesma forma, um doente com ansiedade num grau elevado pode evoluir para um estado depressivo. A presença das duas patologias em simultâneo intensifica os sintomas de ambas, sendo importante atuar no seu tratamento <sup>9</sup>.

Atualmente, a via de administração oral é a via preferencial para administração de fármacos no tratamento da depressão e ansiedade, no entanto esta via engloba diversas desvantagens que dificultam a chegada e ação do fármaco no local de ação. A eficácia destes tratamentos depende da presença do fármaco no local de ação por períodos contínuos e prolongados. Assim, os fármacos administrados por via oral ficam sujeitos ao efeito de primeira passagem hepático, requerem administrações regulares para garantir a presença constante de fármaco no local de ação, a quantidade de fármaco que chega ao local de ação encontra-se restringida pela ação da barreira hematoencefálica e do líquido cefalorraquidiano que atuam como barreira, e as variações da concentração de fármaco no plasma levam a efeitos adversos e perda de eficácia <sup>4</sup>.

A incidência da depressão e da ansiedade tem vindo a aumentar ao longo dos últimos anos e, conseqüentemente, um número crescente de estudos têm vindo a ser desenvolvidos com o objetivo de encontrar alternativas aos tratamentos atuais para estas patologias <sup>1; 12</sup>.



## **1.1 Vantagens da administração intranasal**

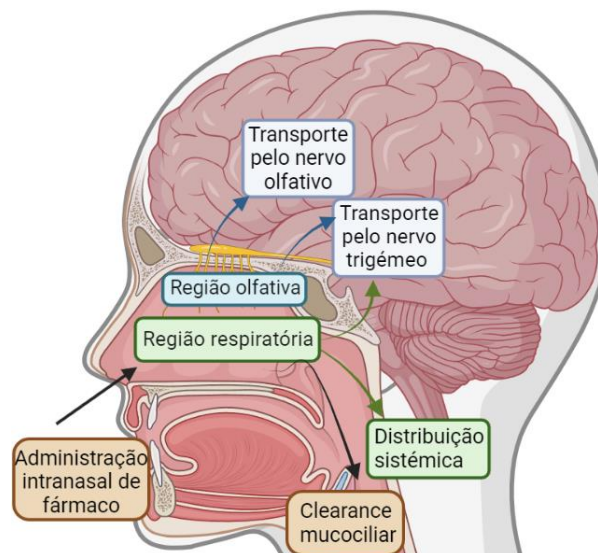
A via de administração intranasal apresenta-se como uma possível via de administração alternativa no tratamento de patologias do SNC, apresentando diversas vantagens relativamente a outras vias de administração utilizadas <sup>2</sup>. Permite ultrapassar a barreira hematoencefálica, possibilitando o transporte de moléculas de dimensões superiores (até cerca de 1000 Da), evitar o efeito de primeira passagem hepático, e minimizar os efeitos secundários provocados por fármacos administrados pela circulação sistémica. Permite ainda diminuir as doses necessárias para se atingir o efeito terapêutico e direcionar a molécula ativa para o local de ação, o que permite a obtenção de uma concentração efetiva, reduzindo a toxicidade. No geral, é uma via de administração simples, pois permite um contacto direto com o SNC, prática e conveniente por não necessitar de técnicas de administração que envolvam coordenação ou deglutição (como a via oral) ou auxílio de um profissional de saúde (como a via intravenosa), e é não invasiva, o que pode contribuir para aumentar a adesão à terapêutica por parte do doente <sup>13; 14; 15</sup>.

## **1.2 Limitações da administração intranasal**

Apesar das vantagens que a administração intranasal apresenta, é necessário considerar alguns fatores limitantes que dificultam a absorção de fármacos, nomeadamente a remoção física do fármaco da cavidade nasal por mecanismos de *clearance* mucociliar, a degradação enzimática na camada de muco e epitélio nasal, e o volume de formulação que pode ser administrado ser limitado a 25 – 200 µl, sendo esta via de administração mais adequada para fármacos potentes. A *clearance* mucociliar tem como função a proteção do sistema respiratório contra bactérias e partículas inaladas e resulta do efeito combinado do muco e dos cílios que transportam as partículas inaladas da região anterior para a região posterior da cavidade nasal, sendo eliminadas para o fundo da garganta. A biodisponibilidade dos fármacos é tanto menor quanto maior for o fluxo de secreções nasais e movimento ciliar, uma vez que estes diminuem o tempo de residência dos fármacos na cavidade nasal, afetando a permeabilidade através da mucosa. A atividade enzimática na cavidade nasal constitui uma barreira à absorção de fármacos, uma vez que várias enzimas, como por exemplo as várias isoformas do citocromo P450, se encontram presentes na mucosa nasal e procedem à degradação enzimática de vários fármacos. É ainda importante ter em consideração que determinadas condições patológicas, como rinite, constipações, entre outras, podem influenciar a absorção de fármaco alterando a *clearance* mucociliar e o tempo de residência dos fármacos na cavidade nasal <sup>14; 16; 17; 18; 19</sup>.

### **I.3 Anatomia da cavidade nasal**

Existe uma ligação direta entre a cavidade nasal e o SNC, que possibilita o transporte de diversas substâncias até ao cérebro, sendo também o único local do corpo humano em que o sistema nervoso está em contacto direto com o ambiente envolvente. Anatomicamente, a cavidade nasal encontra-se dividida em duas partes pelo septo nasal, e cada parte é constituída por três regiões distintas: o vestíbulo, a região olfativa e a região respiratória. O vestíbulo encontra-se localizado na abertura da cavidade nasal, sendo a região responsável pela filtração das partículas de ar inaladas e a que menos contribui para a absorção de fármacos. A região respiratória é constituída por conchas nasais, que são responsáveis pela humedificação e regulação da temperatura do ar inalado, contribuindo para a criação de um fluxo de ar que melhora o contacto entre o ar inalado e a mucosa nasal e as células do epitélio desta região encontram-se cobertas por microvilosidades e cílios longos, que contribuem para melhorar a absorção. É a principal responsável pela absorção sistémica de fármaco, possuindo uma área de superfície de cerca de 160 cm<sup>2</sup> e elevado grau de vascularização, o que proporciona um elevado fluxo sanguíneo. Da circulação sistémica, o fármaco pode ser transportado até ao cérebro, tendo, no entanto, de atravessar a barreira hematoencefálica por forma a atingir o SNC. Pode ainda contribuir para a absorção direta de fármacos para o SNC através do nervo trigémeo. A região olfativa ocupa uma área de superfície de aproximadamente 10 cm<sup>2</sup>, desempenhando um papel crucial na absorção e transporte de fármacos até ao cérebro. O epitélio olfativo é constituído por nervos olfativos, responsáveis pelo transporte direto do fármaco desde a cavidade nasal até ao SNC, recorrendo ao nervo olfativo e ao nervo trigémeo. Assim, o fármaco administrado na cavidade nasal pode atingir o local de ação no cérebro por via direta, pelo nervo olfativo ou trigémeo, ou por via indireta, pela circulação sistémica e atravessando a barreira hematoencefálica (Figura 1) <sup>14; 15; 16; 17; 19</sup>.



**Figura 1** - Vias de transporte de fármaco diretas (transporte neuronal - nervo olfativo e nervo trigêmeo) e indireta (distribuição sistêmica) após administração intranasal. Imagem produzida com software BioRender.

#### 1.4 Absorção nasal

A absorção nasal é influenciada por diversos fatores, nomeadamente fatores anatómicos e fisiológicos (*clearance* mucociliar, degradação enzimática, transporte pela membrana, irritação da mucosa e deposição), fatores físico-químicos (peso molecular, lipofilicidade, estado de ionização) e fatores de formulação (tipo e características da formulação, volume de administração, concentração de fármaco, viscosidade, pH, osmolaridade). Quando o fármaco é administrado pela via intranasal, entra em contacto direto com a mucosa nasal, sendo a passagem pelo muco o primeiro passo para a sua absorção. A mucina, proteína principal do muco, liga-se aos fármacos, dificultando a sua difusão. Adicionalmente, alterações de pH ou de temperatura podem alterar a estrutura da camada de muco, dificultando também a difusão. O muco possui propriedades elásticas e viscosas que influenciam o transporte de fármaco. Se o muco é mais viscoso, a *clearance* mucociliar é reduzida, e assim o tempo de contacto entre o fármaco e a mucosa é maior, podendo proporcionar uma maior absorção <sup>14; 17; 19</sup>.

##### 1.4.1 Fatores físico-químicos que influenciam a absorção de fármaco

Após passagem pelo muco, o transporte do fármaco através da mucosa nasal pode ser realizado por diferentes mecanismos que incluem: em maior extensão, a difusão transcelular, em que o transporte é realizado através da membrana, por difusão passiva ou transporte ativo; e a difusão paracelular, que se apresenta como um processo passivo, em que o fármaco se movimenta pelo espaço intercelular. A lipofilicidade de um fármaco é o fator mais importante

que determina se o transporte será realizado por difusão transcelular ou por difusão paracelular. Fármacos lipofílicos são transportados preferencialmente através da difusão transcelular, exibindo uma absorção rápida e eficiente quando administrados por via intranasal, enquanto que fármacos hidrofílicos estão sujeitos maioritariamente a transporte via difusão paracelular, sendo fracamente absorvidos. O estado de ionização e o peso molecular também influenciam a taxa de difusão dos fármacos através da mucosa nasal. Assim, fármacos com baixo peso molecular, lipofílicos e sem carga são mais facilmente absorvidos quando comparados com moléculas hidrofílicas, carregadas e/ou de elevado peso molecular. A absorção depende também do pKa do fármaco e do pH do local onde é absorvido, sendo que este último se encontra entre 5,0 – 6,5 na mucosa nasal. Depende ainda da solubilidade do fármaco, uma vez que as secreções nasais apresentam uma natureza mais aquosa, pelo que o fármaco deve apresentar uma solubilidade aquosa apropriada para uma maior dissolução <sup>14; 15; 19; 20</sup>.

#### **1.4.2 Fatores associados à formulação que influenciam a absorção de fármaco**

No processo de formulação para esta via de administração deve ter-se em consideração determinadas características que permitam não só otimizar o transporte do fármaco até ao local de ação, mas também reduzir a sua toxicidade local. Deve ser considerada a capacidade da formulação de aderir à mucosa, a permeabilidade nasal e a deposição de fármaco no epitélio olfativo, que devem ser elevadas, devendo ainda permitir uma libertação controlada e constante do fármaco <sup>14</sup>.

