



Catarina de Lurdes Teixeira Borges

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Aplicação Terapêutica de Nanossistemas no Tratamento da Epilepsia” referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação, da Dra. Florbela Martins, da Dra. Ana Leite e Silva e da Professora Doutora Ana Rita Figueiras e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

FERNANDES, J. **Epileptic Seizures Prevented in Early Study by Targeting Select Protein.** *Epilepsy News Today*, 2016. [Acedido a 3 de agosto de 2018]. Disponível na Internet: <https://epilepsynewstoday.com/2016/12/21/absence-of-protein-eef2k-seen-to-protect-against-epileptic-seizures-in-mice/#>

Catarina de Lurdes Teixeira Borges

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Aplicação Terapêutica de Nanossistemas no Tratamento da Epilepsia” referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação, da Dra. Florbela Martins, da Dra. Ana Leite e Silva e da Professora Doutora Ana Rita Figueiras e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Catarina de Lurdes Teixeira Borges, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2013134847, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Aplicação terapêutica de nanossistemas no tratamento da epilepsia” 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, 3 de setembro de 2018.

Catarina de Lurdes Teixeira Borges

(Catarina de Lurdes Teixeira Borges)

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra e a todos os docentes, pelo conhecimento transmitido ao longo destes cinco anos.

À Professora Doutora Ana Rita Figueiras, pela orientação, disponibilidade e acompanhamento contínuo na elaboração da monografia.

À Doutora Florbela Martins e a toda a equipa da Phagecon, pelo apoio, disponibilidade e saber transmitido.

À Doutora Ana Leite e Silva e a toda a equipa da Farmácia Coimbra, pela simpatia, integração e orientação durante o estágio.

Aos meus pais, aos meus irmãos e à restante família pelo esforço, apoio e motivação dada ao longo desta etapa da minha vida, permitindo que tudo isto fosse possível.

À minha avó, mesmo não estando presente, sei que sempre me acompanhou.

Ao Pedro, pela paciência, compreensão e motivação diária.

À Maria e aos restantes amigos, pela presença, amizade e companheirismo constantes ao longo deste percurso.

A Coimbra e a todas as amizades que lá fiz.

A todos o mais sincero obrigado!

ÍNDICE GERAL

PARTE I – RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

| | |
|--|-----------|
| ABREVIATURAS | 7 |
| 1. INTRODUÇÃO | 8 |
| 2. PHAGECON – SERVIÇOS E CONSULTORIA FARMACÊUTICA | 9 |
| 2.1. <i>QUALITY ASSURANCE DEPARTMENT</i> | 9 |
| 3. ANÁLISE SWOT | 11 |
| 3.1. PONTOS FORTES | 12 |
| 3.2. PONTOS FRACOS | 13 |
| 3.3. OPORTUNIDADES | 14 |
| 3.4. AMEAÇAS | 15 |
| 4. CONCLUSÃO | 17 |
| 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 18 |
| 6. ANEXOS | 19 |

PARTE II – RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

| | |
|---|-----------|
| ABREVIATURAS | 21 |
| 1. INTRODUÇÃO | 22 |
| 2. FARMÁCIA COIMBRA – ORGANIZAÇÃO E GESTÃO | 23 |
| 3. ANÁLISE SWOT | 24 |
| 3.1. PONTOS FORTES | 25 |
| 3.2. PONTOS FRACOS | 29 |
| 3.3. OPORTUNIDADES | 30 |
| 3.4. AMEAÇAS | 32 |
| 4. CONCLUSÃO | 34 |
| 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 35 |
| 6. ANEXOS | 36 |

PARTE III – MONOGRAFIA: APLICAÇÃO TERAPÊUTICA DE NANOSSISTEMAS NO TRATAMENTO DA EPILEPSIA

| | |
|--|-----------|
| ÍNDICE DE FIGURAS | 41 |
| ABREVIATURAS | 42 |
| RESUMO | 43 |
| ABSTRACT | 43 |
| 1. INTRODUÇÃO | 44 |
| 2. EPILEPSIA E FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA | 45 |
| 3. BARREIRA HEMATOENCEFÁLICA E SUAS CARACTERÍSTICAS | 46 |
| 4. NANOSSISTEMAS COM APLICAÇÃO NA TERAPÊUTICA DA EPILEPSIA | 47 |
| 4.1. LIPOSSOMAS | 48 |
| 4.2. NANOPARTICULAS POLIMÉRICAS | 50 |
| 4.3. NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS / TRANSPORTADORES LIPÍDICOS NANOESTRUTURADOS | 53 |
| 4.4. NANOEMULSÕES | 54 |
| 4.5. NANOPARTICULAS MAGNÉTICAS | 56 |
| 5. ALGUMAS APLICAÇÕES TERAPÊUTICAS | 58 |
| 5.1. EXEMPLO 1 | 59 |
| 5.2. EXEMPLO 2 | 60 |
| 5.3. EXEMPLO 3 | 62 |
| 6. CONCLUSÃO | 64 |
| 7. PERSPETIVAS FUTURAS | 66 |
| 8. BIBLIOGRAFIA | 67 |
| 9. ANEXOS | 74 |

PARTE I – RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM INDÚSTRIA FARMACÊUTICA



PHAGECON
PHARMACEUTICAL SERVICES AND CONSULTING

Orientadora: Dr.^a Florbela Martins

ABREVIATURAS

| | |
|---------------------|--|
| BPD | Boas Práticas de Distribuição |
| FFUC | Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra |
| INFARMED, IP | Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. |
| MICF | Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas |
| PQR | <i>Product Quality Review</i> |
| QAD | <i>Quality Assurance Department</i> |
| SGQ | Sistema de Gestão de Qualidade |
| SWOT | <i>Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats</i> |

I. INTRODUÇÃO

Findos os cinco anos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), o estágio curricular surge como a primeira oportunidade efetiva de exercício da profissão farmacêutica, para a qual a Faculdade de Farmácia de Universidade de Coimbra (FFUC) contribuiu, de modo a formar profissionais com competência técnica, científica e ética com o objetivo de honrar a profissão.

A indústria farmacêutica encontra-se em franca expansão, daí o meu interesse pela realização de um estágio que fosse complementar ao estágio de caráter obrigatório em farmácia comunitária, com o intuito de alargar o leque de caminhos pelos quais é possível enveredar, enriquecendo-me tanto a nível profissional, como a nível pessoal.

O meu estágio decorreu numa consultora farmacêutica, Phagecon – Serviços e Consultoria Farmacêutica Lda, mais propriamente na área de Garantia de Qualidade, orientado pela Dr.^a Florbela Martins, com a duração de três meses.

Ao longo do estágio tive a oportunidade de estar envolvida em diversos projetos, envolvendo clientes também diferentes, por se tratar de uma consultora. Presenciei a complexidade de ter que lidar com prazos apertados e a rapidez com que se termina um projeto e se inicia um novo, foi sem dúvida uma experiência bastante enriquecedora.

Para além de todo o conhecimento técnico e científico adquirido, consegui ter também uma visão global da complexidade do funcionamento organizacional interno de uma empresa, principalmente ao nível do sistema de gestão de qualidade (SGQ).

Assim, com a análise SWOT (*Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats*), a seguir mencionada, pretendo primeiramente elucidar as principais áreas de negócio da empresa e ações desenvolvidas e, tendo em conta a minha experiência de estágio, fazer uma análise crítica referenciando os pontos fortes, pontos fracos, as ameaças e as possíveis oportunidades que o estágio me proporcionou.

2. PHAGECON – SERVIÇOS E CONSULTORIA FARMACÊUTICA

A Phagecon é uma empresa vocacionada para o setor farmacêutico, de capitais exclusivamente nacionais, fundada em janeiro de 2006 em Coimbra, porém, encontra-se atualmente sediada em Lisboa, de forma a dar resposta à crescente procura de mercado por empresas presentes nas grandes capitais europeias.

A Phagecon surgiu devido à crescente exigência do setor farmacêutico, tendo a capacidade de oferecer aos seus clientes uma gama alargada de serviços especializados de consultoria, sendo estes nas áreas de Assuntos Regulamentares, Farmacovigilância, Assuntos Científicos, Garantia de Qualidade e também Formação.

Atualmente, a Phagecon desenvolve atividades tanto a nível nacional, como internacional, apoiando de forma estratégica várias empresas nas suas atividades, no mercado dos medicamentos e produtos de saúde.

A empresa encontra-se dividida em diversos departamentos (Anexo I), o que permite uma melhor gestão dos projetos e uma elevada especialização técnica e científica dos colaboradores que integram determinado departamento. A equipa da Phagecon é constituída maioritariamente por farmacêuticos, mas também integra outros profissionais da área da saúde e não só, que contribuem para o bom funcionamento da empresa.^{1,2}

2.1. *Quality Assurance Department (QAD)*

O meu estágio decorreu no Departamento de Garantia de Qualidade, onde são prestados diversos serviços, tais como:

- Licenciamento no âmbito das atividades de distribuição e fabrico de medicamentos e dispositivos médicos;
- Implementação de Sistemas de Gestão de Qualidade;
- Boas práticas de fabrico, boas práticas de laboratório e boas práticas de distribuição;
- ISO 9001 e ISO 13485;
- Procedimentos técnicos;
- Protocolos e relatórios;
- Auditorias;
- Segurança, higiene e saúde no trabalho.²

Ao longo dos três meses de estágio integrei diversos projetos, com especial foco nos *Product Quality Reviews* (PQRs), tendo estado envolvida na sua elaboração e revisão. Os PQRs consistem em revisões periódicas relacionadas com a qualidade do produto farmacêutico, tendo que ser realizados para todos os produtos farmacêuticos registados e fabricados, de modo a avaliar a consistência do processo de fabrico existente, as tendências nos dados do produto, a adequação das especificações aprovadas, bem como para identificar oportunidades de melhoria tanto dos produtos, como dos processos.

Também desempenhei tarefas ao nível da adequação dos procedimentos e processos do SGQ da empresa de modo a obter certificação pela Norma ISO 9001:2015. Esta certificação contribui para a melhoria constante e evolutiva da competitividade, permitindo não só assegurar a capacidade de fornecer produtos cumprindo sistematicamente com as disposições aplicáveis, mas também obter e manter a satisfação dos clientes, daí a sua importância.

No decorrer do estágio também integrei um projeto relacionado com a qualificação dos clientes de uma determinada empresa, Cliente da Phagecon, cujo projeto consistiu na revisão da base de dados dos atuais clientes daquela empresa, tais como os distribuidores, entidades de aquisição direta de medicamentos, farmácias e locais de vendas de produtos não sujeitos a receita médica. Para isso, foi necessário a consulta no site do INFARMED, IP, do número da respetiva autorização de distribuição por grosso de medicamentos, autorização de aquisição direta ou alvará, conforme o tipo de cliente de modo a verificar se estes ainda se encontram válidos. Para além desta verificação, foi também necessário verificar a morada e os números de identificação fiscal de modo a construir uma base de dados o mais atualizada possível.

Ao longo do estágio estive envolvida noutros trabalhos, relacionados com a rotulagem de cosméticos e suplementos alimentares. Relativamente aos suplementos alimentares, participei ainda na elaboração do dossier técnico de um suplemento específico, para ser introduzido em países terceiros.

Tive ainda a oportunidade de lidar com dispositivos médicos, através da execução de pedidos de distribuição por grosso ao INFARMED, IP, via plataforma SDIV (sistema de registo *on-line* para notificação de dispositivos médicos para diagnóstico *in vitro* pelos distribuidores).

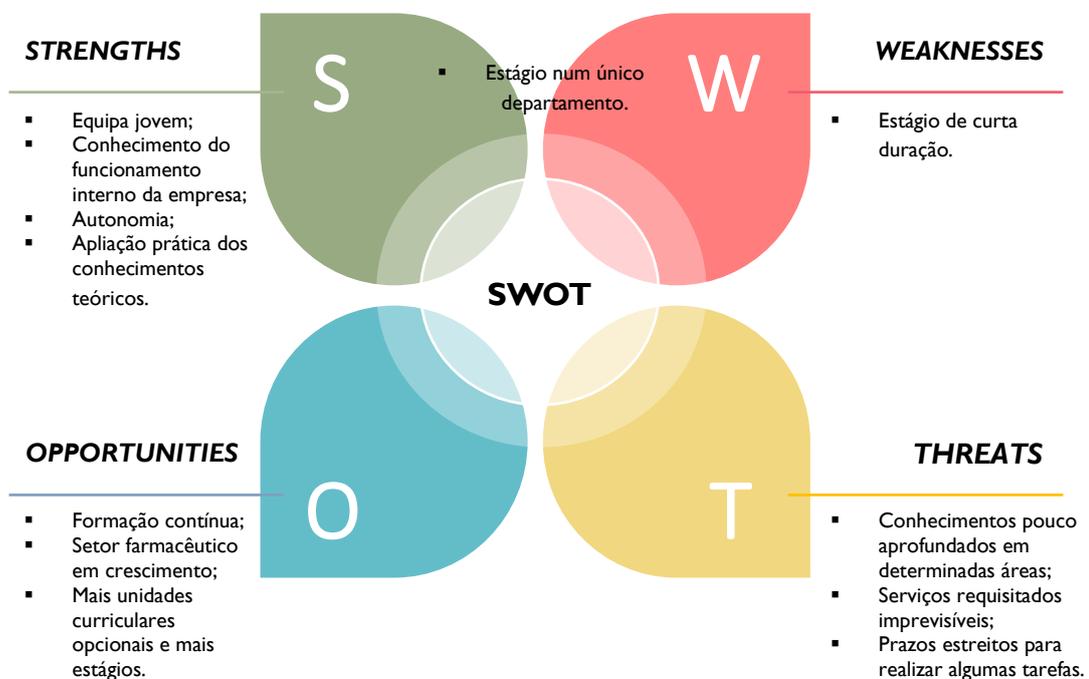
3. ANÁLISE SWOT

Uma análise SWOT consiste na identificação de pontos fortes (*Strengths*) e pontos fracos (*Weaknesses*), bem como as oportunidades (*Opportunities*) e ameaças (*Threats*) às quais a organização está exposta. Esta ferramenta é geralmente utilizada como base para a gestão e planeamento estratégico de uma empresa, promovendo uma análise da situação interna (pontos fortes e pontos fracos) e da situação externa (oportunidades e ameaças)³.