O pH da formulação deve ir de encontro ao pH da cavidade nasal de forma a evitar a irritação da mucosa. A lisozima encontrada nas secreções nasais contribui para a dissolução de determinadas bactérias e ajuda a manter o pH ácido. Assim, o pH da formulação deve ser selecionado tendo em atenção a estabilidade do fármaco, devendo ainda contribuir para a existência de maior fração de fármaco não ionizada, uma vez que é melhor absorvido, e deve ainda manter-se a funcionalidade dos excipientes <sup>14; 18; 21</sup>.

A osmolaridade das formulações deve encontrar-se entre 285 e 310 mOsmol/L para evitar a irritação da mucosa, uma vez que soluções isotónicas são melhor toleradas, no entanto, soluções hipertónicas podem ser utilizadas, uma vez que inibem a atividade ciliar podendo permitir aumentar o tempo de retenção do fármaco na cavidade nasal, promovendo a sua absorção. É necessária precaução na utilização de soluções hipertónicas para garantir que não se causa toxicidade na mucosa nasal <sup>14; 21</sup>.

A viscosidade deve garantir um tempo de contacto adequado entre a formulação e a mucosa nasal. Viscosidade mais elevada aumenta o tempo de contacto do fármaco com a mucosa, podendo contribuir para o aumento da permeabilidade, no entanto formulações demasiado viscosas podem diminuir a difusão do fármaco a partir da própria formulação, diminuindo a sua absorção. Pode ainda recorrer-se a formulações em gel para aumentar o tempo de residência do fármaco na cavidade nasal e, conseqüentemente, melhorar a absorção e biodisponibilidade do fármaco. Os agentes gelificantes mais utilizados incluem derivados da celulose (metilcelulose ou carboximetilcelulose) e carbopol <sup>14; 18; 21</sup>.

Os excipientes da formulação são seleccionados com base nas suas funções, com o objetivo de conferir propriedades à formulação que permitam proteger o fármaco e favorecer a sua administração e chegada ao local de ação, devendo ser compatíveis com a substância ativa e não tóxicos ou irritantes para a mucosa nasal <sup>14</sup>.

A concentração de fármaco e volume de administração são também fatores a ter em consideração uma vez que apenas é possível administrar cerca de 200 µL de formulação pela cavidade nasal, pelo que esta via se encontra limitada a fármacos potentes, sendo difícil administrar fármacos que requeiram doses elevadas ou que possuam solubilidade reduzida <sup>14; 18; 22</sup>.

### **1.4.3 Estratégias utilizadas para melhorar a absorção de fármacos**

De forma a melhorar a absorção dos fármacos, existem já estratégias utilizadas que contornam algumas limitações e potenciam a absorção, como a utilização de pró-fármacos, promotores de absorção, inibidores enzimáticos, agentes mucoadesivos e a utilização de sistemas nanométricos de transporte de fármacos (lipossomas, nanoemulsões e nanopartículas) <sup>23</sup>.

Alterações estruturais na molécula de fármaco permitem alterar propriedades físico-químicas como o peso molecular, o coeficiente de partição e a solubilidade, por forma a melhorar a absorção de fármacos pela administração na cavidade nasal <sup>14; 24</sup>. Um exemplo são os pró-fármacos, que são administrados na sua forma inativa e necessitam de biotransformação pelo metabolismo, transformando-se na forma ativa com efeito farmacológico. Podem ser utilizados para melhorar a fraca solubilidade aquosa, instabilidade da molécula precursora, absorção incompleta através de barreiras biológicas ou metabolismo prematuro dos fármacos, limitando a quantidade de fármaco que atinge o local de ação <sup>25</sup>.

Promotores da absorção podem ser utilizados para melhorar a fraca permeabilidade dos fármacos hidrofílicos. Atuam através da modificação da bicamada fosfolipídica e da fluidez da membrana, ou através da abertura transitória das *tight junctions* entre as células epiteliais, melhorando o transporte paracelular. Os mais utilizados são surfactantes (ex: polisorbatos, polaxâmeros), sais biliares (ex: colato de sódio), ácidos gordos (ex: ácido esteárico, ácido palmítico), agentes quelantes (ex: ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), salicilatos) e polímeros (ex: quitosano, poli(D,L-lactídeo co- glicolídeo) (PLGA))<sup>14; 20</sup>.

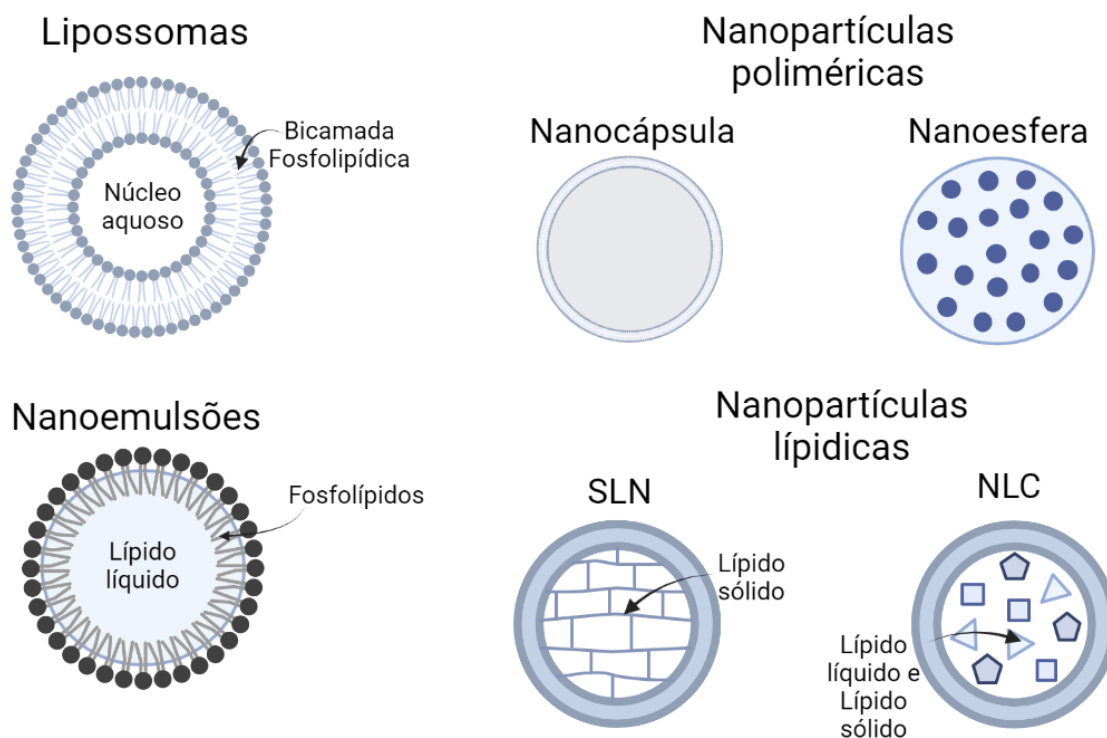
Inibidores enzimáticos podem também ser utilizados para proteger os fármacos contra a degradação enzimática que ocorre na cavidade nasal, aumentando desta forma a fração disponível para ser absorvida e, conseqüentemente, estar biodisponível. Podem ser utilizados inibidores de peptidases e protéases, como por exemplo, a amastatina, a boroleucina, a bacitracina e a puromicina<sup>20; 25</sup>.

Agentes mucoadesivos aumentam o tempo de contacto entre a formulação e a mucosa nasal, favorecendo também o transporte paracelular de fármacos hidrofílicos, reduzindo a *clearance* mucociliar. Atuam estabelecendo uma ligação entre a mucina e um polímero. Um dos mecanismos possíveis adotados pelo sistema mucoadesivo consiste na absorção de água da mucosa nasal, o que leva ao intumescimento do polímero, possibilitando a sua penetração no muco e a fixação da formulação à cavidade nasal, melhorando a absorção do fármaco presente na formulação. Um exemplo é o quitosano, um polímero biocompatível e biodegradável, sendo bastante utilizado não só pelas suas propriedades mucoadesivas, mas também por permitir aumentar a permeabilidade e o transporte paracelular através da interação com as *tight junctions*<sup>4; 13; 14; 23</sup>.

Por fim, uma outra estratégia cada vez mais utilizada para melhorar a absorção de fármacos, principalmente na literatura científica, é a incorporação dos mesmos em sistemas de transporte nanométricos, sendo estes abordados detalhadamente na próxima secção 1.5.

## **1.5 Sistemas nanométricos de transporte de fármacos**

Os sistemas nanométricos de transporte de fármacos são formulações que permitem transportar o fármaco até ao local de ação, permitindo modular o tempo e a quantidade de fármaco libertado. Estes sistemas devem ser biocompatíveis, não tóxicos, e facilmente eliminados ou biodegradáveis. As principais categorias de sistemas nanométricos são os lipossomas, as nanoemulsões, e as nanopartículas (Figura 2)<sup>12</sup>.



**Figura 2** - Tipos principais de sistemas nanométricos: lipossomas, nanoemulsões, nanopartículas poliméricas (nanocápsulas e nanoesferas) e nanopartículas lipídicas (nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) e transportadores lipídicos nanoestruturados (NLC)). Imagem produzida com *software* BioRender.

### 1.5.1 Lipossomas

Os lipossomas são vesículas compostas por uma ou mais bicamadas fosfolipídicas que rodeiam uma solução aquosa no seu interior, o que permite a incorporação de fármacos hidrofílicos (no núcleo) ou hidrofóbicos (nas bicamadas fosfolipídicas), para posterior transporte para o local de ação. São bastante variáveis em tamanho, podendo ter entre 20 nm e 1000 nm. Algumas das desvantagens incluem a instabilidade do sistema, liberação indesejada da substância encapsulada, irreprodutibilidade entre lotes, dificuldade em controlar o tamanho do lipossoma e baixa eficiência de encapsulação<sup>26; 27</sup>.

### 1.5.2 Nanoemulsões

Nanoemulsões são um sistema termodinamicamente estável, constituídas por dois líquidos imiscíveis (óleo e água) que, quando misturados, formam uma única fase através da ação de um agente emulsificante, como por exemplo surfactantes. Apresentam uma camada de lípidos que envolvem um núcleo lipídico líquido constituído pelas caudas hidrofóbicas. Possuem tamanho inferior a 500 nm e podem ser nanoemulsões óleo-em-água ou água-em-óleo. São ainda biodegradáveis e permitem um *uptake* de fármaco rápido até ao cérebro. As desvantagens apresentadas incluem a sua incapacidade para solubilizar substâncias que possuam elevado ponto de fusão; os componentes utilizados devem ser rigorosamente não

tóxicos; podem requerer grandes quantidades de surfactante para estabilizar o sistema, o que pode comprometer a sua utilização segura e o preço de produção é elevado <sup>12; 28; 29</sup>.