Esta técnica de análise pode ser utilizada para estudar não só a empresa, mas também o contexto onde ela se insere, permitindo definir objetivos com vista ao delineamento de um plano de ação estratégico.

Devido à versatilidade desta ferramenta, a análise SWOT pode ser utilizada para situações mais simples, como a análise crítica do estágio curricular realizado na Phagecon, de modo a obter uma visão geral daquilo que deve ser melhorado e daquilo que pode ser mantido. Assim, de seguida, apresento um esquema resumo (Tabela I) com a minha análise SWOT.

Tabela I: Análise SWOT do estágio na Phagecon – Serviços e Consultoria Farmacêutica Lda.



3.1. PONTOS FORTES

▪ **Equipa jovem**

A Phagecon é composta por colaboradores bastante jovens, o que na minha perspetiva facilitou o relacionamento entre os colaboradores e os estagiários, bem como a integração nos respetivos departamentos.

Não apenas o departamento em que estava inserida, mas toda a equipa, mostrou sempre disponibilidade para me auxiliar em qualquer situação, transmitindo-me confiança, mas mantendo sempre o sentido de responsabilidade, o que na minha opinião foi fundamental para crescer enquanto profissional.

▪ **Conhecimento do funcionamento interno da empresa**

No primeiro dia de estágio, foi feita uma abordagem geral da empresa, bem como a disponibilização do Manual da Qualidade a todos os estagiários. O Manual da Qualidade apresenta e contextualiza a empresa, explica o seu funcionamento detalhando a sua estrutura organizacional, apresentando os processos que constituem o SGQ e discriminando as diferentes responsabilidades.

Para além do Manual da Qualidade tive também acesso aos procedimentos escritos que descrevem as atividades chave executadas pela Phagecon, sejam atividades transversais a toda a organização, sejam atividades específicas de cada departamento. O acesso a esta informação ajudou-me muito a perceber a contextualização da empresa, as tarefas que desenvolve, bem como o modo como as executa. Este conhecimento foi muito útil para desempenhar as tarefas relacionadas com a obtenção da certificação pela Norma ISO 9001:2015.

▪ **Autonomia**

Desde o início do estágio que todos os colaboradores do QAD me incumbiram diversas tarefas que iam aumentando em dificuldade e complexidade, depositando sempre um grande sentimento de confiança e responsabilidade.

Houve também uma preocupação constante em me delegar tarefas o mais diversificadas possível para que pudesse contactar com a maior variedade possível de projetos e pudesse alargar os meus conhecimentos nas várias áreas em que o QAD está envolvido, durante todo o período de estágio.

- **Aplicação prática dos conhecimentos teóricos**

Uma mais valia deste estágio foi sem dúvida o facto de poder colocar em prática conhecimentos adquiridos ao longo do MICF. Através de unidades curriculares como Gestão e Garantia de Qualidade, Assuntos Regulamentares, Deontologia e Legislação Farmacêutica, entre outras, adquiri conhecimentos que foram extremamente úteis para a execução das variadíssimas tarefas que me foram delegadas ao longo do estágio.

Apesar dos conhecimentos já apreendidos durante o curso, este estágio permitiu-me lembrar, sistematizar e aplicar os conceitos teóricos a situações reais, que constituem o dia-a-dia de empresas e indústrias farmacêuticas, tendo sido sem dúvida um ponto forte do estágio.

3.2. PONTOS FRACOS

- **Estágio de curta duração**

Como ponto fraco gostaria de destacar a duração do estágio, pois apenas três meses para um mundo tão vasto como é o da consultoria é insuficiente, devido à enorme variedade de tarefas passíveis de serem executadas. É impossível lidar com todo o tipo de projetos num tão curto espaço de tempo, principalmente por se tratar de uma consultora as tarefas desempenhadas durante o estágio estão dependentes dos pedidos dos clientes durante esse período, não sendo possível desempenhar todas as tarefas e por vezes ter que repetir tarefas que já tinha realizado.

- **Estágio num único departamento**

Na minha perspetiva, a realização do estágio num único departamento pode ser considerada tanto um ponto forte, como um ponto fraco.

Por um lado, gostava de ter contactado com os restantes departamentos da Phagecon, pois seria uma mais valia em termos profissionais conhecer outras realidades, bem como os projetos em que os restantes departamentos estão envolvidos. Contudo, também compreendo que três meses é insuficiente para poder conhecer e adquirir conhecimentos relacionados com os vários departamentos e com as atividades que estes exercem, acabaríamos por perder o foco e não tiraríamos partido de nenhuma das áreas em particular, por isso considero que foi a decisão mais acertada.

3.3. OPORTUNIDADES

▪ Formação contínua

No decurso dos três meses de estágio, tive a oportunidade de assistir a todas as formações que decorreram nas instalações da Phagecon, relativas tanto ao QAD como a outros departamentos, o que considero um ponto muito positivo deste estágio.

Quero realçar a formação em Boas Práticas de Distribuição (BPD), com a Dr.^a Florbela Martins, que foi muito elucidativa e me auxiliou muito para perceber um pouco melhor o meio da distribuição farmacêutica, bem como, a implementação prática das normas presentes no manual de BPD. Ao longo do curso há um maior foco na componente teórica, descorando um pouco a vertente prática, daí a mais valia destas formações adicionais, de maneira a consolidar os conhecimentos anteriormente apreendidos.

▪ Setor farmacêutico em crescimento

A área da consultoria é um setor cada vez mais solicitado por médias e grandes empresas na área da indústria farmacêutica para a execução de variadíssimas tarefas dentro dos vários departamentos. É também um setor que emprega muitos farmacêuticos, sendo as empresas de consultoria farmacêutica constituídas essencialmente por farmacêuticos. Deste modo, na minha perspetiva, ter experiência de estágio numa consultora, pode ser um fator decisivo para a entrada no mercado de trabalho na área de indústria farmacêutica, principalmente no desempenho de tarefas relacionadas com a Garantia de Qualidade.

- **Mais unidades curriculares opcionais e mais estágios**

Considero que seria vantajoso e enriquecedor, que ao longo do curso fossem disponibilizadas mais unidades curriculares opcionais na área da indústria farmacêutica, bem como a existência de mais estágios curriculares para que o conhecimento fosse assimilado gradualmente e para que pudéssemos relacionar mais facilmente o conhecimento teórico com a prática profissional.

Desta forma, considero que seria uma grande mais valia e uma boa forma de nos destacarmos dos demais, se tivéssemos a oportunidade de realizar mais estágios ao longo do MICF, nas possíveis áreas de empregabilidade. Poderíamos adquirir mais conhecimentos práticos, aumentar a nossa experiência profissional e alargar também o nosso leque de contactos a nível profissional, o que hoje em dia é um fator por vezes decisivo.

3.4. AMEAÇAS

- **Conhecimentos pouco aprofundados em determinadas áreas**

No MICF existe apenas uma unidade curricular relativa à Gestão e Garantia de Qualidade, o que na minha opinião é insuficiente tendo em conta as variadíssimas tarefas que podem ser executadas pelo QAD.

Apesar de saber que seria insustentável lecionar todas as unidades curriculares de forma aprofundada, penso que seria benéfico orientar o ensino da cadeira “Gestão e Garantia de Qualidade” tendo em conta a vertente mais prática usando exemplos concretos, e não tanto teórica. Isso seria uma mais valia e ter-me-ia ajudado muito na execução das várias tarefas que me foram incumbidas durante o estágio.

- **Serviços requisitados imprevisíveis**

Devido à tipologia de serviços requisitados pelos clientes ao QAD da Phagecon terem carácter imprevisível e terem normalmente prazos de entrega curtos, tornou-se por vezes difícil, para a orientadora, a atribuição de tarefas a realizar durante o estágio com maior antecedência, pois tal está constantemente dependente das solicitações efetuadas pelos clientes.

- **Prazos estreitos para realizar algumas tarefas**

Outra ameaça que pôs em causa o sucesso do estágio, foi o facto de alguns dos prazos estabelecidos para a realização de algumas tarefas serem bastante curtos, sendo necessária uma grande capacidade de organização e gestão para que todos os projetos fossem executados nos prazos previstos, sendo que por vezes é necessário optar por executar um projeto ou outro para que estes possam ser exequíveis em tempo útil.

Estas situações criam ansiedade em toda a equipa, mas que para mim enquanto estagiária essa ansiedade nunca foi transmitida de forma negativa, tendo-me sido dada liberdade para executar as tarefas ao meu ritmo, mas sempre com sentido de responsabilidade.

4. CONCLUSÃO

Considero que esta experiência profissional foi muito enriquecedora para poder aplicar e desenvolver, em contexto profissional, os conhecimentos teóricos que foram adquiridos ao longo destes cinco anos. Na minha opinião, apesar do plano de estudos do MICF já ser bastante multidisciplinar, dada a nova realidade do setor farmacêutico, o plano deveria ser reajustado para se adaptar às novas exigências do setor e às novas competências que são desejáveis para os farmacêuticos de hoje em dia.

É fundamental que mais empresas, tal como a Phagecon, estejam disponíveis a receber estagiários, de modo a contribuírem para a formação de profissionais cada vez mais versáteis, competentes e com conhecimentos abrangentes, por forma a destacar-se dos restantes.

A minha experiência profissional na Phagecon foi bastante positiva, pois permitiu-me presenciar a verdadeira realidade do mundo do trabalho e lidar com a dinâmica diária de uma empresa, que até então desconhecia. Adquiriti imensos conhecimentos relacionados com a área da Garantia da Qualidade, com a distribuição farmacêutica e também com a regulamentação de suplementos alimentares e de cosméticos, permitindo enriquecer a minha formação e possivelmente abrir portas na área da indústria farmacêutica.

Certamente que tudo o que aprendi ao longo destes três meses me vai ser muito útil no futuro, foi uma experiência que me fez crescer enquanto profissional e enquanto pessoa, todos os conhecimentos não só relacionados com o trabalho em si, mas também a dinâmica da empresa, o trabalho em equipa e o relacionamento interpessoal, foi sem dúvida muito gratificante.

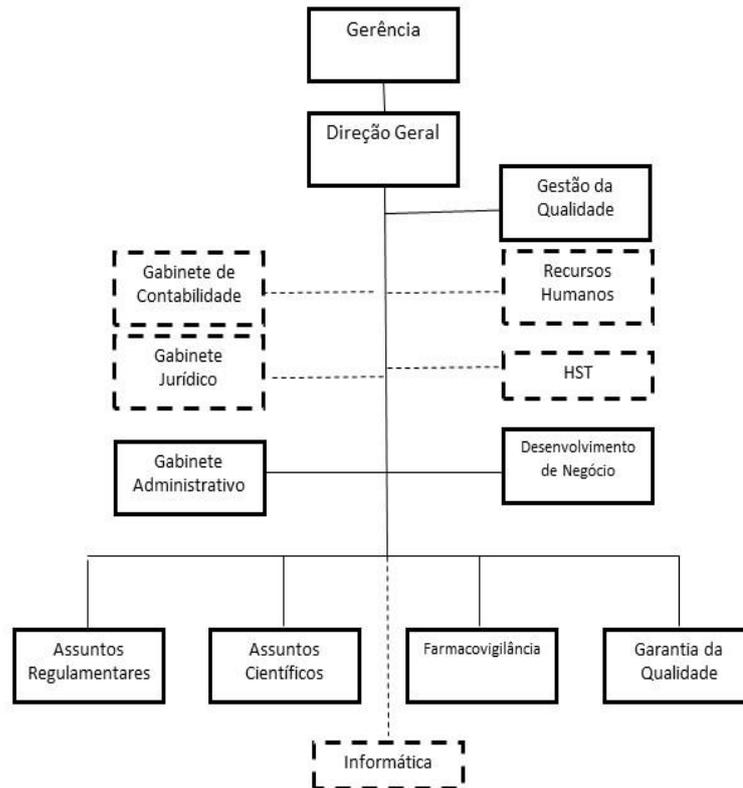
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Phagecon. Manual da Qualidade.** (2018).
2. **Phagecon - Pharmaceutical Services and Consulting.** [Acedido a 8 de março de 2018]. Disponível na Internet: <http://www.phagecon.pt/>.
3. SAMMUT-BONNICI, T. and GALEA, D. **SWOT Analysis.** Wiley Encyclopedia of Management (2015) 1–8.

6. ANEXOS

ANEXO I – Estrutura organizacional da Phagecon – Serviços e Consultoria Farmacêutica, Lda.¹

ORGANIGRAMA Phagecon - Serviços e Consultoria Farmacêutica, Lda.



Edição : 08

PARTE II – RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA



farmáciacoimbra

Orientadora: Dr.^a Ana Leite e Silva

ABREVIATURAS

| | |
|--------------|--|
| DT | Diretora Técnica |
| FFUC | Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra |
| MICF | Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas |
| MNSRM | Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica |
| MSRM | Medicamentos Sujeitos a Receita Médica |
| STS | <i>Still the Same</i> |
| SWOT | <i>Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats</i> |
| UC | Unidade Curricular |

I. INTRODUÇÃO

Com o culminar do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) torna-se imprescindível pôr em prática todos os conhecimentos adquiridos ao longo dos últimos cinco anos, tendo sempre presente que a responsabilidade do farmacêutico se centra na saúde e bem-estar do doente e do cidadão em geral.¹ Por isso, é assim fulcral, na minha perspetiva, a existência do estágio curricular em farmácia comunitária, pois para além das variadíssimas oportunidades, nos diversos ramos da área farmacêutica que o MICF nos proporciona, a farmácia comunitária continua a ser o setor que mais farmacêuticos emprega e a área para a qual temos mais formação ao longo do curso.

A farmácia comunitária, apesar das dificuldades que tem atravessado nos últimos anos, continua a estar numa posição privilegiada relativamente a outros cuidados de saúde primários, em virtude dos horários alargados, da fácil acessibilidade e da presença constante de profissionais de saúde detentores de conhecimentos aprofundados, disponíveis para encaminhar ou solucionar os problemas do doente. Assim, a nós farmacêuticos, cabe-nos a responsabilidade de manter essa posição privilegiada, oferecendo o melhor ao doente honrando sempre a profissão.