### **1.5.3 Nanopartículas**

As nanopartículas são substâncias sólidas com tamanho que pode variar entre 10 e 1000 nm e permitem dissolver, encapsular, absorver ou anexar o fármaco hidrofílico ou lipofílico, dependendo das características da nanopartícula em que se insere, evitando a degradação química ou por enzimas presentes na cavidade nasal do fármaco e aumentando consequentemente a sua concentração no local de ação. O seu tamanho de partícula reduzido e a elevada área de superfície que daí resulta permitem ultrapassar barreiras biológicas e fisiológicas, aumentando a biodisponibilidade do fármaco e direcionando a sua libertação no local de ação. Dependendo do tamanho de partícula, a administração intranasal de nanopartículas pode permitir o transporte do fármaco por diferentes vias, sendo que entre 10 – 300 nm as nanopartículas são transportadas pelo nervo olfativo até ao cérebro. Existem duas grandes categorias de nanopartículas: poliméricas e lipídicas <sup>12; 19; 23</sup>.

#### **1.5.3.1 Nanopartículas poliméricas**

As nanopartículas poliméricas podem ser divididas em dois grandes grupos dependendo do método de preparação utilizado. Assim, é possível obter: nanocápsulas, em que existe um sistema de reservatório, ou seja, o fármaco fica confinado a uma cavidade, rodeada por uma única membrana de polímero que se encontra à superfície da nanopartícula, revestindo-a; ou nanoesferas, que são um sistema homogêneo matricial, em que o fármaco se encontra uniformemente disperso ou dissolvido pela nanopartícula. Através da modulação do polímero é possível controlar a libertação do fármaco para atingir as concentrações terapêuticas desejadas no local de ação pelo período de tempo necessário <sup>12; 19</sup>.

#### **1.5.3.2 Nanopartículas lipídicas**

Nanopartículas lipídicas subdividem-se em nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) e transportadores lipídicos nanoestruturados (NLC). As SLN são constituídas por uma matriz lipídica sólida, ou seja, lípidos que permanecem sólidos à temperatura ambiente e à temperatura corporal. O fármaco, de natureza lipofílica, encontra-se dissolvido ou disperso nessa matriz, que é rodeada por uma camada de surfactante numa dispersão aquosa e que contribui para a estabilidade da nanopartícula. Relativamente às nanopartículas poliméricas, são consideradas mais biocompatíveis e biodegradáveis, possuem baixa toxicidade, são fáceis de produzir em grande escala, possuem maior estabilidade física e bom controlo da libertação



de fármaco. As SLN apresentam, no entanto, algumas desvantagens, nomeadamente a reorganização estrutural que sofrem ao longo do tempo por possuírem apenas um lípido (como a recristalização), que cria uma estrutura interna mais apertada e com menos espaço para incorporar as moléculas de fármaco. Por forma a contornar esse problema, surgiram as NLC, que possuem uma matriz formada por um lípido sólido e por um lípido líquido. A adição do lípido líquido previne a cristalização e possibilita uma desorganização estrutural na matriz lipídica, criando espaços maiores para incorporar as moléculas de fármaco. Apesar das vantagens das NLC apresentadas, as SLN continuam a ser um sistema eficaz. Uma vez que a mucosa possui uma natureza lipídica, as nanopartículas lipídicas podem ser transportadas por difusão passiva até ao local de ação<sup>12; 20; 26</sup>.

Assim sendo, os sistemas nanométricos, em particular as nanopartículas, apresentam vantagens para a administração de fármacos na cavidade nasal, uma vez que permitem proteger a substância ativa da *clearance* mucociliar e da degradação enzimática na cavidade nasal, melhorando a sua absorção e permitem modular o tempo e a quantidade de fármaco disponível no local de ação, favorecendo o transporte através das membranas biológicas<sup>10; 17</sup>.

## **2. Objetivo do trabalho**

Sendo que a incidência das doenças mentais, em particular da depressão e ansiedade, tem vindo a aumentar, uma necessidade crescente para um tratamento seguro, rápido e eficaz tem sido identificada. Analisando as vantagens da administração intranasal em conjunto com as vantagens da administração de nanopartículas, conclui-se que o desenvolvimento de novas formulações com recurso a nanopartículas para administração intranasal possui um grande potencial como alternativa a tratamentos já existentes.

Este trabalho aborda de forma sumária estudos já desenvolvidos com o objetivo de formular nanopartículas para a administração intranasal de fármacos para o tratamento destas patologias.

## **3. Métodos**

A 10/08/2022, uma pesquisa na base de dados Pubmed, com as palavras-chave “nanoparticle AND (depression OR anxiety) AND (intranasal OR nasal)” revelou 28 resultados. Aplicando critérios de exclusão, desses 28 resultados 9 foram rejeitados por não se relacionarem com o tema pretendido, 1 foi rejeitado por inacessibilidade linguística, 5 por serem artigos de revisão e 1 por não apresentar estudos *in vivo*. Desta forma, foram incluídos

12 artigos de investigação fundamental, tendo sido feita a sua análise crítica e detalhada. Para cada estudo analisado, os seguintes parâmetros foram tidos em consideração: fármaco utilizado, subtipos de nanopartículas e composição, dosagem de fármaco, tamanho de partícula, índice de polidispersão (PDI), potencial zeta, pH, ensaios *in vitro* de libertação de fármaco, ensaios *ex vivo* de permeabilidade de fármaco, e estudos *in vivo* farmacocinéticos e farmacodinâmicos.

#### **4. Resultados e discussão**

A análise dos artigos revelou que vários fármacos têm vindo a ser estudados para averiguar a eficácia da administração intranasal dos mesmos para o tratamento da depressão e ansiedade. Abaixo descreve-se, de forma sumária, os resultados dos artigos analisados. Para tal, relativamente à depressão, os fármacos icariin, albiflorin, fluoxetina, agomelatina, desvenlafaxina, venlafaxina, selegilina e tramadol e, relativamente à ansiedade, buspirona e riluzol, apresentaram estudos desenvolvidos nesta temática e serão apresentados.

##### **4.1 Fármacos utilizados para o tratamento da depressão**

###### **4.1.1 Icariin**

Icariin é um componente das partes aéreas da planta *Epimedium brevicornum Maxim* (*Berberidaceae*) que possui efeitos antidepressivos-*like*. Após administração oral as concentrações plasmáticas atingidas são muito baixas, sendo fracamente absorvido por esta via, e limitando a sua utilização no tratamento da depressão. O estudo realizado por Xu *et al.*<sup>30</sup> teve por objetivo desenvolver um nanogel termossensível que permita a encapsulação de icariin para administração intranasal, por forma a aumentar a concentração de fármaco que atinge o local de ação no cérebro e evidenciando a sua atividade antidepressiva-*like*.

O nanogel termossensível foi obtido através da utilização de alginato, um polissacarídeo iónico com características hidrofílicas que permitem aumentar a fraca solubilidade de icariin em água; e de catiões divalentes, que quando em contacto com o alginato permitem a formação de hidrogéis reversíveis. Ao hidrogel formado adicionou-se poloxâmero 407 e poloxâmero 188 pelas suas características termossensíveis e biocompatíveis com a mucosa, com o objetivo de melhorar a biodisponibilidade de icariin e estabilizar o nanossistema obtido. Ou seja, foram formuladas nanopartículas poliméricas de alginato que por sua vez foram colocadas numa matriz de poloxâmeros. O tamanho de partícula do nanogel com fármaco (73,80 nm) revelou-se inferior ao do veículo sem fármaco (87,28 nm), o que poderá ter-se devido ao facto de o icariin ser encapsulado no nanogel através de ligações de hidrogénio, estando presentes forças

intermoleculares superiores que levam à diminuição do tamanho de partícula. Os valores de PDI e potencial zeta da formulação otimizada foram de 0,15 e -19,2 mV, respectivamente. Assim, o nanogel formulado apresentou-se estável e com tamanho de partícula homogêneo. Devido à presença do alginato, um polímero mucoadesivo, esta formulação semissólida tem a capacidade de aderir à mucosa nasal, possibilitando uma liberação prolongada de fármaco e permitindo que este atinja o local de ação no cérebro.

Estudos *in vitro* de liberação de fármaco a partir do nanogel mostraram que este apresentou uma liberação controlada, tendo todo o fármaco sido libertado ao fim de 36 horas.

A atividade antidepressiva-like do nanogel formulado foi estudada através da realização de estudos farmacodinâmicos, nomeadamente ensaios *in vivo* em murganhos, como o *forced swim test* e o *tail suspension test*. Os resultados obtidos demonstraram que o nanogel formulado permitiu reduzir o tempo de imobilidade dos murganhos após apenas uma administração intranasal, quando comparado com administração durante sete dias consecutivos, tempo necessário na administração oral de uma solução de fármaco, comprovando assim o efeito antidepressivo mais rápido do nanogel administrado pela via intranasal. Foram ainda realizados estudos *in vivo* em ratos, utilizando o modelo CUMS (*Chronic Unpredictable Mild Stress*, que quando aplicado conduz à redução do peso corporal e da preferência pela sacarose dos ratos), sendo que o tratamento com o nanogel formulado administrado por via intranasal permitiu reverter esses efeitos, aumentando o peso corporal e restabelecendo o consumo de sacarose.

O estudo realizado por Xu *et al.*<sup>30</sup> permitiu concluir que o nanogel termosensível formulado, administrado pela via intranasal, apresenta potencial como possível alternativa para a administração de icariin para o tratamento da depressão.

#### **4.1.2 Albiflorin**

Albiflorin é o principal componente da raiz de *Radix Paeoniae Alba* (*Ranunculaceae*), sendo utilizado na medicina chinesa pelas suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e neuroprotetoras, possuindo ainda efeito antidepressivo-like. Quando administrado pela via oral possui biodisponibilidade reduzida, não atingindo concentrações no cérebro efetivas para evidenciar o seu efeito antidepressivo-like. Um estudo realizado por Xu *et al.*<sup>31</sup> teve por objetivo desenvolver um nanogel termosensível que permita a encapsulação de albiflorin para administração intranasal, de forma a atingir uma concentração efetiva no local de ação e evidenciar a sua atividade antidepressiva-like.

No desenvolvimento da formulação recorreu-se, tal como para o nanogel de icariin<sup>30</sup>, à interação do alginato com catiões divalentes, neste caso provenientes do cloreto de zinco, para a formulação do nanogel e posterior adição de poloxâmero 407 e poloxâmero 188 com o objetivo de estabilizar o sistema e permitir uma libertação controlada de fármaco. Desenvolveram-se, assim, nanopartículas de alginato dispersas num gel termossensível composto por uma mistura de poloxâmeros. O tamanho de partícula do nanogel foi reduzido (45,6 nm), assim como o PDI (0,20). O potencial zeta obtido foi negativo (-19,8 mV) devido à presença de alginato, um polianião, na composição da nanopartícula.

A libertação *in vitro* de fármaco a partir do nanogel termossensível mostrou ser prolongada e controlada durante cerca de 12 horas, e a formulação conseguiu prolongar o tempo de retenção do fármaco no cérebro (verificado em ensaios *in vivo* de farmacocinética em ratos), tendo o fármaco sido quantificado no cérebro rapidamente e tendo mantido concentrações prolongadas no tempo, o que indicou um transporte rápido e um potencial efeito terapêutico prolongado.

Estudos farmacodinâmicos *in vivo* foram realizados em murganhos e ratos, com o objetivo de avaliar a atividade antidepressiva do fármaco. O *tail suspension test* demonstrou que o nanogel termossensível intranasal permitiu diminuir significativamente o tempo de imobilidade dos murganhos quando comparado com a administração intragástrica ou intravenosa de uma solução de fluoxetina (fármaco antidepressivo de eficácia conhecida) ou de albiflorin. O modelo CUMS foi aplicado em ratos, tendo provocado uma diminuição no peso corporal dos ratos bem como uma diminuição no consumo de sacarose, mas estes efeitos foram revertidos pela administração intranasal do nanogel termossensível.

Concluindo, o nanogel termossensível formulado conseguiu encapsular a albiflorin e, administrado por via intranasal, proporcionar uma libertação prolongada e controlada de fármaco que possibilitou evidenciar o seu efeito antidepressivo-*like*, apresentando potencial como alternativa para o tratamento da depressão.

#### **4.1.3 Fluoxetina**

A fluoxetina é um inibidor seletivo da recaptção neuronal de serotonina. Apresenta grande potencial de interações medicamentosas quando administrado por via oral, uma vez que é inibidor da CYP2D6, sendo ainda substrato e inibidor do transportador de efluxo glicoproteína-P. O estudo realizado por Vitorino *et al.*<sup>2</sup> teve por objetivo desenvolver uma formulação com base numa nanopartícula lipídica, para administração intranasal de cloridrato

de fluoxetina, de forma a encontrar as condições ótimas para combinar um rápido início de ação com um efeito terapêutico prolongado.

Inicialmente realizou-se o *screening* dos componentes tendo em consideração a solubilidade relativa da fluoxetina. Como lípido sólido foi utilizado o palmitoestearato de glicerol (Precirol™ ATO 5), um glicérido biocompatível. O lípido líquido selecionado foi o monolaurato de propilenoglicol (tipo II) (Lauroglycol™ 90). Como surfactante foi utilizado polisorbato 80 (Tween® 80) devido à sua boa capacidade emulsionante, biocompatibilidade e capacidade de estabilizar o nanossistema. Foi feita a otimização da relação lípido líquido: lípido sólido e da quantidade de surfactante, e as principais conclusões retiradas foram: que formulações com maior concentração de surfactante demonstraram diminuir a permeabilidade e a extensão de libertação de fármaco; um aumento na quantidade de lípido líquido resultou num aumento da libertação e numa diminuição da permeabilidade; o aumento da concentração de lípido líquido e de surfactante possibilitou partículas menores e de tamanho mais homogêneo entre si; e que a formulação com maior concentração de lípido sólido e menor quantidade de surfactante conseguiu a melhor permeabilidade. Assim, a formulação otimizada resultou daquela contendo porções similares de lípidos sólidos e lípidos líquidos e concentração de surfactante baixa, apresentando tamanho de partícula de 154 nm, PDI de 0,514 e potencial zeta de 19,7 mV. Foi ainda determinada a eficiência de encapsulação (EE%) (quantidade de fármaco que é possível incorporar na matriz lipídica) e o *drug loading* (percentagem de fármaco encapsulado a dividir pela massa total da matriz lipídica), sendo 74% e 12,9% respetivamente.

Estudos *in vivo* de farmacodinâmica foram realizados em murganços, nomeadamente o *forced swim test*, aplicado uma hora após a administração das formulações, e permitiu averiguar que, ao administrar as nanopartículas formuladas por via intranasal ou uma solução de fluoxetina por via oral, ambas as formulações permitiram aumentar o tempo de mobilidade quando comparadas com o grupo de animais não tratado. No entanto, foi ainda observado que o tempo de imobilidade foi mais curto aquando da administração oral de fluoxetina. Estes resultados podem estar relacionados com o tempo decorrido entre a administração do fármaco e a realização do teste, uma vez que, de uma maneira geral, os fármacos administrados pela via intranasal podem demorar cerca de 15 minutos a atingir o cérebro. Assim, os resultados obtidos neste estudo em específico podem não permitir avaliar o benefício da administração intranasal comparativamente à administração oral. É ainda expectável que as concentrações de fármaco no cérebro sejam reduzidas.

Com base nos resultados obtidos, é possível concluir que a formulação das nanopartículas lipídicas administrada por via intranasal apresenta potencial como alternativa à administração oral, quando esta não seja acessível, uma vez que não foi demonstrada superioridade comparativa.

#### **4.1.4 Agomelatina**

Agomelatina é um analgésico sintético, derivado da melatonina, que é utilizado no tratamento da depressão. É um agonista dos recetores da melanina MT1 e MT2 e antagonista dos recetores de serotonina 5-HT<sub>2C</sub>. Este fármaco é sujeito a um grande metabolismo de primeira passagem hepático quando administrado por via oral, possuindo uma biodisponibilidade extremamente reduzida. O estudo realizado por Jani *et al.*<sup>32</sup> teve por objetivo analisar a eficácia da administração intranasal de uma formulação de nanopartículas poliméricas de agomelatina para o tratamento da depressão.

As nanopartículas poliméricas formuladas foram obtidas com recurso ao polímero PLGA, pela sua baixa toxicidade, onde o fármaco foi encapsulado, e ao polaxâmero 407 como surfactante, tendo como função estabilizar as nanopartículas obtidas. A otimização da formulação teve em atenção a relação fármaco: polímero e a concentração de surfactante, uma vez que afetam o tamanho de partícula e a EE%. Um estudo estatístico permitiu verificar que, aumentando a quantidade de polímero, EE% também aumenta, no entanto após determinada quantidade de polímero, EE% começa a diminuir. O mesmo foi verificado para a relação entre a concentração de surfactante e EE%. Relativamente ao tamanho de partícula, concluiu-se que este aumenta quando há um aumento da quantidade de polímero e diminui com o aumento da quantidade de surfactante. Assim, a formulação otimizada teve como alvo o maior valor de EE% (98,3%) e o menor de tamanho de partícula (116,06 nm). O potencial zeta da formulação otimizada foi de -22,7 mV e o PDI foi inferior a 0,3, indicando que o sistema formulado se apresentou estável e a distribuição do tamanho de partícula foi homogénea. O *drug loading* foi também calculado, tendo sido obtido o valor de 49,15%.

Estudos de libertação *in vitro* de fármaco das nanopartículas de PLGA mostraram que esta foi prolongada, durando um período de tempo superior ao do fármaco livre, indicando a vantagem da utilização da nanopartícula. Os ensaios *ex vivo* foram realizados utilizando mucosa nasal de cabra e os resultados permitiram concluir que a permeabilidade da formulação foi superior à permeabilidade de uma suspensão de fármaco livre.

O ensaio de farmacodinâmica *forced swim test* foi realizado em ratos e permitiu averiguar que, apesar das duas formulações analisadas (nanopartículas de PLGA e fármaco

simples em suspensão) conseguirem reduzir o tempo de imobilidade, as nanopartículas de PLGA demonstraram a redução mais significativa quando comparados com um grupo de animais não tratados.

Assim, os resultados dos estudos de liberação *in vitro*, de permeabilidade *ex vivo* e do *forced swim test (in vivo)* permitem concluir que as nanopartículas formuladas apresentam potencial para o tratamento da depressão quando administradas pela via intranasal.

#### 4.1.5 Desvenlafaxina

A desvenlafaxina é um metabolito ativo da venlafaxina, inibidor da recaptação neuronal de serotonina e de noradrenalina de segunda geração, prevenindo o *reuptake* da serotonina e noradrenalina e aumentando assim a sua concentração nos terminais nervosos. Possui biodisponibilidade oral de cerca de 80% e um tempo de semi-vida no plasma de cerca de 11h, no entanto está associada a um conjunto de efeitos adversos como aumento da pressão arterial, náuseas, dores de cabeça, entre outros. Um estudo realizado por Tong *et al.*<sup>4</sup> teve como objetivo desenvolver nanopartículas poliméricas biodegradáveis e biocompatíveis compostas por PLGA e quitosano para a administração intranasal de desvenlafaxina para o tratamento da depressão.

As nanopartículas poliméricas formuladas foram compostas pelo polímero PLGA, onde o fármaco se encontra encapsulado; quitosano, utilizado devido às suas propriedades mucoadesivas; e álcool polivinílico (PVA), que em conjunto com o quitosano tem a capacidade de estabilizar a formulação. Os valores de tamanho de partícula, PDI, potencial zeta, EE% e *drug loading* foram, respetivamente, 172,5 nm, 0,254, +35,63 mV, 98,3% e 49,15%.

Estudos de liberação *in vitro* de fármaco indicaram que inicialmente se verificou uma liberação rápida de fármaco a partir das nanopartículas, sendo seguida de uma liberação prolongada por 24 horas. Este perfil de liberação deve-se primeiramente à liberação de fármaco ligado à superfície da nanopartícula, e posteriormente à liberação de fármaco do núcleo da nanopartícula, por hidratação e intumescimento da matriz da mesma. Foi considerado um pH de 7,4 para as nanopartículas otimizadas, não se encontrando dentro do intervalo de valores do pH da mucosa nasal, no entanto, de acordo com os resultados dos estudos de liberação não houve diferenças na liberação a pH 7,4 (pH fisiológico) ou a pH 6,0 (pH dentro do intervalo de valores da mucosa nasal).

Estudos *in vivo* de farmacocinética em ratos, com administração das nanopartículas formuladas por via intranasal e por via intravenosa, e administração intranasal de uma solução

de desvenlafaxina, mostraram que a concentração, o tempo de semi-vida ( $t_{1/2}$ ) e a área sob a curva (AUC) da desvenlafaxina no cérebro foram superiores quando a administração foi intranasal, independentemente da formulação utilizada, comparativamente com a administração intravenosa de nanopartículas. Das duas formulações administradas pela via intranasal, foi possível concluir que a concentração,  $t_{1/2}$  e AUC cerebrais da desvenlafaxina formulada nas nanopartículas foram superiores à desvenlafaxina formulada em solução. Estes resultados suportam assim a administração intranasal para aumento dos parâmetros farmacocinéticos no cérebro, bem como a utilização de nanopartículas para incorporação do fármaco. Os valores de *drug targeting efficiency* (DTE%) e de *drug transport percentage* (DTP%) foram calculados, tendo sido superiores para as nanopartículas formuladas administradas por via intranasal (544,23% e 81,62%, respetivamente), o que indica que estas possuem melhor eficiência no direcionamento cerebral quando comparado com as outras duas formulações.