Posto isto, o meu estágio curricular em farmácia comunitária decorreu na Farmácia Coimbra, localizada no centro comercial *CoimbraShopping*, orientado pela Diretora Técnica (DT), Dr.^a Ana Carina Gomes Leite e Silva, com a duração de quatro meses.

De seguida, irei fazer uma análise crítica do estágio, tendo em conta as atividades desenvolvidas e os conhecimentos adquiridos ao longo do mesmo, utilizando os princípios da análise SWOT, realçando os pontos fortes (*Strengths*), os pontos fracos (*Weaknesses*), as oportunidades (*Opportunities*) que o estágio me proporcionou, e as ameaças (*Threats*) que podiam pôr em causa o sucesso do estágio.

2. FARMÁCIA COIMBRA – ORGANIZAÇÃO

Farmácia Coimbra localiza-se no centro comercial *Coimbra Shopping*, na zona do Vale das Flores, em Coimbra, desde 2011.

O horário de funcionamento, por se tratar de uma farmácia de centro comercial, é condicionado pelo período de abertura do mesmo, pelo que se encontra aberta todos os dias, sendo que, de segunda a quinta-feira funciona das 9h às 23h, sextas, sábados e vésperas de feriado das 9h à 00h e domingos e feriados das 9h às 22h, realizando também serviço permanente quando definido.

A Farmácia Coimbra é constituída por uma equipa multidisciplinar, em que para além da Dr.^a Ana Leite e Silva, que tal como referi anteriormente, assume o cargo de DT e de responsável de loja, a farmácia é ainda constituída por mais seis farmacêuticos, três técnicos de farmácia e uma técnica auxiliar de farmácia.

Relativamente à gestão, a Farmácia Coimbra é propriedade de uma empresa, denominada *Walk on By, Lda.*, contudo a gestão da Farmácia Coimbra fica a cargo de um grupo gestor de farmácias, intitulado por *Still the Same (STS)*, sediado no Porto. O grupo STS, que assume funções essencialmente financeiras, para além da Farmácia Coimbra, gere outras farmácias localizadas noutros pontos do país, tais como, Porto, Braga, Guimarães, Leiria, Montijo, Albufeira e Faro.

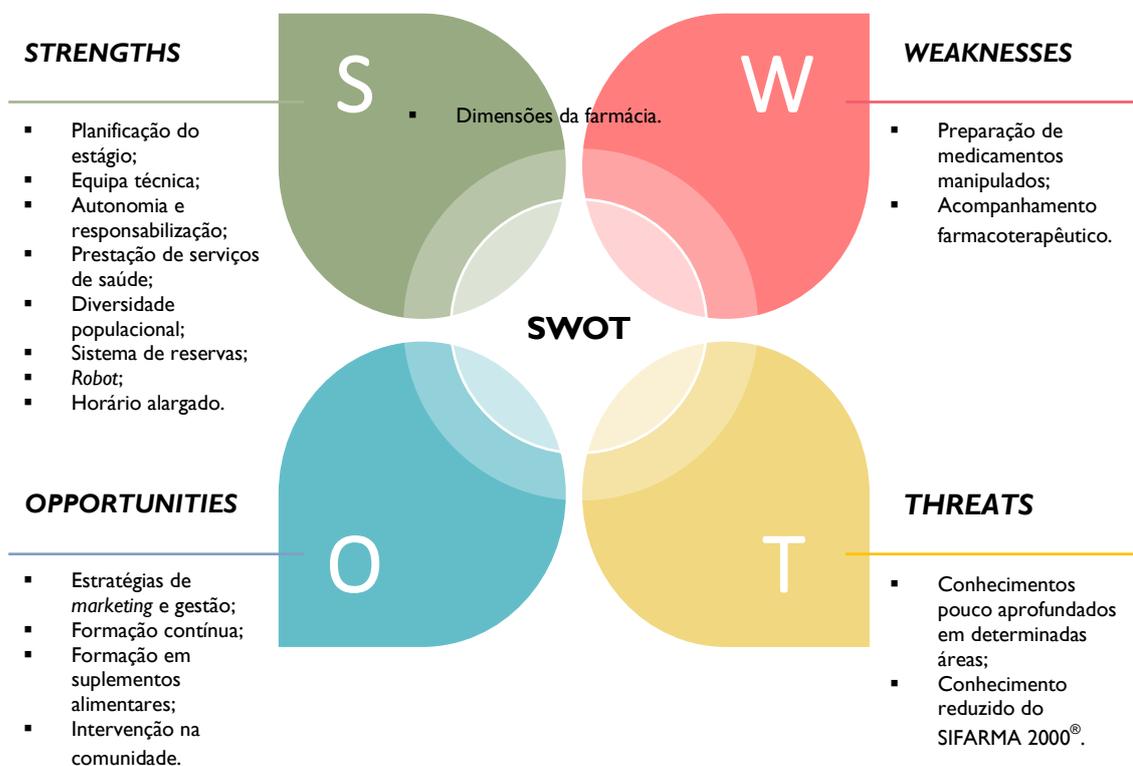
3. ANÁLISE SWOT

A análise SWOT (**S**trengths, **W**eaknesses, **O**pportunities, **T**hreats) é uma ferramenta vulgarmente utilizada no âmbito empresarial, de modo a caracterizar a posição estratégica de uma organização num determinado momento, recorrendo a uma autoanálise tanto a nível interno (pontos fortes e pontos fracos), como a nível externo (oportunidades e ameaças).²

Dada a simplicidade desta ferramenta, esta pode ser aplicada a cenários menos complexos, como a análise do estágio curricular na Farmácia Coimbra, permitindo-me fazer uma análise cuidadosa do mesmo, de modo a obter uma visão geral daquilo que, na minha opinião, deve ser melhorado e do que deve ser mantido, como o objetivo de tornar o estágio em farmácia comunitária uma experiência ainda mais enriquecedora tanto a nível pessoal, como a nível profissional.

De seguida, apresento um esquema resumo (Tabela I) com a minha análise SWOT e posteriormente debruço-me sobre cada um dos pontos isoladamente.

Tabela I: Análise SWOT do estágio na Farmácia Coimbra.



3.1. PONTOS FORTES

- **Planificação do estágio**

A planificação inicial do estágio, na minha opinião, foi sem dúvida uma mais valia para o sucesso do mesmo. Os dois primeiros meses, aproximadamente, centraram-se essencialmente no *backoffice*, em que comecei por desempenhar tarefas relacionadas com a receção de encomendas, reposição de *stocks*, organização de lineares, organização de receituário, contagens físicas e verificação de prazos de validade, bem como a medição da pressão arterial, glicémia e colesterol total.

As tarefas de *backoffice* permitiram-me um maior conhecimento dos medicamentos e dos restantes produtos que a farmácia dispõe, associar os princípios ativos aos nomes comerciais, bem como conhecer a sua localização dentro da farmácia, facilitando, numa fase posterior, um melhor e mais rápido aconselhamento/atendimento dos utentes. As medições da pressão arterial, bem como dos restantes parâmetros fisiológicos e bioquímicos disponibilizados pela farmácia, permitiram-me o primeiro contacto com o utente, melhorando a minha capacidade de comunicação e adaptação do discurso a cada utente em particular.

Esta fase inicial, permitiu-me também a interação com o *software* SIFARMA 2000[®], primeiramente, nas funções mais relacionadas com a receção e gestão de encomendas e numa fase posterior, um conhecimento mais aprofundado ao nível das funções relacionadas com o atendimento, consolidadas durante o segundo mês de estágio enquanto assistia aos atendimentos realizados pelos colegas de equipa.

No final do segundo mês, a realização de tarefas de *backoffice* foi diminuindo gradualmente, passando o meu estágio, a centrar-se essencialmente no atendimento ao público. Os primeiros atendimentos foram supervisionados, mas rapidamente me foi dada autonomia para atender sem supervisão, mas estando todos os colegas sempre disponíveis para responder a qualquer dúvida que surgisse durante os atendimentos.

Posto isso, acho que esta interação gradual com os utentes foi sem dúvida um ponto forte do meu estágio, possibilitando uma aprendizagem progressiva dos medicamentos e restantes produtos existentes na farmácia e da forma como lidar com os vários utentes, de modo a proporcionar o melhor aconselhamento possível.

▪ **Equipa técnica**

Na minha perspetiva, o facto de a equipa técnica ser bastante jovem facilitou claramente a interação e o relacionamento entre os colaboradores e os estagiários, bem como a integração no ambiente de trabalho.

Desde o início que toda a equipa se mostrou bastante receptiva e acolhedora, sempre disponível para esclarecer qualquer dúvida que surgisse, colocando-me sempre à vontade em todas as situações. Durante a fase em que assistia aos atendimentos foi muito vantajoso este bom relacionamento, pois adquiri muitos conhecimentos com todos eles, ajudando-me a crescer não só como profissional, mas também como pessoa.

▪ **Autonomia e responsabilização**

Desde o primeiro dia de estágio, que tanto a DT como os restantes colaboradores, me incumbiram tarefas que iam aumentando em dificuldade e em complexidade, permitindo de forma gradual, a aprendizagem e o crescimento do sentido de responsabilidade. Ao longo de todo o estágio foi-me dada autonomia, e depositado um grande sentimento de confiança, mas sempre com a consciência que os meus atos, principalmente na fase de atendimento ao balcão, podiam trazer consequências para os utentes.

Esta autonomia e responsabilização que me foi atribuída, permitiu que fosse crescendo e aprendendo com os erros que ia cometendo ao longo das várias fases do estágio, tendo sido, por isso, uma grande mais valia ao nível do processo de aprendizagem.

▪ **Prestação de serviços de saúde**

A Farmácia Coimbra para além de possuir consultas de nutrição quinzenais, rastreios capilares e dermatológicos com alguma regularidade, tem também à disposição dos seus utentes a avaliação de parâmetros fisiológicos e bioquímicos, tais como, peso, pressão arterial, glicémia e colesterol total. Estes serviços proporcionaram-me, como referi anteriormente, a minha primeira interação com os utentes, melhorando o meu relacionamento interpessoal, bem como, solidificar os meus conhecimentos em áreas terapêuticas, como a hipertensão arterial, a *Diabetes mellitus* e a hipercolesterolemia. Estes serviços possibilitaram-me a oportunidade de realizar pela primeira vez o aconselhamento ao utente, lembrando-o da importância da adesão à terapêutica, incentivando-o a um estilo

de vida saudável, bem como, realçar a relevância da monitorização contínua dos parâmetros tanto bioquímicos, como fisiológicos.

Para além destes serviços a Farmácia Coimbra dispõe também do programa Valormed[®], que se baseia na recolha de medicamentos fora de uso, fora do prazo de validade ou embalagens vazias, ato de extrema importância para a saúde pública e ambiental.³ Ao longo do estágio, pude comprovar que este serviço é muito utilizado e valorizado pelos utentes, contudo muitos deles ainda o desconhecem, sendo por isso da responsabilidade do farmacêutico, alertar os utentes para a sua existência e importância.

- **Diversidade populacional**

O facto da Farmácia Coimbra se localizar num centro comercial permite que o público alvo seja bastante diversificado, englobando pessoas de diferentes faixas etárias, com diferentes graus de escolaridade, de diferentes culturas e com capacidades económicas também diferentes. Esta diversidade torna o trabalho do farmacêutico ainda mais desafiante, pois é necessário adaptar o nosso discurso e postura tendo em conta o utente em causa, tornando o nosso atendimento o mais personalizado possível.

A diversidade populacional com que lidei durante o estágio, permitiu-me também o contacto com variadíssimas situações clínicas, levando a uma grande assimilação de conhecimentos em diversas áreas terapêuticas, tendo sido por isso uma mais valia.

- **Sistema de reservas**

Considero que o facto de a farmácia possuir um sistema de reservas completamente instituído e funcional contribuiu positivamente para o meu estágio. Dada a diversidade de medicamentos e produtos de saúde existentes no mercado, é incomportável possuí-los a todos nas instalações da farmácia. Assim, de modo a poder dar resposta a todas as solicitações dos utentes, a Farmácia Coimbra utiliza diariamente o sistema de reservas que permite, o mais tardar em dois dias úteis, dar resposta às necessidades de todos os utentes. Este sistema permitiu-me, ao longo do estágio, poder dar sempre uma opção ao utente, quando não possuíamos o produto nas instalações da farmácia, sendo vantajoso tanto para a farmácia como para o utente.

- **Robot**

O facto de a farmácia possuir um *robot* foi também um ponto forte do meu estágio, pois este sistema permite um armazenamento e dispensa automática dos medicamentos, proporcionando uma automatização dos processos e consequentemente uma rentabilização do tempo, permitindo dedicar o tempo economizado ao atendimento e contacto com o utente.

Para além do espaço e do tempo que se poupa no armazenamento e na procura do medicamento aquando do atendimento, o *robot* permite também uma mais fácil gestão de *stocks* e controlo de prazos de validade, uma vez que, dispensa sempre primeiro as embalagens cuja validade é menor.

Outra grande vantagem da existência de um *robot* nas instalações da farmácia, é a minimização de erros durante a dispensa dos medicamentos, uma vez que o *robot* liberta os medicamentos diretamente de acordo com os códigos presentes na receita médica, diminuindo as falhas humanas durante este processo.

- **Horário alargado**

O horário de funcionamento alargado da Farmácia Coimbra, referido anteriormente, foi sem dúvida um ponto forte do meu estágio, pois para além de me possibilitar ter um horário rotativo semanal, estando alternada com a outra estagiária da farmácia, o estágio não se tornava monótono permitindo-me realizar tarefas diferentes. Para além disso, deu-me a possibilidade de perceber que o perfil das pessoas que frequenta a farmácia durante o dia, normalmente pessoas mais idosas, é diferente das pessoas que frequentam a farmácia no período mais noturno.

Com o início do atendimento ao público, foi-me também permitido trabalhar alguns fins-de-semana e feriados em que a dinâmica da farmácia muda completamente, há maior fluxo de pessoas com diversas situações clínicas, sendo que a maior parte conjuga a necessidade de ir ao centro comercial com a ida à farmácia.