Estudos farmacodinâmicos *in vivo*, nomeadamente o *reserpin reversal test* e o *forced swim test* foram realizados utilizando as nanopartículas otimizadas administradas por via intranasal (formulação A), uma solução de desvenlafaxina administrada por via oral (formulação B) e uma solução de desvenlafaxina administrada por via intranasal (formulação C) e os resultados foram comparados com um grupo controlo (administração de uma solução salina sem efeito terapêutico). Verificou-se que apenas a formulação C e a formulação A tiveram um efeito significativo na capacidade de reduzir a imobilidade induzida pela reserpina. O *forced swim test* permitiu concluir que a formulação A reduziu significativamente a imobilidade, aumentando o tempo de natação, escalada e locomoção. A formulação B apenas mostrou efeito na diminuição do tempo de imobilidade. A formulação C apenas melhorou o tempo de natação e diminuiu o tempo de imobilidade.

Foram ainda estudadas as alterações de monoamina no cérebro e a sua relação com a atividade antidepressiva em diferentes grupos de roedores sujeitos ao *forced swim test*. Os resultados mostraram que a formulação A melhorou significativamente os níveis de serotonina e noradrenalina no cérebro, apoiando a teoria de que os níveis desses dois neurotransmissores diminuem em situações de *stress*, nomeadamente na depressão.

Concluindo, as nanopartículas formuladas, administradas por via intranasal, permitem melhorar o perfil farmacocinético e farmacodinâmico de desvenlafaxina, facilitando a chegada do fármaco ao local de ação no cérebro.



#### 4.1.6 Venlafaxina

A venlafaxina é um inibidor da recaptação neuronal de serotonina e de noradrenalina, sendo um dos fármacos de primeira linha no tratamento da depressão. A administração oral deste fármaco está associada a diversos efeitos adversos como dores de cabeça, tonturas entre outros, possuindo fraca biodisponibilidade e tempo de semi-vida curto, sendo necessárias administrações frequentes para produzir o efeito desejado <sup>33; 34; 35</sup>.

O primeiro estudo, realizado por Haque *et al.* <sup>33</sup>, teve como objetivo averiguar o potencial de nanopartículas de quitosano para melhorar o transporte de venlafaxina até ao local de ação no cérebro recorrendo à administração intranasal. As nanopartículas poliméricas formuladas foram constituídas por quitosano, polímero utilizado pelas suas características já abordadas, e por tripolifosfato de sódio (TPP), um polianião. A formulação otimizada considerou uma relação fármaco: polímero de 1:1, e teve em atenção a relação entre as concentrações de quitosano e de TPP, uma vez que esta relação afeta a capacidade de formulação das nanopartículas. As nanopartículas obtidas apresentaram tamanho de partícula de 167 nm, potencial zeta de +23,83 mV, PDI de 0,367 e pH 5,12, concluindo assim que o sistema formulado se apresentou estável, com tamanho de partícula e pH adequados à administração intranasal e relativamente homogêneo. Apresentou ainda uma EE% de 79,3% e *drug loading* de 32,25%.

Estudos *in vitro* de libertação de fármaco permitiram concluir que as nanopartículas formuladas apresentaram um perfil de libertação bifásico, em que nas primeiras 2h houve uma libertação rápida, seguida de uma libertação prolongada ao longo de 24h. A permeabilidade foi analisada em estudos *ex vivo*, utilizando mucosa nasal de porco, sendo que a utilização das nanopartículas de quitosano permitiu aumentar a permeabilidade da venlafaxina três vezes quando comparado com a administração de venlafaxina em solução.

Estudos farmacodinâmicos *in vivo* em ratos (*forced swim test*) permitiram concluir que a administração intranasal das nanopartículas de quitosano, quando comparadas com o grupo controlo (solução salina), permitiram aumentar o tempo de natação, reduzir o tempo de imobilidade e aumentar a atividade locomotora, tendo ainda conseguido manter uma concentração prolongada de venlafaxina no local de ação. Parâmetros farmacocinéticos, como a concentração máxima de venlafaxina no cérebro e AUC após administração de uma solução de venlafaxina por via intravenosa, uma solução de venlafaxina por via intranasal ou as nanopartículas formuladas por via intranasal, foram também avaliados *in vivo* em ratos tendo demonstrado melhores resultados para as nanopartículas formuladas, e para a via intranasal de

uma maneira geral. Estes resultados foram alcançados devido à ação do quitosano no transporte paracelular e na abertura transitória das *tight junctions*, contribuindo ainda para a redução da *clearance* mucociliar. DTP% e DTE% foram também calculados, apresentando valores superiores aquando da administração das nanopartículas formuladas (80,34% e 508,59%, respetivamente), apoiando que estas permitem uma maior eficiência no direcionamento cerebral do fármaco.

Desta forma, as nanopartículas formuladas, administradas por via intranasal, foram bem-sucedidas no aumento da permeabilidade, absorção e transporte do fármaco desde a cavidade nasal até ao cérebro, demonstrando assim potencial como alternativa à administração oral da venlafaxina.

Outro estudo, realizado por Haque *et al.*<sup>34</sup> teve por objetivo analisar o potencial da administração intranasal de nanopartículas de alginato e quitosano com venlafaxina encapsulada no tratamento da depressão. Para a obtenção da formulação utilizou-se alginato e carbonato de cálcio, uma vez que o cálcio vai permitir reticular o alginato e obter nanonúcleos pré-gelificados com o fármaco encapsulado. Posteriormente adicionou-se quitosano, de carga positiva, que interage com a carga negativa do alginato, originando as nanopartículas de gel. A otimização da formulação teve em consideração as concentrações de alginato, carbonato de cálcio e quitosano, tendo sido utilizada uma relação fármaco: polímero de 0,75:1, com pH entre 5,7 e 6,1. O pH foi um parâmetro cuidadosamente otimizado, uma vez que a adição de alginato a pH mais elevado resulta na precipitação de quitosano, ficando este menos disponível para a formação de nanopartículas, e a adição de uma solução de alginato a pH neutro resulta na não protonação dos grupos amina do quitosano, impedindo a sua interação iónica com o alginato. O tamanho de partícula (173,7 nm), o potencial zeta (+37,4 mV) e o PDI (0,391) permitiram confirmar a homogeneidade e tamanho reduzido do nanossistema. *Drug loading* (26,74%) e EE% (85,6%) foram também determinados.

Estudos de libertação de fármaco *in vitro* determinaram que as nanopartículas formuladas possuem um perfil de libertação bifásico, havendo uma libertação inicial rápida seguida de uma libertação prolongada. Estudos *ex vivo*, realizados em mucosa nasal de porco, demonstraram que as nanopartículas formuladas permitiram melhorar a permeabilidade e absorção de venlafaxina através das barreiras epiteliais.

Estudos *in vivo* farmacodinâmicos, realizados em ratos, nomeadamente o *forced swim test*, demonstraram que, quando comparadas com o grupo controlo (administração de solução salina), as nanopartículas formuladas administradas pela via intranasal permitiram aumentar o

tempo de natação, escalada, atividade locomotora e reduzir a imobilidade. Relativamente a parâmetros farmacocinéticos, a concentração de venlafaxina e AUC cerebrais foram significativamente mais elevadas aquando da administração intranasal das nanopartículas, comparando com a administração intravenosa e com a administração intranasal de uma solução de venlafaxina. DTE% (425,77%) e DTP% (76,52%) permitiram concluir que a administração intranasal das nanopartículas formuladas possibilitaram um melhor direcionamento cerebral do fármaco quando comparado com a administração intranasal de uma solução de venlafaxina.

O estudo revelou então que as nanopartículas formuladas, administradas pela via intranasal, permitem a manutenção constante dos valores de venlafaxina no cérebro e uma melhoria no transporte paracelular através da modulação das *tight junctions* entre as células, apresentando potencial como alternativa à administração oral de venlafaxina.

Um terceiro estudo, realizado por Cayero-Otero *et al.*<sup>35</sup>, teve por objetivo encontrar um sistema que possibilitasse a libertação controlada de venlafaxina, mantendo os níveis terapêuticos por um período de tempo prolongado. Foram desenvolvidas nanopartículas poliméricas de PLGA simples, com venlafaxina encapsulada, e nanopartículas de PLGA considerando dois ligantes distintos, o recetor da transferrina (Tf) e péptido específico contra Tf (TfRp), todas para administração intranasal. A utilização de ligandos permite modificar a superfície das nanopartículas, melhorar a absorção e aumentar a permeabilidade através de uma melhor interação entre as células e as nanopartículas, melhorando o seu direcionamento para o local de ação. As nanopartículas simples (sem ligando) deram origem a um tamanho de partícula de 206,3 nm, PDI de 0,190 e potencial zeta de -26,5 mV. As nanopartículas com o ligando Tf e as nanopartículas com o ligando TfRp deram origem a tamanho de partícula de 218,6 nm e 216,3 nm, PDI de 0,078 e 0,067 e potencial zeta de -19,5 mV e -19,6 mV, respetivamente, sendo evidente que os ligandos aumentam o tamanho de partícula e permitem reduzir o PDI, o que pode permitir aferir que os ligandos permitem estabilizar as nanopartículas. O valor de potencial zeta nas nanopartículas com ligando também é menor. EE%, variou entre 48 – 50% e *drug loading* entre 10 – 12% para todas as formulações.

O perfil de libertação dos três tipos de nanopartículas formuladas demonstrou uma libertação prolongada durante 10 dias com um perfil de libertação bifásico. Inicialmente ocorreu uma libertação rápida devido ao carácter hidrofílico do fármaco, após a qual se mantém prolongada durante cerca de 10 dias. Quando comparadas as nanopartículas simples com as nanopartículas funcionalizadas, foi possível observar que as nanopartículas simples apresentaram uma maior libertação de fármaco ao fim de 10 dias. Os ligandos utilizados à

superfície da nanopartícula conduziram assim a uma diminuição da velocidade de liberação do fármaco quando comparado com a nanopartícula simples, uma vez que os ligandos formam uma barreira adicional na superfície da nanopartícula.

A concentração de fármaco no cérebro de murghinhos foi avaliada em estudos *in vivo* para todas as nanopartículas, após administração intranasal, e 30 minutos após administração observou-se que a concentração de fármaco obtida com as nanopartículas simples era bastante superior à concentração das nanopartículas funcionalizadas. Isso foi justificado pelos autores como devendo-se ao tipo de transporte adotado pelas diferentes nanopartículas, sendo as nanopartículas simples transportadas preferencialmente pela via olfativa, através de transporte facilitado ou transporte extracelular, demorando apenas alguns minutos a atingir o cérebro, e as nanopartículas funcionalizadas transportadas preferencialmente por endocitose, um transporte mais lento.

Comparativamente com as nanopartículas simples, as nanopartículas funcionalizadas demoram mais tempo a chegar ao local de ação, o que pode ser uma desvantagem se for desejado um rápido início de ação, no entanto, estas possuem uma liberação mais controlada, podendo permitir ação terapêutica mais prolongada. Conclui-se assim que tanto as nanopartículas simples como as nanopartículas funcionalizadas formuladas possuem potencial para providenciar uma liberação controlada de venlafaxina até ao local de ação quando administradas por via intranasal, podendo ser candidatas como alternativa à administração oral deste fármaco.

Comparando os três estudos desenvolvidos utilizando a venlafaxina, é possível observar que todos recorreram à utilização de nanopartículas poliméricas para a encapsulação do fármaco. Os dois primeiros estudos<sup>33;34</sup> apresentaram tamanho de partícula inferior a 200 nm, mas PDI superior a 0,3, o que indica que o tamanho de partícula é pequeno mas não muito homogêneo (considerando um valor ótimo de <0,3). O potencial zeta de ambos foi positivo. O terceiro estudo<sup>35</sup> avaliou ainda a adição de ligandos à superfície das nanopartículas, tendo obtido, tanto para as nanopartículas funcionalizadas como para as simples, tamanho de partícula superior a 200 nm, potencial zeta negativo, mas PDI inferior a 0,3, o que é indicativo de uma maior homogeneidade. Os estudos de liberação *in vitro* dos três estudos indicaram uma liberação bifásica de fármaco, com um início mais rápido seguido de uma liberação prolongada. Estudos *in vivo* farmacodinâmicos realizados também mostraram resultados favoráveis, apoiando que as formulações permitem potenciar a ação antidepressiva da

venlafaxina. As formulações desenvolvidas nos três estudos mostraram potencial como alternativa ao tratamento da depressão pela administração oral de venlafaxina.

#### 4.1.7 Selegilina

A selegilina é um IMAO, com um efeito terapêutico dose-dependente e que possui efeitos neuroprotetores. A administração oral deste fármaco sujeita-o a um extenso metabolismo de primeira passagem hepático, dando origem a uma biodisponibilidade reduzida, e tendo também diversos efeitos adversos associados. Um estudo realizado por Singh *et al.*<sup>13</sup> teve por objetivo aumentar a eficácia do cloridrato de selegilina através da administração intranasal de nanopartículas de quitosano tiolado, que permitam uma libertação prolongada e controlada do fármaco encapsulado.

As nanopartículas formuladas continham quitosano tiolado, que é obtido através do acoplamento dos grupos amina primários do quitosano com grupos tiol. Esta alteração estrutural permite melhorar a mucoadesão e a permeabilidade do polímero. Foi ainda utilizado TPP, um polianião que interage com o quitosano através de forças eletrostáticas, fazendo com que o quitosano seja submetido a gelificação iónica e precipite, formando partículas esféricas. A otimização da formulação considerou a relação polímero conjugado: TPP, uma vez que esta afeta diretamente o tamanho e a distribuição do tamanho da partícula. A relação otimizada foi de 5:1. O pH foi também considerado, sendo considerado ideal entre 5,0 e 5,5 (valores compreendidos entre o intervalo de valores de pH da mucosa nasal), uma vez que a pH acima de 5,5 se verificou a formação de agregados brancos indesejados que desapareceram com a redução de pH.

A libertação de fármaco *in vitro* foi analisada e comparada entre nanopartículas de quitosano tiolado e nanopartículas de quitosano não modificado. Concluiu-se que as nanopartículas de quitosano não modificado demonstraram um perfil de libertação mais rápido nas primeiras 2h, devido à presença de fármaco na superfície das nanopartículas que se liberta mais rapidamente, quando comparado com as nanopartículas de quitosano tiolado, em que há a formação de gel *in situ*, ou seja, há formação de uma rede de gel de alta densidade que restringe a penetração da água no local onde ocorre a difusão do fármaco, retardando assim a sua libertação. Não obstante, ao fim de cerca de 3h verificou-se que a libertação de fármaco das nanopartículas de quitosano tiolado era constante e se manteve durante um período de tempo prolongado, sendo superior à libertação de quitosano não modificado ao fim de 13h.

Em estudos farmacodinâmicos *in vivo* em ratos, que incluíram a verificação da imobilidade induzida por *stress*, o teste de preferência de sacarose e a avaliação da atividade

locomotora, compararam-se os resultados da administração intranasal do fármaco simples, das nanopartículas de quitosano tiolado e das nanopartículas de quitosano não modificado. O fármaco simples apenas mostrou efeitos significativos no aumento da atividade locomotora. Ambas as nanopartículas administradas permitiram reduzir o tempo de imobilidade, restabelecer o consumo de sacarose e aumentar a atividade locomotora, tendo os melhores resultados sido obtidos com a administração das nanopartículas de quitosano tiolado.

Outro parâmetro avaliado foi a formação de radicais livres, nomeadamente de nitrito, uma vez que o *stress* oxidativo tem vindo a ser associado a perturbações do humor. A sua concentração foi reduzida mais significativamente aquando da administração de nanopartículas de quitosano tiolado, quando comparado com a administração do fármaco em solução e com as nanopartículas de quitosano não modificado.

Concluindo, a formação de um gel *in situ* permite melhorar a permeabilidade e o transporte do fármaco desde a cavidade nasal até ao local de ação no cérebro, tendo-se verificado uma vantagem significativa da utilização de quitosano tiolado em relação ao quitosano não modificado.

#### **4.1.8 Tramadol**

O tramadol é um fármaco opióide sintético com ação analgésica central e baixa afinidade para os recetores opióides. É ainda capaz de inibir o *reuptake* dos neurotransmissores serotonina e noradrenalina, apresentando assim efeito antidepressivo. A incorporação de tramadol em nanopartículas permite proteger o fármaco da sua natureza lábil. Um estudo realizado por Kaur *et al.*<sup>36</sup> teve por objetivo estudar a eficácia do transporte de cloridrato de tramadol até ao local de ação no cérebro recorrendo à via de administração intranasal de nanopartículas incorporadas num gel *in situ* para o tratamento da depressão.

As nanopartículas poliméricas incorporadas num gel *in situ* foram constituídas por quitosano e TPP. O poloxâmico 407 (Pluronic® F-127) foi utilizado como surfactante, que juntamente com o polímero hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) K15M permitiu a formação de um gel termossensível. Cloreto benzalcónio foi utilizado como surfactante catiónico e para estabilizar o sistema. Para a otimização da formulação foi utilizado quitosano e TPP numa proporção de 1:1 para possibilitar a sua incorporação no gel termossensível. As nanopartículas otimizadas apresentaram tamanho de partícula de 152,0 nm, PDI de 0,143, potencial zeta de +31 mV e EE% de 85%.

Estudos de libertação do fármaco *in vitro* demonstraram uma libertação bifásica do fármaco, sendo que as nanopartículas incorporadas no gel *in situ* apresentam uma libertação de fármaco mais prolongada quando comparado com a libertação de uma solução salina.

O *forced swim test*, estudo farmacodinâmico *in vivo*, foi realizado em ratos. Foi possível observar que a administração intranasal das nanopartículas incorporadas no gel *in situ* possibilitou a redução do período de imobilidade, aumentando a locomoção. O peso corporal também foi avaliado antes e depois do tratamento, tendo sido verificada uma melhoria significativa no peso em comparação com o grupo controlo (em que não se aplicou tratamento). O teste de preferência de sacarose permitiu verificar que o tratamento com nanopartículas incorporadas no gel *in situ* pela via intranasal aumentou a ingestão de sacarose. A concentração de nitritos foi também avaliada, sendo significativamente reduzida aquando do tratamento com as nanopartículas incorporadas no gel *in situ* pela via intranasal, sendo ainda de notar que a administração intranasal da solução salina de tramadol obteve resultados insatisfatórios na redução destes níveis.

De uma forma geral, as nanopartículas incorporadas no gel *in situ* desenvolvidas demonstraram assegurar uma libertação controlada do fármaco, melhorando o transporte até ao local de ação. Provaram ainda possuir uma excelente capacidade de encapsulação do fármaco, apresentando-se como uma possível alternativa à administração oral do fármaco.

## **4.2 Fármacos utilizados para o tratamento da ansiedade**

### **4.2.1 Buspirona**

A buspirona é um agente ansiolítico utilizado no tratamento do transtorno de ansiedade generalizada. Atua como agonista dos recetores serotoninérgicos pré-sinápticos na região do hipocampo do cérebro e como agonista parcial de recetores serotoninérgicos pós-sinápticos no núcleo de rafe. Quando administrado por via oral fica sujeito a um extenso metabolismo de primeira passagem hepático, possuindo uma biodisponibilidade muito reduzida<sup>7; 37</sup>. O estudo realizado por Bari *et al.*<sup>7</sup>, teve por objetivo determinar a aptidão de nanopartículas poliméricas de quitosano tiolado para transportarem o fármaco até ao local de ação no cérebro através da administração intranasal para o tratamento da ansiedade.

As nanopartículas formuladas foram constituídas por quitosano tiolado ou por quitosano simples. Uma mistura de TPP e alginato foi utilizada como *cross-linker*. A otimização da formulação teve em consideração a relação entre a concentração do quitosano e a concentração do *cross-linker*, uma vez que esta afeta o tamanho de partícula e o valor do PDI.

Um aumento na concentração de fármaco em solução demonstrou reduzir a interação entre o quitosano e o TPP, que se refletiu num aumento no tamanho de partícula e de PDI. EE% e *drug loading* foram também determinados e verificou-se que o aumento da concentração de fármaco não alterou o *drug loading*, no entanto diminuiu a EE%, provavelmente porque o fármaco cria uma barreira e a interação entre os grupos amina livre e o *cross-linker* de carga negativa diminui. A formulação otimizada de quitosano e a formulação otimizada de quitosano tiolado apresentaram, respetivamente tamanho de partícula de 195,7 nm e 208,3 nm e PDI de 0,367 e 0,253. A diminuição do valor de PDI indica maior homogeneidade do sistema devido à presença do quitosano tiolado. Verificou-se ainda por microscopia eletrónica de transmissão que ambas as formulações apresentaram poros na superfície, o que sugere a possibilidade de libertação de fármaco por esses mesmos poros.