3.2. PONTOS FRACOS

▪ **Preparação de medicamentos manipulados**

Um dos pontos fracos do meu estágio na Farmácia Coimbra foi a preparação de medicamentos manipulados. O decréscimo da procura, aliado ao facto de a Farmácia Coimbra pertencer a um grupo de farmácias (STS), determinou que a preparação dos medicamentos manipulados, solicitados à Farmácia Coimbra e às restantes farmácias do grupo, seria efetuada numa farmácia do grupo localizada no Porto.

Por tal motivo, durante o meu estágio, apenas procedi à preparação de um medicamento manipulado, que é preparado quinzenalmente na farmácia e atualmente é o único, uma vez que as restantes solicitações são encaminhadas para a farmácia do Porto. O medicamento preparado é a solução oral de cloridrato de propranolol a 0,5% (m/V), de modo a personalizar a terapêutica, neste caso para uma criança. Em anexo (Anexo I), encontra-se a receita do medicamento manipulado, bem como a ficha de preparação, o rótulo do frasco e a folha de cálculo do preço de venda ao público.

▪ **Acompanhamento farmacoterapêutico**

Apesar dos inúmeros serviços de que a Farmácia Coimbra já dispõe, existe uma grande lacuna, que penso que será geral nas farmácias portuguesas, ao nível do acompanhamento farmacoterapêutico dos doentes.

Apesar do *software* SIFARMA 2000[®] dispor da funcionalidade de criação de fichas de utente, bem como do registo dos medicamentos e restantes produtos de saúde que aquele utente em concreto compra na farmácia, ainda não se efetua o registo, por exemplo, das patologias do utente, nem de possíveis alergias. Devido à falta de conexão entre o centro de saúde/hospital e a farmácia, e também inter-farmácias, erros de medicação, duplicações, interações e possíveis contraindicações são muito difíceis de detetar se não houver uma procura direta por parte do utente para este serviço.

Na minha opinião, a localização da farmácia dificulta a implementação destes serviços, pois muitas vezes as pessoas estão apenas de passagem. Contudo, dado o crescente número de utentes idosos e polimedicados com que me deparei durante o estágio, acho que seria

uma mais valia se a farmácia possuísse estes serviços, não só para enriquecimento do meu estágio, mas claro para a melhoria do bem-estar dos utentes.

- **Dimensões da farmácia**

A dimensão relativamente grande da Farmácia Coimbra, na minha perspetiva, pode ser considerada tanto um ponto forte, como um ponto fraco.

Por um lado, a grandeza da farmácia proporciona o contacto com um vasto número de produtos, como medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM), medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM), produtos de dermocosmética, produtos de puericultura, suplementos alimentares, assim como outros produtos relacionados com emagrecimento. Este vasto leque de produtos, se por um lado aumenta o número de possibilidades a oferecer aos utentes, por outro lado, numa fase inicial é muito complicado tomar a decisão de optar por um produto em detrimento de outro devido ao baixo conhecimento sobre todos os produtos de que a farmácia dispõe.

Uma outra consequência que advém da grandeza da farmácia é o difícil controlo sobre a manutenção correta dos *stocks* da farmácia. Erros de *stock*, tanto por excesso, como por defeito, levam à não encomenda espontânea dos produtos, caso o limiar do *stock* mínimo e máximo seja baixo, e consequentemente à não vinda dos produtos que se encontram erradamente com *stock* positivo, ou por outro lado, podem levar à encomenda de produtos que se encontram na farmácia, mas que estão erradamente com *stock* negativo.

3.3. OPORTUNIDADES

- **Estratégias de *marketing* e gestão**

Uma das oportunidades que o estágio na Farmácia Coimbra me proporcionou foi o facto de me permitir estar em contacto com diversas estratégias de *marketing*, como por exemplo, a promoção das campanhas em vigor através da conta de *facebook* da farmácia, a colocação de cartazes publicitários alusivos a diversas marcas, a reorganização dos produtos nas gôndolas e nas montras, colocação de *flyers* nos sacos ou sacos previamente impressos com referência às marcas, bem como campanhas de divulgação de produtos, recorrendo ao

auxílio de promotoras delegadas pelas marcas para atuarem junto dos utentes dando-lhes a conhecer os seus produtos.

Para além de estratégias de *marketing*, também adquiri alguns conhecimentos na área de gestão, que é sem dúvida um setor em que o farmacêutico se deve conseguir destacar para garantir o sucesso da farmácia. No caso em concreto da Farmácia Coimbra, esta encontra-se inserida num grupo de farmácias, tal como referi anteriormente, que lhe confere algumas vantagens económicas, nomeadamente a obtenção de produtos com preços mais atrativos, uma vez que as compras são feitas em maior quantidade. Contudo, em contrapartida, este método de gestão por vezes não é adequado às necessidades de cada farmácia levando ao excesso de determinados produtos em detrimento da escassez de outros.

▪ **Formação contínua**

Outra oportunidade que a Farmácia Coimbra me ofereceu foi a possibilidade de assistir às diversas formações, que decorreram nas instalações da farmácia durante o período de estágio. Estas formações eram dirigidas por delegados de informação médica que se deslocavam à farmácia para promover as suas marcas e fazer esclarecimentos sobre os seus produtos. As formações centraram-se essencialmente na área da dermocosmética e proteção solar, mas também produtos para emagrecimento, leites e papas infantis, bem como esclarecimentos sobre novos aparelhos medidores de glicémia.

Os conhecimentos adquiridos ao longo das formações foram sem dúvida bastante importantes para conhecer melhor os produtos que a farmácia dispõe, consolidar e adquirir conhecimentos sobre determinadas áreas e produtos, de forma a proporcionar um melhor aconselhamento terapêutico.

▪ **Formação em suplementos alimentares**

No decurso do estágio, durante a fase mais inicial, foi-me dada a possibilidade, juntamente com a outra estagiária da farmácia, de elaborar um trabalho sobre os suplementos alimentares existentes na farmácia.

O trabalho consistiu essencialmente em agrupar os diversos suplementos por ação terapêutica (por exemplo, distúrbios do sono, infeções urinárias, multivitamínicos gerais,

etc.) associando o nome do suplemento, aos componentes maioritários do mesmo, que eram responsáveis pela ação terapêutica. Assim, desta forma, no caso de um suplemento novo ou observando apenas o rótulo, tendo em conta os seus componentes, facilmente é possível determinar a sua função principal.

Este trabalho permitiu-me consolidar e relembrar os conhecimentos adquiridos nas unidades curriculares (UCs) de Plantas Medicinais e Intervenção Farmacêutica em Autocuidados de Saúde e Fitoterapia, bem como, melhorar o meu aconselhamento ao utente quando este solicitava alguns destes produtos ou quando eu própria lhe propunha a sua utilização.

▪ **Intervenção na comunidade**

Para além de todo o conhecimento adquirido, o estágio forneceu-me a oportunidade de interagir junto dos utentes testemunhando as suas preocupações e tentando solucionar ou atenuar os seus problemas. Permitiu-me também contactar com diferentes pessoas, com pontos de vista também diferentes, ajudando-me a aperfeiçoar as minhas capacidades de comunicação, de forma que o utente percebesse aquilo que lhe tentava transmitir e que ficasse o mais esclarecido possível. Considero estas aprendizagens uma mais valia enquanto profissional e enquanto pessoa, pois independentemente do meu percurso profissional, serão certamente úteis.

3.4. AMEAÇAS

▪ **Conhecimentos pouco aprofundados em determinadas áreas**

Uma das situações que ameaçou o sucesso do meu estágio foi a falta de conhecimentos mais aprofundados nas áreas da dermofarmácia e cosmética, medicamentos de uso veterinário, medicamentos oftalmológicos e produtos de puericultura.

Ao longo do estágio algumas formações na área da dermofarmácia e cosmética permitiram-me colmatar algumas lacunas neste ramo, contudo devido à grande quantidade de gamas dentro de cada marca torna-se um processo complexo aquando do aconselhamento ao utente, devido à imensidão de produtos que podem ser sugeridos para cada caso em específico. Na minha opinião, a UC de Dermofarmácia e Cosmética deveria

ser orientada mais para a sua vertente prática e não tanto para a sua vertente teórica de modo a tentar atenuar esta falta de conhecimentos perante situações práticas. O mesmo acontece com a UC de Preparações de Uso Veterinário, em que deviam ser abordados temas que mais frequentemente são solicitados aos farmacêuticos de farmácia de oficina e não tanto temas que, por norma, ocorrem mais em ambiente veterinário.

Relativamente à área de oftalmologia, senti falta de preparação e conhecimentos quando os utentes me questionavam sobre este assunto. Penso que seria importante haver uma maior abordagem sobre esta área ao longo do curso, de forma a podermos proporcionar um melhor aconselhamento ao utente. Também em relação aos produtos de puericultura o meu conhecimento era muito reduzido, devido à falta de formação neste âmbito ao longo do MICF.

É cada vez mais importante termos uma boa formação ao nível dos produtos que envolvem a saúde e o bem-estar do utente, para que consigamos destacar a farmácia dos locais de venda de produtos não sujeitos a receita médica e dos hipermercados e, para que os utentes nos valorizem cada vez mais relativamente aos restantes locais.

- **Conhecimento reduzido do SIFARMA 2000®**

Também o baixo conhecimento e preparação acerca do *software* SIFARMA 2000®, ao longo do MICF, na minha opinião ameaçou o sucesso do estágio. Apesar da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) disponibilizar formações teóricas e práticas sobre este sistema, implementado na maioria das farmácias portuguesas, é ainda insuficiente para adquirir alguma experiência e possuir alguma destreza aquando do início do estágio. Na minha perspetiva, seria vantajoso orientar as aulas teórico-práticas da UC Organização e Gestão Farmacêutica para o primeiro contacto e treino das diversas funcionalidades deste *software*, de modo que não seja necessário despender tanto tempo de estágio com esta aprendizagem, e possa ser dedicado mais tempo ao atendimento ao público.

4. CONCLUSÃO

O estágio curricular em farmácia comunitária, possibilitou-me pôr em prática diversos conhecimentos teóricos, de diversas UCs, adquiridos ao longo do curso, mas também me permitiu obter muitos outros, pois apesar da abrangência cada vez maior do MICF, nem todos os temas, nem todos os tipos de produtos disponíveis no mercado são debatidos em ambiente teórico.

A Farmácia Coimbra devido à sua localização, possui utentes muito diversificados, contribuindo positivamente para o meu estágio pois, permitiu-me lidar com variadíssimas situações clínicas, promovendo o aumento do meu conhecimento científico de dia para dia, e também com diversas personalidades que me estimularam a desenvolver capacidades de comunicação, de modo a saber escutar para posteriormente poder transmitir e direcionar a informação da forma mais adequada possível a cada pessoa, fornecendo um atendimento personalizado.

Este estágio foi sem dúvida uma experiência muito enriquecedora e desafiante que me fez crescer como profissional, mas também como pessoa, aumentando ainda mais o meu sentido de responsabilidade e de autonomia, com um crescimento gradual da segurança durante o aconselhamento ao utente, sempre com o apoio e ajuda constante de toda a equipa técnica. Durante estes quatro meses, tomei consciência do papel do farmacêutico na comunidade, da importância das suas competências técnicas e científicas e também da necessidade de se manter constantemente atualizado, de forma a responder prontamente às questões colocadas pelos utentes.

Em suma, considero que o estágio na Farmácia Coimbra superou, visivelmente, as minhas expectativas, fazendo-me sentir uma pessoa mais competente e preparada para enfrentar o futuro, mas sempre consciente da necessidade de formação contínua, de forma a poder prestar serviços de excelência à população.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos.[Acedido a 30 de julho de 2018]. Disponível na Internet: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/codigo_deontologico_da_of_4436676175988472c14020.pdf
2. SAMMUT-BONNICI, T. and GALEA, D. **SWOT Analysis**. Wiley Encyclopedia of Management (2015) 1–8.
3. **ValorMed - Quem somos?** 2018. [Acedido a 31 de julho de 2018]. Disponível na Internet: <http://www.valormed.pt/paginas/2/quem-somos/>

6. ANEXOS

ANEXO I – Preparação do Medicamento Manipulado

▪ Receita médica

| Receita Médica N° | | |
|--|--|--|
|  | |  |
| Nome:  | MM | |
| Telefone: _____ R.C.: _____ Unidade Responsável: SNS Nome de Beneficiário: _____ | | |
|  | Especialidade: CARDIOLOGIA PEDIÁTRICA Telefone: _____ | C.H.U.C. C.H.C.-H.P.-CEXT  |
| DCI / nome, dosagem, forma farmacêutica, embalagem, posologia | N.º Extenso | Identificação Ótica |
| Manipulado de Propranolol suspensão oral 5mg/ml Posologia: 4ml de 8h/8h | 2 Duas | |
| Validade: 30 dias Data: 2018-03-21 | _____ (assinatura do Médico Prescritor) | |

▪ Ficha de preparação de medicamentos manipulados



Ficha de Preparação de Medicamentos Manipulados

 Lote Nº:
006/18

 Data:
28/03/18

MEDICAMENTO MANIPULADO: Solução Oral de Cloridrato de Propranolol 5mg/ml (0.5%(m/V))

NOME DO DOENTE/CLIENTE:

NOME DO/A MÉDICO/A:

FORMA FARMACÊUTICA: Solução Oral

QUANTIDADE A PREPARAR: 200ml

VERIFICAR A LIMPEZA/ARRUMAÇÃO DO LABORATÓRIO ANTES DE INICIAR

 Rubrica Operador: 

| MATÉRIAS – PRIMAS | FABRICANTE/ DISTRIBUIDOR | Nº DE LOTE | VALIDADE | QUANTIDADES PESADAS/ MEDIDAS (em mg, g ou ml) | RUBRICA DO OPERADOR | VERIFICAÇÃO (Farmacêutico) |
|-------------------|--------------------------|------------|----------|---|---|---|
| Inderal 40mg | Astrazeneca | 72572 | 12/19 | 1000 mg |  |  |
| Água Purificada | Alvita | 17100065 | 10/2019 | 50 ml |  |  |
| Xarope Simples | Laborspirit | 68430 | 07/2018 | qbp 200ml |  |  |

PREPARAÇÃO:

Rubrica do Operador

| | |
|---|---|
| 1. Verificar o estado de limpeza do material a utilizar; |  |
| 2. Pulverizar em almofariz 25 comprimidos de Inderal até obtenção de um pó fino; |  |
| 3. Adicionar água purificada e cerca de 10ml de xarope simples; |  |
| 4. Misturar até obtenção de uma dispersão homogénea; |  |
| 5. Adicionar 30ml de xarope simples e homogeneizar; |  |
| 6. Transferir o preparado para uma proveta graduada, lavando o almofariz com 20 ml de xarope simples. |  |
| 7. Completar o volume de 200 ml com xarope simples; |  |
| 8. Transferir para frasco de vidro âmbar; |  |
| 9. Lavar e Secar o material utilizado. |  |

FORMA DE ACONDICIONAMENTO, EMBALAGEM E CAPACIDADE: Frasco de vidro âmbar, tipo III (FPVII): 2 frascos de 100ml

PRAZO DE UTILIZAÇÃO: 2 meses

CONDIÇÕES DE CONSERVAÇÃO: conservar no frigorífico, com o frasco bem fechado

NOME DO OPERADOR: Diana Ferreira

CONTROLO DO PRODUTO ACABADO:

| CARACTERÍSTICAS | RESULTADO | | OBSERVAÇÕES |
|--|---|---|--|
| | Conforme | Não Conforme | |
| Caracteres organolépticos (cor, cheiro, aspecto geral..) |  | | Solução límpida incolor ou ligeiramente rosada, homogénea após agitação. |
| pH |  |  | |
| Quantidade/massa/volume conforme com a prescrição |  | | 200 ml (±5%) |

CONCLUSÃO: Aprovado

Data: 28/03/2018

 RUBRICA DO OPERADOR: 

VERIFICAÇÃO:

 FARMACÊUTICO: 

Data: 28/03/2018

PARTE III – MONOGRAFIA: APLICAÇÃO TERAPÊUTICA DE NANOSSISTEMAS NO TRATAMENTO DA EPILEPSIA



Orientadora: Professora Doutora Ana Rita Figueiras

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|-----------|
| Figura 1: Representação esquemática da unidade neurovascular e dos componentes moleculares da BHE. | 47 |
| Figura 2: Estrutura dos lipossomas convencionais e funcionalizados. | 49 |
| Figura 3: Tipos de NPs utilizadas no transporte de fármacos. | 51 |
| Figura 4: Tipos de NLC comparativamente com a SLN ordenada. | 54 |
| Figura 5: Representação esquemática de diferentes tipos de NEs. | 55 |
| Figura 6: Representação esquemática de duas estratégias para a entrega de fármacos através de NMs. | 58 |

ABREVIATURAS

| | |
|----------------|---|
| BHE/BBB | Barreira Hematoencefálica / <i>Blood-Brain Barrier</i> |
| CBZ | Carbamazepina |
| CDs | <i>Carbon Dots</i> |
| DMSO | Dimetilsulfóxido |
| EcoG | Eletrocorticografia |
| EEG | Eletroencefalograma |
| EMA | <i>European Medicines Agency</i> |
| EGCG | Epigalocatequina-3-galato |
| FDA | <i>Food and Drug Administration</i> |
| GABA | Ácido gama-aminobutírico |
| GRAS | <i>Generally Recognized as Safe</i> |
| gp-P | Glicoproteína-P |
| GSH | Glutathiona |
| GST | Glutathiona-S-transferase |
| HPLC | Cromatografia Líquida de Alta Resolução |
| ILAE | <i>International League Against Epilepsy</i> |
| LDL | Lipoproteínas de Baixa Densidade |
| MDA | Malondialdeído |
| MDRI | <i>Multidrug Resistance Protein 1</i> |
| NE | Nanoemulsão |
| NLC | <i>Nanostructured Lipid Carriers</i> |
| NM | Nanopartícula Magnética |
| NP | Nanopartícula Polimérica |
| PBCA | Poli(butil)cianoacrilato / <i>Poly(butyl)cyanoacrylate</i> |
| PEG | Polietilenoglicol |
| PLA | Ácido poliláctico / <i>Poly(lactic acid)</i> |
| PLGA | Ácido poliláctico-co-glicólico / <i>Poly(lactic-co-glycolic acid)</i> |
| RES | Resveratrol |
| SLN | <i>Solid-Lipid Nanoparticles</i> |
| SNS/CNS | Sistema Nervoso Central / <i>Central Nervous System</i> |
| SOD | Superóxido Dismutase |

RESUMO

A epilepsia é uma doença que afeta cerca de 50 milhões de pessoas em todo o mundo, sendo que das quais um terço é resistente às terapêuticas convencionais. O principal obstáculo dos fármacos que atuam ao nível do sistema nervoso central (SNC) é a passagem através da barreira hematoencefálica (BHE). De modo a contornar este problema, desenvolveram-se diversos nanossistemas, entre os quais, os lipossomas, as nanopartículas poliméricas, as nanopartículas lipídicas sólidas, os transportadores lipídicos nanoestruturados, as nanoemulsões e as nanopartículas magnéticas. No geral, a sua utilização como sistema de transporte de fármacos diminui a citotoxicidade, melhora as propriedades farmacocinéticas do fármaco, permitindo a libertação controlada do mesmo e ainda, através da funcionalização da nanopartícula o fármaco pode ser direcionado para os tecidos alvo. O objetivo principal deste trabalho é sumariar as vantagens e desvantagens dos nanossistemas mencionados, referenciando alguns exemplos concretos da sua aplicação no tratamento da epilepsia.

Palavras-chave: Epilepsia, Barreira Hematoencefálica, Lipossomas, Nanopartículas Poliméricas, Nanopartículas Lipídicas Sólidas, Transportadores Lipídicos Nanoestruturados, Nanoemulsões, Nanopartículas Magnéticas.

ABSTRACT

Epilepsy is a disease that affects about 50 million of people in the worldwide, of which one third is resistant to the conventional therapies. The main obstacle for drugs that act at the central nervous system (CNS) level is the passage through the blood-brain barrier (BBB). In order to overcome this problem, several nanosystems have been developed, including liposomes, polymeric nanoparticles, solid lipid nanoparticles, nanostructured lipid carriers, nanoemulsions and magnetic nanoparticles. In general, their use as drug delivery system decreases cytotoxicity, improves the pharmacokinetic properties of the drug, allowing controlled release. Moreover, through the functionalization of the nanoparticle, the drug can be directed to the target tissues. The main objective of this work is to summarize the advantages and disadvantages of the mentioned nanosystems, referring some concrete examples of their application in the treatment of epilepsy.

Keywords: Epilepsy, Brain Blood Barrier, Liposomes, Polymeric Nanoparticles, Solid Lipid Nanoparticles, Nanostructured Lipid Carriers, Nanoemulsions, Magnetic Nanoparticles.

I. INTRODUÇÃO

A epilepsia é uma doença já há muito conhecida, diversas referências a esta patologia podem ser encontradas em textos de civilizações antigas, contudo apenas durante o século XX com a invenção do eletroencefalograma (EEG), o avanço da neurocirurgia, a descoberta de fármacos antiepiléticos e com o delineamento dos mecanismos fisiopatológicos subjacentes à doença é que surgiram avanços mais significativos no conhecimento da patologia e respetivo diagnóstico e tratamento, porém muito há ainda por descobrir.¹

Desde o século XX até à atualidade muito se tem investigado relativamente a novos métodos de tratamento cada vez mais eficazes, menos invasivos e com um menor número de efeitos adversos possíveis, aumentando assim o número de pessoas com resposta positiva à terapêutica.^{2,3} Um dos principais obstáculos ao sucesso da terapia da epilepsia é a dificuldade subjacente ao transporte de fármacos até ao SNC, devido às várias barreiras anatómicas e fisiológicas que o fármaco tem que atravessar até chegar ao local de ação, mantendo-se em concentrações terapêuticas.² Uma das barreiras de maior importância é sem dúvida a BHE, essencial para a manutenção de um ambiente neuroparenquimal único, mas que representa um enorme obstáculo para uma grande multiplicidade de fármacos envolvidos no tratamento de doenças do SNC.⁴ Um exemplo disto é que muitos fármacos têm sido descobertos para o tratamento de doenças do SNC, porém falham aquando da entrada no mercado porque são incapazes de atravessar a BHE, sendo por isso um enorme desafio para a indústria farmacêutica.⁵

De modo a ultrapassar o obstáculo anteriormente referido, muitas estratégias de transporte de fármacos têm sido estudadas, entres as quais a utilização da nanotecnologia, método muito promissor para o desenvolvimento de terapêuticas não-invasivas para o tratamento de doenças do SNC, como a epilepsia.^{4,6} Nos últimos anos têm sido desenvolvidos múltiplos sistemas de administração de fármacos baseados em nanopartículas biodegradáveis. Vários tipos de nanopartículas têm sido estudados para o transporte especificamente de fármacos antiepiléticos realçando-se os lipossomas, as nanoemulsões, as nanopartículas poliméricas, as nanopartículas lipídicas sólidas, os transportadores lipídicos nanoestruturados e as nanopartículas magnéticas.⁷

A utilização de nanopartículas como transportadores de fármacos fornece inúmeros benefícios, relativamente às terapias convencionais, pois melhoram a solubilidade do

fármaco, protegem-no da digestão enzimática, aumentam a seletividade para o alvo terapêutico e a internalização celular e ainda, promovem um melhor controlo da velocidade de libertação do fármaco no local de ação.⁷ Para além disso, devido a uma entrega cerebral significativamente mais eficaz, com a utilização de nanopartículas biodegradáveis, a dose de fármaco pode ser reduzida, levando conjuntamente a uma melhoria significativa na qualidade de vida dos doentes.⁴

2. EPILEPSIA E FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA

De acordo com a *International League Against Epilepsy* (ILAE), a epilepsia é definida como uma doença neurológica crónica, caracterizada pela predisposição para originar convulsões epiléticas, tendo consequências neurobiológicas, cognitivas, psicológicas e sociais, influenciando diretamente a qualidade de vida dos doentes.⁸ Atualmente, a epilepsia é classificada em quatro tipos, focal, generalizada, generalizada e focal combinada e desconhecida, tendo em conta o tipo de convulsões associadas.⁹

As convulsões epiléticas são caracterizadas como eventos paroxísticos transitórios, originando sinais e/ou sintomas devidos a descargas anormais hipersíncronas ou hiperexcitáveis de neurónios corticais.⁸ As convulsões podem manifestar-se de diversas formas dependendo da localização do foco epilético no córtex cerebral, dos padrões de propagação, da maturidade do cérebro, do ciclo sono-vigília e de uma variedade de outros fatores. Para o diagnóstico da epilepsia é necessário a ocorrência de pelo menos uma crise epilética.¹⁰

Relativamente à epidemiologia, a epilepsia é uma doença que afeta pessoas de todas as idades e está amplamente distribuída, atingindo cerca de 50 milhões de pessoas¹¹, dos quais 6 milhões na Europa¹², sendo por isso uma das maiores preocupações para os serviços de saúde pública. Embora o número de fármacos antiepiléticos disponíveis tenha aumentado nos últimos anos, cerca de um terço dos doentes são resistentes aos fármacos utilizados, sendo necessário desenvolver novas estratégias terapêuticas e novas formas de diagnóstico.¹³

Em termos fisiopatológicos, as convulsões epiléticas resultam do desequilíbrio entre a excitação neuronal mediada pela transmissão glutamatérgica e a inibição mediada pela transmissão GABAérgica. Os neurotransmissores glutamato e GABA (Ácido gama-aminobutírico) são os principais responsáveis pela forma como as convulsões surgem, se

dispersam e pela sua recorrência. Contudo, alterações da concentração de outros neurotransmissores, tais como o aspartato, a glicina e também a acetilcolina, a serotonina e as catecolaminas (noradrenalina e dopamina) têm sido associados à fisiopatologia das convulsões epiléticas.¹⁴ Assim, os fármacos mais comumente utilizados no controlo das convulsões epiléticas, têm como mecanismos de ação principais, o bloqueio dos canais de sódio e cálcio voltagem-dependentes, a ativação dos canais de potássio voltagem dependentes, a ativação alostérica dos recetores GABA_A, o aumento do *turnover* do GABA, o bloqueio dos recetores de glutamato, a inibição da anidrase carbónica, bem como a modulação das vesículas sináticas, com o intuito, de um modo geral, de potenciar a ação inibitória do GABA e reprimir a ação excitatória do glutamato.¹⁵

3. BARREIRA HEMATOENCEFÁLICA (BHE) E SUAS CARACTERÍSTICAS

A BHE é uma estrutura vascular multicelular que separa o SNC da circulação sanguínea periférica, fazendo parte integrante da unidade neurovascular.^{16,17} Apresenta três funções principais, atua como uma barreira física devido à presença de *tight junctions* (TJs), atua como uma barreira enzimática devido à presença de uma enorme variedade de enzimas metabolizadoras e é o local onde uma grande quantidade de compostos sofre efluxo ou influxo através de transportadores específicos.¹⁸

A BHE é constituída por quatro componentes celulares maioritários, uma monocamada de células endoteliais, com cerca de 3-7 µm de diâmetro¹⁹ caracterizada pela presença de um complexo juncional constituído por TJs e por junções de adesão¹⁷. Integram adicionalmente a BHE, astrócitos, periócitos e neurónios situados muito próximos das células endoteliais.²⁰

Esta barreira possui características únicas que a distinguem, pois devido à presença de baixos níveis de endocitose de fase-fluida, de transportadores específicos e de elevado número de TJs apenas fármacos com massa molecular inferior a 400-500 daltons são capazes de atravessar a BHE, aspeto importante a ter em conta quando se pretende que um fármaco atue a nível cerebral.^{19,21} As TJs também contribuem para que as células endoteliais dos microvasos cerebrais possuam uma resistência elétrica (TEER) significativa, impedindo assim a penetração de potenciais agentes terapêuticos, tais como oligonucleótidos, anticorpos, péptidos e proteínas.⁶ Em anexo (Anexo I) são ilustrados os sistemas de transporte que

ocorrem através da BHE e alguns exemplos de moléculas que tem a capacidade de a atravessar.^{22,23,24}

A disfunção da BHE tem um papel importante nas consequências que advém da excitabilidade neuronal,²⁰ podendo estar envolvida na fisiopatologia de várias doenças neurológicas, incluindo a epilepsia, ao nível da progressão da doença e na resistência à terapêutica.¹⁸ Por tal motivo, o conhecimento fisiológico e anatómico da BHE é crucial para o desenvolvimento de novos fármacos e sistemas terapêuticos inovadores envolvidos no tratamento de doenças neurológicas.