A libertação *in vitro* foi comparada entre as duas formulações, tendo sido observado que a utilização de quitosano tiolado não afetou a libertação de fármaco. Ambas as formulações apresentaram uma libertação bifásica, em que inicialmente ocorre uma libertação rápida, seguida de libertação prolongada durante 24h, sendo que a libertação de fármaco foi mais de 90% ao fim de 24h. Estudos *ex vivo* demonstraram que as nanopartículas de quitosano tiolado tiveram melhor permeabilidade que as nanopartículas de quitosano não modificado, que por sua vez mostrou melhorar a permeabilidade relativamente ao fármaco puro em solução. Estes resultados devem-se ao aumento da mucoadesão, uma vez que se forma uma ligação iónica forte entre o grupo amina do quitosano tiolado e os locais da membrana celular, e há interação com as *tight junctions*, que permite a sua abertura.

Parâmetros farmacocinéticos foram determinados em estudos *in vivo*, após administração intranasal das nanopartículas de quitosano tiolado ou de uma solução de bupirona, ou ainda administração intravenosa da mesma solução de fármaco. A concentração cerebral obtida e AUC para as nanopartículas administradas pela via intranasal apresentou-se muito mais elevada do que para as restantes formulações, mantendo-se mais elevada em todos os pontos de tempo avaliados no estudo. De referir ainda que a concentração de bupirona no cérebro obtida 30 minutos após a administração foi cerca de três vezes superior para as nanopartículas formuladas administradas pela via intranasal, o que indica que esta via de administração permite atingir o SNC, contornando a barreira hematoencefálica. O DTP% (95,97%) e DTE% (78,94%) foram igualmente mais elevados aquando da administração intranasal das nanopartículas formuladas (comparando com a solução de fármaco, também administrada por via intranasal).



As nanopartículas poliméricas desenvolvidas permitiram assim estabelecer o transporte do fármaco desde a cavidade nasal até ao local de ação, apresentando diversas vantagens relativamente a outras vias de administração. Conclui-se que se apresenta como uma possível alternativa não invasiva de administração de bupiriona no tratamento do transtorno de ansiedade generalizada.

#### 4.2.2 Riluzol

O mecanismo de ação do riluzol não se encontra completamente definido, presumindo-se que atue como inibidor da libertação de glutamato. Está associado à diminuição do stress oxidativo, apresentando assim potencial para o tratamento da ansiedade. É sujeito a um extenso metabolismo de primeira passagem hepático quando administrado por via oral, o que resulta na redução da sua biodisponibilidade. O estudo realizado por Nabi *et al.*<sup>38</sup> teve como objetivo desenvolver um sistema de transporte de nanopartículas para administração intranasal, contendo riluzol encapsulado e utilizando Tf como ligando, por forma a aumentar a concentração de fármaco no cérebro e a potenciar a sua ação na redução do stress oxidativo.

O quitosano foi utilizado como polímero na formulação das nanopartículas, pelas suas propriedades mucoadesivas, juntamente com o polianião TPP. A Tf foi adicionada posteriormente às nanopartículas de quitosano formuladas como ligando, para facilitar a transcitose das mesmas através da barreira hematoencefálica. Foram assim formuladas nanopartículas de quitosano com e sem Tf. As formulações otimizadas consideraram a relação fármaco:polímero:Tf. O tamanho de partícula e PDI para as nanopartículas de quitosano foram de 173,6 nm e 0,264, e para a nanopartículas de quitosano com o ligando Tf foram de 207,0 nm e 0,406, respetivamente, sendo possível observar um aumento no tamanho de partícula e de PDI com a adição de Tf, sendo que as nanopartículas sem o ligando possuem um sistema mais homogéneo. O pH considerado ótimo para a formação das nanopartículas com ligando foi de 5,0, estando compreendido no intervalo de valores de pH da mucosa nasal.

A libertação *in vitro* inicial de fármaco mostrou ser rápida, sendo seguida de uma libertação prolongada. A libertação cumulativa ao fim de 24h foi avaliada para três formulações diferentes, tendo-se verificado valores superiores para as nanopartículas em que foi utilizado o ligando, seguida das nanopartículas de quitosano sem ligando, e depois de uma suspensão de riluzol. As mesmas conclusões foram retiradas em relação à permeação de fármaco, realizada *ex vivo*.

Foi comparada a administração intravenosa ou intranasal de uma suspensão de riluzol, e a administração intranasal das nanopartículas contendo Tf em ratos tendo sido evidente uma

maior concentração para a administração intranasal de uma forma geral, e mais ainda para as nanopartículas. Os resultados sustentam ainda a hipótese de que as nanopartículas administradas por via intranasal possuem uma libertação prolongada. É importante ter em atenção que há uma fração de fármaco que, após administração intranasal, poderá ser diretamente transportada até ao cérebro pelas vias neuronais, no entanto, há sempre uma fração significativa absorvida para a circulação sistémica. Parte do fármaco que atinge a circulação sistémica pode chegar ao cérebro, pela via indireta, tendo neste caso de atravessar a barreira hematoencefálica. DTE% (1138,46%) e DTP% (91,21%) demonstraram melhores resultados para as nanopartículas que continham o ligando, pelo que estas permitem melhorar a eficiência de direcionamento do fármaco até ao local de ação, mas provavelmente por transporte indireto.

Estudos farmacodinâmicos realizados em ratos (*elevated plus maze model* e *Morris Water maze test*) mostraram que o riluzol possui atividade ansiolítica substancial, e que as nanopartículas com e sem ligando possibilitaram melhorar a capacidade de aprendizagem e memória nos animais em estudo. Foi possível concluir ainda que, aquando do tratamento com ambas as nanopartículas formuladas (com e sem ligando), o *stress* oxidativo foi significativamente reduzido. Não foi visualizada uma diferença significativa entre os dois tipos de nanopartículas formuladas.

Assim, as nanopartículas formuladas demonstraram potencial para o tratamento da ansiedade através da administração nasal, tendo a Tf sido uma vantagem adicional ao longo do estudo, melhorando o direcionamento do fármaco até ao local de ação.

## 5. Conclusão

O tratamento convencional das patologias de depressão e ansiedade apresenta atualmente diversas desvantagens que comprometem a biodisponibilidade dos fármacos, havendo uma redução da concentração de fármaco que atinge o local de ação de forma a provocar uma resposta terapêutica adequada. Estão também associados a diversos fármacos efeitos adversos sistémicos indesejados. Nesse sentido, a via intranasal tem vindo a ser estudada com o intuito de melhorar a terapêutica atual destas patologias, ultrapassando as suas desvantagens. Esta via permite estabelecer um contacto direto entre o ambiente envolvente da cavidade nasal e o SNC, sendo possível ultrapassar a barreira hematoencefálica, evitando o efeito de primeira passagem hepático e reduzindo os efeitos adversos causados pela via mais prevalente de administração, a via oral.

A absorção de fármaco pela via intranasal depende de diversos fatores anatômicos e fisiológicos, físico-químicos e de formulação, que influenciam a extensão da absorção e consequentemente a eficácia da formulação administrada na cavidade nasal. Existem estratégias que podem ser utilizadas para melhorar a absorção dos fármacos, sendo que os estudos analisados recorreram à incorporação de fármaco em nanopartículas, como forma de o proteger e permitir o seu transporte até ao local de ação, possibilitando ainda uma libertação controlada e aumentando a concentração deste no local de ação.

Os estudos apresentados permitiram formular diferentes tipos de nanopartículas com diferentes fármacos, com o intuito de verificar a viabilidade da utilização dessas formulações administradas pela via intranasal para o tratamento da depressão e ansiedade. Todos os estudos que reportaram valores de tamanho de partícula, potencial zeta e PDI, demonstraram que os mesmos são geralmente adequados, conferindo estabilidade e homogeneidade ao sistema. Os valores reportados de EE%, DTE% e DTP% demonstraram também ser promissores, sendo conseguida uma encapsulação eficaz dos fármacos e um direcionamento cerebral elevado. Os estudos farmacocinéticos e farmacodinâmicos realizados demonstraram resultados promissores na aplicação deste tipo de formulações para produzir o efeito terapêutico desejado. Uma comparação mais detalhada entre os estudos é dificultada pela utilização de fármacos distintos, e também modelos animais distintos, entre outros parâmetros que diferem entre os estudos, como por exemplo os tempos em que se realizaram os ensaios.

As nanopartículas poliméricas foram o nanossistema escolhido na maioria dos estudos analisados para a encapsulação do fármaco. Este tipo de nanopartículas permite controlar a libertação do fármaco, sendo que a maioria dos estudos verificaram uma libertação bifásica deste tipo de nanopartículas, em que primeiramente se verifica uma libertação rápida, seguida de uma libertação prolongada que se mantém por um determinado período de tempo. Dos constituintes utilizados na preparação das formulações destaque a utilização do quitosano e do alginato, dois polímeros mucoadesivos que permitem aumentar o tempo de residência do fármaco na cavidade nasal e potenciar a sua absorção e chegada ao local de ação.

A maioria dos estudos incide sobre o tratamento da depressão, sendo que dos 12 estudos analisados, apenas 2 incidiram sobre o tratamento da ansiedade. Apesar de ambas as patologias interferirem com a qualidade de vida, a depressão é considerada como uma das principais causas de incapacidade no mundo, podendo levar ao suicídio, desta forma o tratamento desta patologia pode prevenir a morte, sendo necessária uma atuação eficaz no seu tratamento.

De forma geral, a via intranasal apresentou potencial elevado como alternativa às terapêuticas atualmente disponíveis no mercado para o tratamento da depressão e ansiedade. No entanto, os estudos apresentam apenas ensaios *in vitro* e *in vivo* em animais (ratos e murganhos), não tendo sido incluído neste trabalho nenhum estudo na fase de ensaios clínicos em humanos. Será relevante, num trabalho futuro, realizar uma comparação destes estudos em animais com estudos que possam já ter sido realizados em humanos, por forma a verificar qual o verdadeiro potencial destas formulações.

A aposta na investigação e desenvolvimento deste tipo de formulações pode permitir tornar os tratamentos cada vez mais eficazes para estas que são patologias que interferem diretamente com o dia-a-dia dos doentes, afetando a sua qualidade de vida. Na minha opinião, esta é uma abordagem promissora para o tratamento das patologias abordadas, permitindo ultrapassar desvantagens incontornáveis pela administração oral, permitindo um início de ação mais rápido com aumentando do tempo de permanência do fármaco no local de ação. Esta via apresenta-se ainda como uma via cómoda de administração do fármaco e que pode permitir reduzir o número de administrações necessárias para um tratamento eficaz, o que pode permitir aumentar a *compliance* dos doentes.

## 6. Bibliografia

1. WORLD HEALTH ORGANIZATION - **Mental Health** [Consult. 17 jul. 2022]. Disponível em: [http://www.who.int/health-topics/mental-health#tab=tab\\_1](http://www.who.int/health-topics/mental-health#tab=tab_1)
2. VITORINO, Carla *et al.* - QbD-driven development of intranasal lipid nanoparticles for depression treatment. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. ISSN 09396411. 153:2020) 106–120. doi: 10.1016/j.ejpb.2020.04.011.
3. SNS24 - **Depressão** [Consult. 15 ago. 2022]. Disponível em: <http://www.sns24.gov.pt/tema/saude-mental/depressao/#sec-4>
4. TONG, Gui-Feng; QIN, Nan; SUN, Li-Wei - Development and evaluation of Desvenlafaxine loaded PLGA-chitosan nanoparticles for brain delivery. **Saudi Pharmaceutical Journal**. ISSN 13190164. 25:6 (2017) 844–851. doi: 10.1016/j.jsps.2016.12.003.
5. CUF - **Depressão** [Consult. 26 jul. 2022]. Disponível em: <https://www.cuf.pt/saude-a-z/depressao>
6. NORMAN, Trevor R.; OLVER, James S. - Agomelatine for depression: expanding the horizons? **Expert Opinion on Pharmacotherapy**. ISSN 1465-6566. 20:6 (2019) 647–656. doi: 10.1080/14656566.2019.1574747.
7. BARI, Naimat Kalim *et al.* - Brain delivery of buspirone hydrochloride chitosan nanoparticles for the treatment of general anxiety disorder. **International Journal of Biological Macromolecules**. ISSN 01418130. 81:2015) 49–59. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2015.07.041.
8. PENNINX, Brenda WJH *et al.* - Anxiety disorders. **The Lancet**. ISSN 01406736. 397:10277 (2021) 914–927. doi: 10.1016/S0140-6736(21)00359-7.
9. CUF - **Ansiedade** [Consult. 26 jul. 2022]. Disponível em: <https://www.cuf.pt/saude-a-z/ansiedade>
10. COSTA, C. *et al.* - Nose-to-brain delivery of lipid-based nanosystems for epileptic seizures and anxiety crisis. **Journal of Controlled Release**. ISSN 01683659. 295:2019) 187–200. doi: 10.1016/j.jconrel.2018.12.049.
11. SOYKA, Michael - Treatment of Benzodiazepine Dependence. **New England Journal of Medicine**. ISSN 0028-4793. 376:12 (2017) 1147–1157. doi: 10.1056/NEJMr1611832.

12. LOMBARDO, Rosamaria *et al.* - Nanotechnologies for intranasal drug delivery: an update of literature. **Pharmaceutical Development and Technology**. ISSN 10979867. 26:8 (2021) 824–845. doi: 10.1080/10837450.2021.1950186.
13. SINGH, Devendra *et al.* - Pharmacological evaluation of nasal delivery of selegiline hydrochloride-loaded thiolated chitosan nanoparticles for the treatment of depression. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**. ISSN 2169-1401. 44:3 (2015) 1–13. doi: 10.3109/21691401.2014.998824.
14. BAHADUR, Shiv; PATHAK, Kamla - Physicochemical and physiological considerations for efficient nose-to-brain targeting. **Expert Opinion on Drug Delivery**. ISSN 1742-5247. 9:1 (2012) 19–31. doi: 10.1517/17425247.2012.636801.
15. MISRA, Ambikanandan *et al.* - Recent Patents Review on Intranasal Administration for CNS Drug Delivery. **Recent Patents on Drug Delivery & Formulation**. ISSN 18722113. 2:1 (2008) 25–40. doi: 10.2174/187221108783331429.
16. SELVARAJ, Kousalya; GOWTHAMARAJAN, Kuppusamy; KARRI, Veera Venkata Satyanarayana Reddy - Nose to brain transport pathways an overview: potential of nanostructured lipid carriers in nose to brain targeting. **Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology**. ISSN 2169141X. 46:8 (2018) 2088–2095. doi: 10.1080/21691401.2017.1420073.
17. PARDESHI, Chandrakantsing Vijaysing; BELGAMWAR, Veena Shailendra - Direct nose to brain drug delivery *via* integrated nerve pathways bypassing the blood–brain barrier: an excellent platform for brain targeting. **Expert Opinion on Drug Delivery**. ISSN 1742-5247. 10:7 (2013) 957–972. doi: 10.1517/17425247.2013.790887.
18. PIRES, Patrícia C.; SANTOS, Adriana O. - Nanosystems in nose-to-brain drug delivery: A review of non-clinical brain targeting studies. **Journal of Controlled Release**. ISSN 01683659. 270:2018) 89–100. doi: 10.1016/j.jconrel.2017.11.047.
19. MARA MAINARDES, Rubiana *et al.* - Liposomes and Micro/Nanoparticles as Colloidal Carriers for Nasal Drug Delivery. **Current Drug Delivery**. ISSN 15672018. 3:3 (2006) 275–285. doi: 10.2174/156720106777731019.
20. CUNHA, S. *et al.* - Lipid Nanoparticles for Nasal/Intranasal Drug Delivery. **Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems**. ISSN 0743-4863. 34:3 (2017) 257–282. doi: 10.1615/CritRevTherDrugCarrierSyst.2017018693.

21. SCHERLIESS, Regina - Nasal formulations for drug administration and characterization of nasal preparations in drug delivery. **Therapeutic Delivery**. ISSN 2041-5990. 11:3 (2020) 183–191. doi: 10.4155/tde-2019-0086.
22. BATTAGLIA, Luigi *et al.* - Lipid nanoparticles for intranasal administration: application to nose-to-brain delivery. **Expert Opinion on Drug Delivery**. ISSN 1742-5247. 15:4 (2018) 369–378. doi: 10.1080/17425247.2018.1429401.
23. SOOD, Sumeet; JAIN, Kunal; GOWTHAMARAJAN, K. - Intranasal therapeutic strategies for management of Alzheimer's disease. **Journal of Drug Targeting**. ISSN 1061-186X. 22:4 (2014) 279–294. doi: 10.3109/1061186X.2013.876644.
24. BEHL, C. R. *et al.* - Effects of physicochemical properties and other factors on systemic nasal drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**. ISSN 0169409X. 29:1–2 (1998) 89–116. doi: 10.1016/S0169-409X(97)00063-X.
25. PIRES, Anaísa *et al.* - Intranasal Drug Delivery: How, Why and What for? **Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**. ISSN 1482-1826. 12:3 (2009) 288. doi: 10.18433/J3NC79.
26. TENCHOV, Rumiana *et al.* - Lipid Nanoparticles—From Liposomes to mRNA Vaccine Delivery, a Landscape of Research Diversity and Advancement. **ACS Nano**. ISSN 1936-0851. 15:11 (2021) 16982–17015. doi: 10.1021/acsnano.1c04996.
27. GOMEZHENS, A.; FERNANDEZROMERO, J. - Analytical methods for the control of liposomal delivery systems. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**. ISSN 01659936. 25:2 (2006) 167–178. doi: 10.1016/j.trac.2005.07.006.
28. XU, Jingying; TAO, Jiangang; WANG, Jidong - Design and Application in Delivery System of Intranasal Antidepressants. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**. ISSN 22964185. 8:2020). doi: 10.3389/fbioe.2020.626882.
29. SINGH, Yuvraj *et al.* - Nanoemulsion: Concepts, development and applications in drug delivery. **Journal of Controlled Release**. ISSN 01683659. 252:2017) 28–49. doi: 10.1016/j.jconrel.2017.03.008.
30. XU, Dong *et al.* - Intranasal delivery of icariin via a nanogel-thermoresponsive hydrogel compound system to improve its antidepressant-like activity. **International Journal of Pharmaceutics**. ISSN 03785173. 586:2020) 119550. doi: 10.1016/j.ijpharm.2020.119550.

31. XU, Dong *et al.* - Alginate nanogels-based thermosensitive hydrogel to improve antidepressant-like effects of albiflorin via intranasal delivery. **Drug Delivery**. ISSN 1071-7544. 28:1 (2021) 2137–2149. doi: 10.1080/10717544.2021.1986604.
32. JANI, Parva *et al.* - Formulation of polymeric nanoparticles of antidepressant drug for intranasal delivery. **Therapeutic Delivery**. ISSN 2041-5990. 10:11 (2019) 683–696. doi: 10.4155/tde-2019-0060.
33. HAQUE, Shadabul *et al.* - Venlafaxine loaded chitosan NPs for brain targeting: Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation. **Carbohydrate Polymers**. ISSN 01448617. 89:1 (2012) 72–79. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.02.051.
34. HAQUE, Shadabul *et al.* - Development and evaluation of brain targeted intranasal alginate nanoparticles for treatment of depression. **Journal of Psychiatric Research**. ISSN 00223956. 48:1 (2014) 1–12. doi: 10.1016/j.jpsychires.2013.10.011.
35. CAYERO-OTERO, M. D. *et al.* - *In vivo* biodistribution of venlafaxine-PLGA nanoparticles for brain delivery: plain vs. functionalized nanoparticles. **Expert Opinion on Drug Delivery**. ISSN 1742-5247. 16:12 (2019) 1413–1427. doi: 10.1080/17425247.2019.1690452.
36. KAUR, Prabhjot *et al.* - Brain delivery of intranasal *in situ* gel of nanoparticulated polymeric carriers containing antidepressant drug: behavioral and biochemical assessment. **Journal of Drug Targeting**. ISSN 1061-186X. 23:3 (2015) 275–286. doi: 10.3109/1061186X.2014.994097.
37. ABDELNABI, Dina M.; ABDALLAH, Marwa H.; ELGHAMRY, Hanaa A. - Buspirone Hydrochloride Loaded In Situ Nanovesicular Gel as an Anxiolytic Nasal Drug Delivery System: In Vitro and Animal Studies. **AAPS PharmSciTech**. ISSN 1530-9932. 20:3 (2019) 134. doi: 10.1208/s12249-018-1211-0.
38. NABI, Bushra *et al.* - Riluzole-loaded nanoparticles to alleviate the symptoms of neurological disorders by attenuating oxidative stress. **Drug Development and Industrial Pharmacy**. ISSN 0363-9045. 46:3 (2020) 471–483. doi: 10.1080/03639045.2020.1730396.