Para além dos componentes celulares, há também que realçar que a BHE é constituída por inúmeros transportadores de influxo e efluxo, que são responsáveis pela manutenção da homeostasia cerebral, fornecimento de nutrientes e proteção contra toxinas endógenas e exógenas.¹⁸ Na figura 1 estão representados os componentes estruturais da BHE e alguns dos transportadores responsáveis pelas funções acima mencionadas, e em anexo (Anexo 2) encontra-se uma tabela resumo com a forma por extenso das siglas presentes na figura, bem como as funções dos vários componentes e transportadores apresentados.

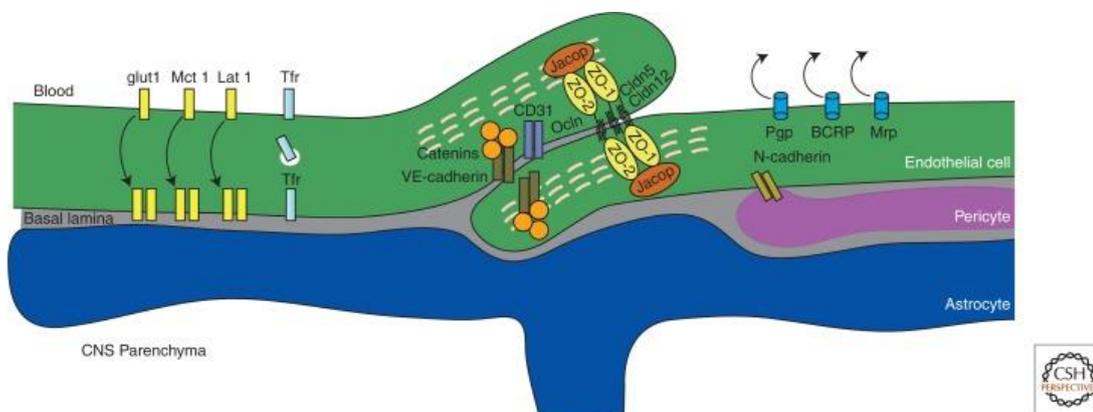


Figura 1: Representação esquemática da unidade neurovascular e dos componentes moleculares da BHE.²⁵

4. NANOSSISTEMAS COM APLICAÇÃO NA TERAPÊUTICA DA EPILEPSIA

Atualmente as terapêuticas utilizadas na epilepsia estão confinadas ao controlo dos sintomas, isto é, à supressão das convulsões cerebrais através da exposição dos tecidos cerebrais a doses adequadas de fármacos antiepiléticos administrados essencialmente por via

oral, parenteral ou retal. Contudo, esta estratégia necessita de doses de fármaco superiores, tendo em conta as perdas que ocorrem até este atingir o SNC, levando por isso ao aumento das resistências aos fármacos antiepiléticos, devido à sobreexpressão dos transportadores de efluxo, nomeadamente a glicoproteína-P (gp-P).^{7,15,26}

Devido aos problemas relacionados com as terapêuticas convencionais, surgiram abordagens baseadas no nano-transporte, sendo as principais formulações utilizadas, os lipossomas, as nanopartículas poliméricas, as nanoemulsões, as nanopartículas lipídicas sólidas, os transportadores lipídicos nanoestruturados e as nanopartículas magnéticas.^{7,22} A utilização destes sistemas de transporte permite um melhoramento das condições farmacocinéticas do fármaco, representando uma importante contribuição para o aumento do efeito farmacológico, da especificidade para o alvo e da atividade terapêutica, bem como um melhor controlo sob a velocidade de libertação de fármacos. Para além disso, tem também um papel crucial na diminuição dos efeitos adversos e da toxicidade dos fármacos, sendo assim uma estratégia muito promissora em doentes com epilepsia farmacorresistente, melhorando drasticamente a sua qualidade de vida.^{26,27}

As moléculas de fármaco, dependendo da formulação pretendida, podem ser dissolvidas, aprisionadas, adsorvidas, encapsuladas ou ligadas covalentemente aos nanomateriais, originando conjugados de fármaco-transportador. Devido às suas dimensões, na ordem dos nanómetros (1-1000nm), estes conjugados tem a capacidade de atingir os órgãos-alvo através da corrente sanguínea e atravessar a BHE intacta, em concentrações superiores, por endocitose ou transcitose, sendo, portanto, uma ótima estratégia para a entrega de fármacos ao SNC, tanto com fins preventivos, de diagnóstico ou terapêuticos.²⁸

De seguida serão apresentados mais detalhadamente os nanossistemas mais relevantes no transporte de fármacos antiepiléticos para o SNC, nomeadamente, lipossomas, nanopartículas poliméricas, nanoemulsões, nanopartículas lipídicas sólidas, transportadores lipídicos nanoestruturados e nanopartículas magnéticas.

4.1. LIPOSSOMAS

Os lipossomas são pequenas vesículas esféricas, normalmente constituídas por colesterol e fosfolípidos naturais não-tóxicos, consistindo em uma ou várias bicamadas lipídicas concêntricas, formando um ou mais compartimentos internos aquosos (Figura 2).²⁹

As propriedades dos lipossomas diferem substancialmente com a composição lipídica, com a lamelaridade, com a carga superficial, com o tamanho e ainda com o método de preparação, podendo estes parâmetros serem manipulados de modo a determinar a rigidez ou fluidez da bicamada lipídica, característica importante que permite uma liberação controlada do fármaco a partir do lipossoma.^{29,30}

A simplicidade da preparação, a alta biodisponibilidade, a baixa toxicidade e o relativo baixo custo são características indiscutivelmente favoráveis dos lipossomas, enquanto sistemas de transporte de fármacos para o SNC, tanto de fármacos lipofílicos, como hidrofílicos.³¹

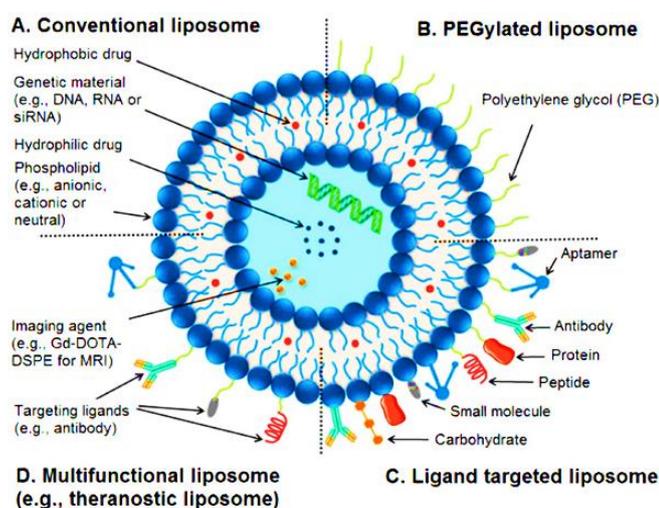


Figura 2: Estrutura dos lipossomas convencionais e funcionalizados. (A) Lipossomas convencionais constituídos por fosfolípidos; (B) Lipossomas PEGuilados contendo uma camada de polietilenoglicol (PEG); (C) Lipossomas direcionados contendo um ligando específico para atingir determinado local; (D) Lipossomas multifuncionais que podem ser utilizados para o tratamento e diagnóstico de certos tipos de cancro.³²

A manipulação do tamanho e da superfície dos lipossomas é crucial para o controle dos parâmetros farmacocinéticos e de biodistribuição deste nanossistema.³⁰ A título de exemplo, no caso dos lipossomas convencionais, quando administrados por via intravenosa estes são capturados relativamente rápido por células do sistema reticuloendotelial (opsonização) diminuindo o seu tempo de semi-vida. Assim, de modo a aumentar o tempo em circulação e a distribuição pelos órgãos desejados, o tamanho dos lipossomas deve ser diminuído para menos de 100nm e a superfície deve ser coberta por um polímero hidrofílico, como o PEG, diminuindo assim o processo de opsonização e a subsequente *clearance* dos lipossomas.^{30,32,33}

A estratégia acima referida prolonga o tempo de semi-vida do fármaco no organismo, porém não é suficiente para que os lipossomas atravessem a BHE. Para isso, é

necessário proceder à sua funcionalização com ligandos, como péptidos, anticorpos, aptâmeros ou outros, que se ligam especificamente a recetores da superfície das células endoteliais dos capilares cerebrais, facilitando assim o seu transporte através da BHE.^{30,32} Para além disso, podem ainda ser adicionadas outras propriedades aos sistemas lipossomais de modo a direcionar o fármaco para o local alvo, como por exemplo variações de temperatura, campo magnético, intensidade de ultrassom ou mudanças de pH.³⁰

Após o conjugado fármaco-lipossoma atingir a BHE os principais mecanismos de transporte utilizados são os seguintes: (1) transcitose mediada por adsorção, mecanismo que consiste na adsorção do conjugado fármaco-lipossoma, carregado positivamente, às membranas plasmáticas das células endoteliais cerebrais, carregadas negativamente, sendo assim possível atravessar a BHE por transcitose ou endocitose mediada por adsorção; (2) endocitose mediada por recetor, mecanismo que explora a grande quantidade de recetores expressos na superfície das células endoteliais da BHE para a atravessar. Assim, quando os lipossomas são conjugados com ligandos específicos, como anticorpos ou péptidos, estes interagem com os respetivos recetores permitindo o seu transporte ao longo da BHE; (3) disrupção da BHE através de forças externas, estratégia menos utilizada comparativamente às referidas anteriormente, que consiste na utilização de uma força mecânica, por exemplo ultrassons, que permite a disrupção transitória da BHE, permitindo assim a entrega direta dos fármacos ao SNC.^{28,34,35}

Após o conjugado fármaco-lipossoma ter atravessado a BHE, quando atinge o local de ação, o fármaco transportado no lipossoma é libertado, normalmente, através de dois mecanismos preferenciais, ou através de difusão passiva, baseando-se na difusão simples do fármaco ao longo da bicamada lipídica, ou através de endocitose mediada por células, consistindo na endocitose dos lipossomas pelas células, seguindo-se a sua degradação pelas fosfolipases lisossomais com subsequente libertação do fármaco pelas células por exocitose. A predominância de um ou de outro mecanismo depende tanto das características do lipossoma como do fármaco em causa.³⁰

4.2. NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS

As nanopartículas poliméricas (NPs) são definidas como dispersões coloidais³⁶ com tamanhos entre 10-1000nm em que o fármaco pode ser dissolvido, aprisionado, encapsulado ou ligado à matriz da nanopartícula. As NPs têm sido extensivamente estudadas como



transportadores de fármacos envolvidos no tratamento de doenças do SNC, devido às suas excelentes propriedades como transportadores de fármacos para o alvo terapêutico desejado e liberação controlada.³⁸

A liberação controlada do fármaco permite uma maior estabilidade, proteção, melhor biocompatibilidade entre o fármaco, as células e os tecidos e para além disso, permite reduzir a dose de fármaco administrada mantendo a eficácia terapêutica, levando assim a menos efeitos adversos e melhor adesão terapêutica por parte do doente.^{37,38} Para além disso, estes nanossistemas apresentam ainda a vantagem de serem mais estáveis relativamente aos restantes e ainda, o facto de poderem ser facilmente liofilizados de modo a prolongarem ainda mais a sua integridade e estabilidade farmacológica.³⁸

De acordo com os métodos de incorporação do fármaco as nanopartículas poliméricas podem originar nanoesferas ou nanocápsulas (Figura 3), ambas termodinamicamente estáveis. As nanoesferas possuem uma matriz contínua onde o fármaco é dissolvido em todo o polímero ou apenas à superfície, enquanto que nas nanocápsulas o polímero envolve o núcleo que contém o fármaco encapsulado.^{28,39}

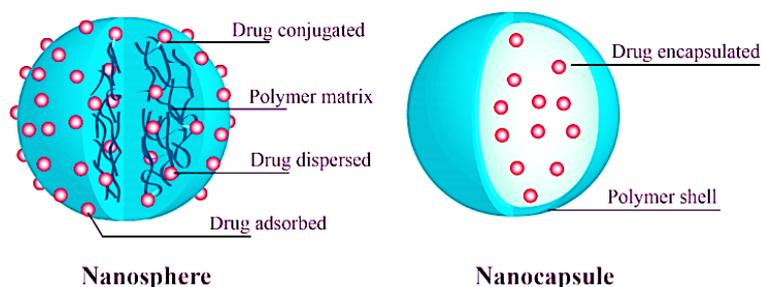


Figura 3: Tipos de NPs utilizadas no transporte de fármacos.³⁷

Tendo em conta a diversidade de polímeros, tanto naturais como sintéticos, as NPs podem ser projetadas para alcançar as propriedades desejadas, como um perfil de liberação controlada e/ou sustentada, bem como permitir a liberação do fármaco durante um certo período de tempo. Por esta razão, vários polímeros têm sido investigados para constituírem NPs cujo o alvo terapêutico é o SNC, sendo os mais estudados, o poli(butil)cianoacrilato (PBCA), o ácido poliláctico (PLA), e o seu copolímero ácido poliláctico-co-glicólico (PLGA), e mais recentemente os *carbon dots* (CDs). Sendo que destes, os PLA/PLGA já foram aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA) e pela *European Medicines Agency* (EMA) para uso humano.^{28,34}

As nanopartículas constituídas por PBCA foram as primeiras a serem utilizadas no transporte de fármacos através da BHE, devido às suas ótimas características de biodegradabilidade e de biocompatibilidade.²⁸ Contudo, não induziam uma abertura suficiente da BHE. Assim, de modo a ultrapassar esta limitação foram utilizados alguns agentes surfactantes, tais como o polissorbato 80, como revestimento, de modo a aumentar a permeabilidade das NPs, através da BHE. Pois, este surfactante tem a capacidade de adsorver a apolipoproteína-E plasmática à superfície, fazendo com que as NPs revestidas com o surfactante sejam reconhecidas como lipoproteínas de baixa densidade (LDL), atravessando assim a BHE através da ligação aos recetores das LDL presentes nas células endoteliais cerebrais.^{28,34}

Relativamente às nanopartículas constituídas por PLA/PLGA, estas têm-se mostrado uma alternativa bastante promissora para a administração de fármacos cujo alvo é o SNC, devido à sua boa biocompatibilidade, à sua cinética de degradação bastante conhecida e à sua segurança.³⁴ No entanto, com a modificação da sua superfície, através da conjugação covalente das NPs com ligandos específicos, ou através do revestimento com surfactantes ou polímeros, como por exemplo o PEG, a capacidade de penetração das NPs de PLA/PLGA pode ser melhorada.^{28,34} A funcionalização com o PEG é um dos métodos mais utilizados, uma vez que este é extremamente biocompatível, minimizando a imunogenicidade e promovendo o aumento do tempo de semi-vida em circulação. Para além disso, a PEGuilação tem ainda outras vantagens, nomeadamente o aumento da solubilidade aquosa das NPs, a minimização da opsonização, a redução da agregação e o aumento da estabilidade.³⁸

Mais recentemente, também os CDs, um novo membro da família dos nanomateriais de carbono com menos de 10nm de diâmetro, têm recebido bastante atenção, devido às suas propriedades estruturais e óticas únicas, bem como excelentes propriedades de biocompatibilidade e baixa toxicidade devido à ausência de elementos metálicos.^{34,40} O seu tamanho reduzido, a estrutura central polimérica, bem como a adição de grupos funcionais à superfície pode facilitar a conjugação da NP com as moléculas de fármaco, para a entrega do fármaco de forma específica.³⁴ Para além disso, os CDs, por norma, possuem elevados valores de fotoluminescência, característica que pode ser utilizada para rastrear, por exemplo, a penetração de CDs através da BHE.^{34,41}

Relativamente às NPs a desvantagem comum a todas elas é a baixa eficiência de penetração através da BHE, não levando à ocorrência de efeitos terapêuticos ao nível do SNC. Por isso, de modo a contornar este obstáculo, muitas estratégias tem vindo a ser desenvolvidas, ao nível da funcionalização e conjugação com ligandos de recetores localizados na superfície da BHE, tornando assim as NPs um excelente sistema de transporte de fármacos que atuam ao nível do SNC.³⁴

4.3. NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS / TRANSPORTADORES LIPÍDICOS NANOESTRUTURADOS

As nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) e os transportadores lipídicos nanoestruturados (NLC) representam alternativas promissoras para o transporte de fármacos, com ação ao nível do SNC, devido à sua capacidade de atravessar a BHE.⁴²

As SNL são esféricas, com 40-1000nm de diâmetro e são compostas por lípidos sólidos (0,1% (m/m) a 30% (m/m)), estabilizados numa dispersão aquosa com a ajuda de agentes emulsificantes (0,5% (m/m) a 5% (m/m)), podendo transportar tanto fármacos lipofílicos como hidrofílicos, dependendo do método de preparação.^{42,43,44} As SNL combinam as vantagens dos nanotransportadores baseados em lípidos e das NPs, mas evitam as suas limitações.⁴⁵ As SLN têm a vantagem de possuir biocompatibilidade, produção rápida e eficaz, baixo custo, facilidade de produção em grande escala e em muitos casos é evitado o uso de solventes orgânicos durante a sua produção, aumentando assim a sua segurança. Para além disso, a sua matriz sólida permite uma melhor libertação controlada do fármaco, melhorando a sua estabilidade. Todavia, apresentam como desvantagens a baixa capacidade de carga de fármaco, especialmente de fármacos hidrofílicos, que devido à natureza cristalina dos lípidos, promove a expulsão do fármaco encapsulado graças à formação de uma rede cristalina perfeita (modificação- β) entre os lípidos, a gelificação na fase dispersa durante o armazenamento e possibilidade de ocorrência de transições polimórficas.^{42,45,46}

Relativamente aos NLC, estes são a nova geração de SLN, pois foram desenvolvidos com o intuito de superar as limitações destas últimas. Os NLC são também constituídos por uma matriz de lípidos sólidos, à temperatura ambiente. Porém, em vez de serem constituídos apenas por um lípido sólido, uma porção deste é substituída por um lípido líquido, preferencialmente num rácio entre 70:30 a 99,9:0,1, resultando numa matriz lipídica menos ordenada, proporcionando assim o carregamento de uma maior quantidade de

fármaco e evitando a expulsão do fármaco durante o armazenamento.^{43,44,46} Tal como as SLN, também os excipientes usados no fabrico dos NLC são biocompatíveis, biodegradáveis, não-irritantes e muitos deles estão aprovados com o estatuto GRAS (*Generally Recognized as Safe*).⁴⁶

Tendo em conta a composição lipídica e os vários métodos de obtenção, os NLC podem ser categorizados em três tipos, cristal imperfeito, amorfo e tipo múltiplo (Figura 4). Dependendo do tipo, a quantidade de fármaco transportada e a velocidade de libertação do mesmo é variável.⁴⁶

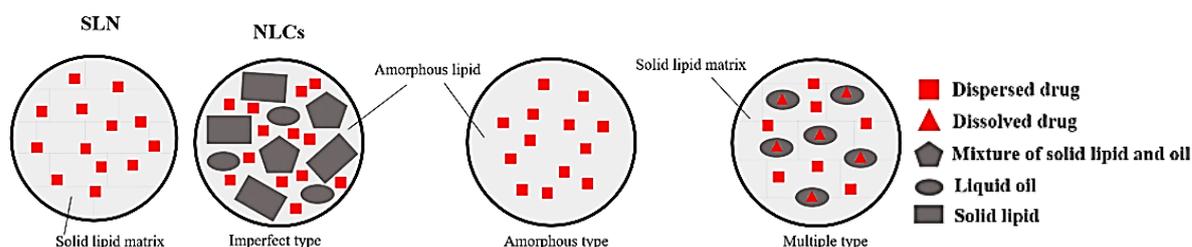


Figura 4: Tipos de NLC comparativamente com a SLN ordenada.⁴⁷

Tal como os nanossistemas anteriormente descritos, também a funcionalização da superfície das SLN e dos NLC com ligandos ou o revestimento com biopolímeros permite um melhoramento do perfil de libertação sustentado dos fármacos e um aumento do tempo em circulação dos mesmos, devido à diminuição da *clearance* pelo sistema reticuloendotelial, sendo, portanto, também um sistema muito promissor para o transporte de fármacos até ao SNC.^{28,45,48}

4.4. NANOEMULSÕES

As nanoemulsões (NEs) são sistemas bastante atrativos para o transporte de fármacos, devido à sua natureza versátil e por permitirem o encapsulamento tanto de fármacos hidrofílicos como lipofílicos.⁴⁹ As NEs são dispersões heterogéneas termodinamicamente estáveis, límpidas, com tamanho de gotícula na ordem dos 20-200nm de diâmetro, formando misturas líquidas isotrópicas de óleo, água, surfactante e co-surfactante.^{28,50} A estabilidade física a longo prazo das NEs é uma consequência direta do tamanho nanométrico das gotículas, que restringe os fenómenos de destabilização convencionais, tais como o *creaming*, a sedimentação e a coalescência.⁵¹ Para além disso, a estabilização das NEs também é promovida pelo uso de agentes surfactantes, que são moléculas anfifílicas capazes de reduzir a tensão interfacial entre a fase aquosa e a fase

oleosa, estabilizando assim a NE através de interações eletrostáticas repulsivas e de impedimento estérico.^{49,52}

Tendo em conta o rácio óleo/água das NEs, estas podem ser classificadas em três grandes grupos, NEs óleo/água (O/A), em que as gotículas de óleo estão dispersas na fase contínua aquosa, emulsões água/óleo (A/O), em que as gotículas de água estão dispersas na fase contínua oleosa, e por fim as NEs bi-contínuas (O/A/A, A/O/A ou O/A/O), em que os microdomínios de óleo e de água estão interdispersos dentro do sistema (Figura 5). As moléculas de fármaco, tendo em conta as suas características físico-químicas, podem ser incorporadas tanto na fase aquosa, como na fase oleosa.^{50,51}

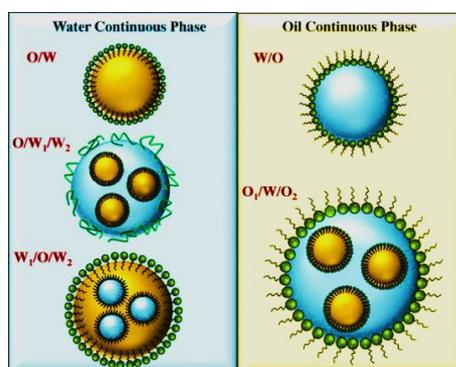


Figura 5: Representação esquemática de diferentes tipos de NEs.^{53,54}

As NEs, tal como os nanossistemas anteriormente descritos, fornecem grandes vantagens, como transportadores de fármacos, relativamente às terapias convencionais, pois tal como os restantes, são capazes de transportar o fármaco até ao local de ação pretendido, devido à capacidade de funcionalização da superfície da NE, mediante a adição, por exemplo, de carga superficial, de biopolímeros ou de ligandos específicos.⁴⁹ Apresentam também a capacidade de dissolver grande quantidade de fármacos hidrofóbicos, protegemo-nos contra a degradação e melhoram a sua biodisponibilidade. Usualmente, as NEs são preparadas com excipientes classificados como GRAS, não sendo, portanto, tóxicas nem irritantes. Para além disso, devido ao reduzido tamanho de partícula, as NEs tem a capacidade de atravessar a BHE, promovendo o aumento da taxa de absorção com a penetração rápida e eficiente do fármaco no tecido alvo. O tamanho reduzido é também muito importante para evitar a opsonização e a rápida absorção pelo sistema mononuclear fagocítico. E ainda, devido à sua versatilidade as NEs podem ser administradas por diversas vias de administração.^{7,50,51,53}

Apesar das inúmeras vantagens, as NEs também apresentam algumas limitações que impedem que o número de terapias utilizando esta tecnologia seja superior. Por exemplo, a necessidade de grandes quantidades de surfactante e co-surfactante para a estabilização das gotículas das NEs, a necessidade do uso de excipientes seguros e não tóxicos para uso humano, a manutenção da qualidade das NEs, a qual pode ser influenciada pela temperatura e pH, e para além disso, existe ainda a dificuldade de produção em grande escala.^{49,50,51,53}

Com o controlo dos fatores acima descritos, a utilização de NEs pode ser considerada como efetiva e segura para o transporte de fármacos, nomeadamente os que atuam ao nível do SNC.

4.5. NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

Um outro tipo de nanossistema muito promissor para o transporte de fármacos até ao SNC são as nanopartículas magnéticas (NMs), que para além das características normais das nanopartículas, possuem também propriedades magnéticas que as distinguem das restantes.^{55,56}

A atenção que tem sido dada às NMs deve-se às suas significativas aplicações biomédicas, relacionadas com as suas propriedades magnéticas intrínsecas, o seu *status* superparamagnético, a elevada capacidade de carga de fármaco, a não-imunogenicidade, bem como a biocompatibilidade e superiores capacidades de imagem, nomeadamente na imagem por ressonância magnética, para a deteção do foco epilético. Apesar de todas as características referidas anteriormente, a mais vantajosa e distintiva dos restantes nanossistemas é a capacidade de entrega de fármacos com maior precisão, com uma libertação controlada e sustentada de fármaco, num local de ação específico através da aplicação de um campo magnético externo, minimizando assim a toxicidade para outros tecidos.^{7,57,58}

Atualmente, as NMs incluem maioritariamente as NMs de metal, de óxido metálico e de liga metálica, sendo que os metais mais comumente utilizados são o ouro, a prata, o ferro, o cobalto e o níquel. As NMs mais extensivamente estudadas são as constituídas por óxido metálico de Fe_2O_3 e Fe_3O_4 devido à sua fácil preparação e fácil controlo do tamanho e forma de partícula.⁵⁵ Para aplicações a nível biomédico, as partículas devem apresentar um tamanho muito reduzido, normalmente inferior a 100nm, com estreita distribuição de

tamanhos e elevada suscetibilidade magnética. Para além disso, também é bastante importante as NMs apresentarem superparamagnetismo, ou seja, as partículas devem ter a capacidade de se tornarem magnetizadas até ao nível de saturação, mas após a remoção do campo magnético devem perder a sua magnetização. Este fenómeno é dependente do tamanho das partículas, verificando-se este efeito normalmente para nanopartículas com diâmetros entre 10-20nm.^{56,59}

Como resultado do efeito de superfície e de interface deste tipo de nanossistema, as NMs são extremamente instáveis e com apetência para a agregação, levando à adsorção aos tecidos e conseqüentemente rápida fagocitose pelo sistema vascular reticuloendotelial, para além de que possuem elevada atividade química e capacidade de oxidação, resultando na perda de magnetismo do nanossistema.^{55,58} Por isso, de forma a evitar este fenómeno, as NMs são normalmente funcionalizadas de modo a melhorar a estabilidade coloidal, aumentar a sua dispersibilidade em água e fornecer funcionalidade química para a adição das moléculas ativas.⁵⁹

Existem diversas abordagens de funcionalização das NMs, que envolvem a adição ou o revestimento com moléculas orgânicas, biomoléculas, surfactantes e polímeros ou com óxidos e metais inorgânicos. Para além disso, as NMs podem ainda, ser funcionalizadas através da incorporação das moléculas de fármaco numa *nano-bubble*, que consiste num núcleo gasoso com os elementos metálicos à superfície, este tipo de NMs melhora a permeabilidade celular aquando da exposição ao ultrassom, pois para além das vantagens inerentes às NMs não-funcionalizadas, as *nano-bubbles* conferem ainda a vantagem de funcionar como núcleos de cavitação, facilitando assim a passagem do fármaco através da BHE e portanto maior quantidade de fármaco chega aos tecidos alvo.^{58,60} Para além das NMs revestidas, denominada estrutura “*core-shell*”, existem as nanoestruturas multifuncionais híbridas, que consistem na combinação das NMs com outros nanocomponentes, como por exemplo, nanopartículas de ouro ou nanomateriais de carbono, estando a emergir devido às suas propriedades físico-químicas aumentadas (Figura 6).⁵⁹

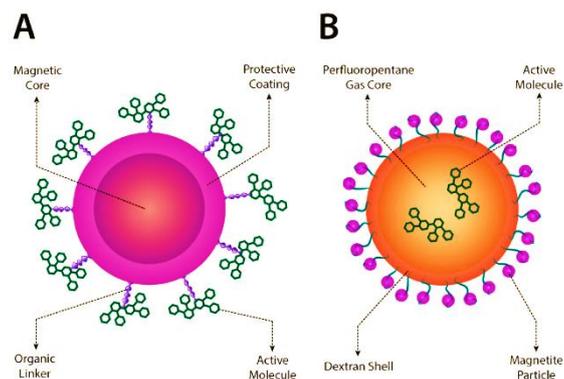


Figura 6: Representação esquemática de duas estratégias para a entrega de fármacos através de NMs. (A) O elemento magnético encontra-se no núcleo da nanopartícula, enquanto que o fármaco está ligado ao revestimento que cobre o núcleo. (B) O elemento magnético consiste num número de nanopartículas de ferro ligadas à superfície de uma *nano-bubble* que pode internamente transportar moléculas de fármaco.⁵⁶

Deste modo, a funcionalização da superfície com várias biomoléculas torna-se assim um requisito indispensável para a entrega direcionada de fármacos utilizando NMs, pois o revestimento da superfície das NMs desempenha um papel crucial na proteção contra a aglomeração, não-especificidade, farmacocinética regulada, libertação endossómica precoce e libertação do fármaco.^{55,58} Apesar das desvantagens relacionadas com este tipo de nanossistema, muitos avanços têm sido feitos de modo a minimizar a sua toxicidade, promover a passagem através da BHE e prolongar o seu tempo de semi-vida nos órgãos alvos, tornando-o assim um sistema de transporte de fármacos muito promissor para o tratamento de doenças do foro neurológico.⁵⁸

5. ALGUMAS APLICAÇÕES TERAPÊUTICAS

A área da nanotecnologia está em contínuo e rápido desenvolvimento, tornando-se uma nova esperança para o tratamento de diversas doenças, nomeadamente das doenças ao nível do SNC, como a epilepsia farmacorresistente às terapias convencionais.⁷

A fácil preparação, na maioria dos nanossistemas, aliada à diversidade de tecnologias modernas, disponibilidade de modelos experimentais adequados, bem como a coordenação de diversos profissionais de diferentes áreas, têm contribuído nos últimos anos, para o desenvolvimento de novas nanoterapias cada vez mais eficazes para o tratamento da epilepsia farmacorresistente.⁶¹

Muitos são os estudos desenvolvidos, cujo objetivo é associar a nanotecnologia a fármacos já conhecidos de modo a personalizar a terapia, com o intuito de diminuir a dose

de fármaco a administrar, os efeitos adversos, bem como o aumento da adesão à terapêutica por parte do doente.²⁶ De modo a ilustrar algumas aplicações reais dos nanossistemas no tratamento especificamente da epilepsia, de seguida irão ser exemplificados três estudos, os quais se debruçam sobre três nanossistemas distintos.

5.1. EXEMPLO I

Um exemplo concreto da aplicação de nanossistemas no tratamento da epilepsia é o uso de SLN e de NLC como veículos de transporte de um fármaco antiepilético muito conhecido, a carbamazepina (CBZ).

O estudo consistiu na síntese, caracterização e avaliação *in vivo* de nanopartículas lipídicas de primeira-geração, com o objetivo de aumentar a biodisponibilidade do fármaco modelo no parênquima cerebral.

Os principais materiais utilizados na preparação das nanopartículas com o fármaco incorporado foram o *lipid myristyl myristate* (Crodamol[®]MM), cera de ésteres cetílicos NF (Crodamol[®]SS), um óleo (Crodamol[®]GTCC-LQ, triglicerídeo com ácidos gordos saturados) e a CBZ (98,1%). As SLNs e os NLCs foram preparados usando diferentes tipos e quantidades de lípidos, alterando o rácio tensoativo/lípido e a quantidade de CBZ, através do método de preparação fusão-emulsificação seguido de ultrasonicação, obtendo-se assim quatro formulações diferentes, duas com a CBZ incorporada sob a forma de pó (SLN-CBZ e NLC-CBZ) e outras duas com o fármaco previamente dissolvido em dimetilsulfóxido (DMSO) [SNL-CBZ(DMSO) e [NLC-CBZ(DMSO)].

Após a preparação, para além da medição da eficiência de encapsulação do fármaco, da análise por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) da CBZ, da distribuição granulométrica, do potencial zeta e do índice de polidispersão, foi também feita a caracterização físico-química das formulações através da espectroscopia de correlação de fótons, microscopia de transmissão eletrónica, microscopia de força atómica, calorimetria diferencial de varrimento, termogravimetria e análise de difração de raios X. Foram também realizados estudos de estabilidade nas condições de armazenamento e foi analisada *in vitro* a libertação cinética do fármaco a partir dos nanossistemas. Para além disso, também se procedeu à realização de estudos de permeabilidade da CBZ, em rim canino de *Madin-Darby*,

transfectado com células epiteliais MDR1, e à avaliação da atividade convulsivante *in vivo* em murganhos.

As conclusões mais importantes a realçar desde estudo são a alta capacidade de carga de fármaco que estes nanossistemas possuem, mesmo sem uso de solventes orgânicos, o tamanho ótimo de partícula que é obtido ($\approx 160\text{nm}$), de modo a evitar a sua remoção pelo sistema mononuclear fagocitário, o baixo índice de polidispersão das partículas e a elevada eficiência de encapsulação, superior a 85% para todas as formulações selecionadas. Relativamente aos testes de estabilidade, as formulações também se mostraram estáveis em relação aos vários parâmetros, como a eficiência de encapsulação, o tamanho de partícula, o potencial zeta e o índice de polidispersão ao longo de 90 dias.

Os testes térmicos e cristalográficos executados neste estudo sugeriram que quando a CBZ é incorporada numa matriz lipídica amorfa, tal como acontece nos NLCs, a sua dissolução é facilitada. Para além disso, ambos os sistemas exibiram um perfil de libertação sustentada do fármaco durante pelo menos 24h, sendo que a maior mobilidade do fármaco nas matrizes mais amorfas resulta numa difusão mais rápida do mesmo. Relativamente à permeabilidade *in vitro*, verificou-se um significativo aumento da permeabilidade para as formulações SLN-DMSO e NLC-DMSO relativamente ao fármaco livre, pois as formulações contendo lípido líquido e/ou DMSO são capazes de deformar a matriz lipídica tornando-a mais maleável, facilitando assim a passagem através da membrana celular. Por fim, relativamente à atividade anticonvulsivante, demonstrou-se que as [NLC CBZ (DMSO)] apresentam um efeito protetor, comparável à CBZ livre e durante um tempo superior (Anexo 3).

Em suma, apesar de muitos estudos ainda terem de ser feitos para a aplicação destes sistemas na clínica, este é um exemplo muito promissor e uma abordagem muito interessante para melhorar a biodisponibilidade de fármacos antiepiléticos e superar alguns dos desafios com que frequentemente nos deparamos no tratamento de doenças do SNC.⁴²

5.2. EXEMPLO 2

Outro exemplo da utilização da nanotecnologia no tratamento da epilepsia, mais concretamente a epilepsia do lobo temporal, é a utilização de nanopartículas poliméricas de PLGA-PEGuiladas transportando o polifenol, epigalocatequina-3-galhatto (EGCG).

A epilepsia do lobo temporal é um dos tipos mais comuns de epilepsia em adultos, sendo que muitos dos doentes são resistentes às terapias convencionais, sendo necessário orientar a investigação para novas formas de tratamento ou novos fármacos como é o caso da EGCG, devido às suas capacidades antioxidantes ao nível do hipocampo, e consequentemente à sua potencial atividade antiepiléptica. Embora estas atividades já sejam conhecidas, o principal problema reside na instabilidade deste tipo de moléculas, levando à redução da sua biodisponibilidade e efetividade. De modo a contornar este problema, este estudo teve como objetivo o desenvolvimento de nanopartículas de PLGA-PEGuiladas incorporando a EGCG de forma a protegê-la da degradação e avaliar a sua efetividade nesta nova formulação no tratamento deste tipo de epilepsia. Para além das vantagens intrínsecas das NPs, a funcionalização com PEG permite uma minimização da imunogenicidade, um prolongamento do tempo de semi-vida do fármaco no organismo, para além de que promove a solubilidade aquosa, diminui a opsonização e a agregação, melhorando assim a estabilidade das nanopartículas.

Os materiais utilizados neste estudo foram a EGCG, o PLGA-PEG 5% Resomer[®], o surfactante Tween[®] 80, a β -glucuronidase (G-7396), a sulfatase (S-9754) e o ácido cáinico mono-hidratado (K-0250) para induzir quimicamente o modelo animal, neste caso o murganho. Para a preparação das nanopartículas de EGCG foi utilizada uma modificação da técnica de dupla emulsão A/O/A – solvente evaporação, sendo utilizados o Tween[®]80 e o acetato de etilo como surfactante e fase oleosa, respetivamente.

Durante o estudo foram realizados diversos ensaios, entre os quais, estudos de interação polímero-fármaco, determinação do perfil de libertação *in vitro*, estudos de estabilidade, ensaios de citotoxicidade, teste de hemólise *in vitro*, ensaios farmacocinéticos, avaliação comportamental do limiar convulsivo e avaliação da redução da neurodegeneração e da reatividade glial em murganhos pré-tratados com nanopartículas de EGCG.

Os resultados dos estudos referidos anteriormente evidenciaram, todos eles resultados positivos, confirmando que a EGCG possui atividade anticonvulsivante efetiva e que esta é melhorada quando incorporada na nanoestrutura de PLGA revestida por PEG. Para esta conclusão contribuíram principalmente os resultados obtidos aquando da avaliação comportamental dos murganhos, em que se verificou uma diminuição significativa do número e intensidade do padrão da convulsão (Anexo 4), juntamente com a diminuição das

alterações neuropatológicas, num modelo com epilepsia do lobo temporal induzida, através do pré-tratamento com nanopartículas PLGA-PEGuiladas de EGCG.

Assim, o estudo apresentado demonstrou que as nanopartículas PLGA-PEGuiladas de EGCG melhoram significativamente o efeito anticonvulsivo e neuroprotetor, comparativamente ao fármaco livre, atuando principalmente ao nível da redução do processo inflamatório e do limiar de convulsão. Para além disso, através dos ensaios de citotoxicidade e de hemólise, pôde verificar-se que este nanossistema é seguro para as células cerebrais, sendo capaz de aumentar a integridade e a biodisponibilidade do fármaco, podendo ser, portanto, uma estratégia bastante promissora, eficaz e segura para o tratamento e prevenção da epilepsia do lobo temporal.³⁸

5.3. EXEMPLO 3

Outro estudo que se debruça na utilização de nanossistemas no tratamento da epilepsia é a utilização de lipossomas contendo o polifenol natural, resveratrol (RES) (3,5,4-stilbenetriol), devido às suas propriedades antioxidantes e neuroprotetoras já conhecidas.

O estudo teve como objetivo principal verificar se a atividade anticonvulsivante do RES pode ser melhorada com a utilização de lipossomas como sistema de transporte. Para isso, efetuaram-se diversos ensaios comparando o RES livre com o RES incorporado em lipossomas preparados utilizando a técnica de filme fino, obtendo-se vesículas multilamelares, que foram posteriormente submetidas ao processo de sonicação e de incorporação do fármaco. Os modelos animais utilizados foram ratos macho *Sprague–Dawley*, com convulsões epiléticas induzidas pela penicilina G, os quais foram divididos em quatro grupos, em que um recebeu a solução salina (controlo), outro apenas o lipossoma, outro o RES livre e por último o RES incorporado no lipossoma. A atividade epilética cerebral foi medida através de registos de eletrocorticografia (ECoG), das atividades enzimáticas da glutathione-S-transferase (GST) e da superóxido dismutase (SOD) e dos níveis da glutathione (GSH) e do malondialdeído (MDA), que também foram medidos no tecido cerebral removido do modelo animal.

Inicialmente, de modo a verificar se o efeito do RES era dose dependente os ratos foram tratados com três doses diferentes de RES após a indução da epilepsia. Contudo, a ECoG demonstrou que a variação da dose de RES não altera significativamente nem a

frequência nem a amplitude do pico ao longo do tempo, quando comparado com o controlo, concluindo-se assim que o RES livre não possui um efeito significativo na atividade epileptiforme cerebral induzida pela penicilina.

Posteriormente, foi comparada a atividade epileptiforme do RES incorporado no lipossoma com os restantes três grupos, tendo-se observado uma diminuição significativa tanto da frequência como da amplitude comparativamente com os ratos tratados com o RES livre, levando a concluir que o RES incorporado no lipossoma tem uma atividade epileptiforme bastante mais efetiva. Para além da análise do ECoG, também foi realizada a análise bioquímica de diversas enzimas, verificando-se que houve um aumento significativo da atividade da enzima GST e um aumento do nível da GSH do grupo tratado com RES incorporado no lipossoma em comparação com o controlo. Relativamente à SOD, também se verificou um aumento da atividade antioxidante em comparação com o grupo tratado com RES livre e em relação ao MDA houve uma redução significativa dos seus níveis indicando uma redução da peroxidação lipídica mais acentuada neste grupo (Anexo 5).

Em suma, este estudo revela que o tratamento da atividade epilética cerebral aguda com RES é mais eficaz quando este é incorporado em lipossomas, pois permite aumentar a estabilidade e atividade biológica contra os danos oxidativos, bem como diminuir a citotoxicidade em concentrações elevadas, podendo por isso vir a ter uma aplicação clínica no tratamento da epilepsia.⁶²

6. CONCLUSÃO

Com o crescimento elevado do número de pessoas com epilepsia resistente aos fármacos atualmente disponíveis no mercado, muitos são os esforços que têm sido feitos para desenvolver novos fármacos, assim como novas estratégias terapêuticas de modo a aumentar a eficácia e diminuir os efeitos adversos associados.

Ao longo deste trabalho, pude verificar que as principais dificuldades dos fármacos convencionais utilizados no tratamento da epilepsia, centram-se no não-direcionamento do fármaco apenas para o local alvo pretendido, a rápida opsonização pelo sistema fagocitário reticuloendotelial, bem como na passagem do fármaco através da BHE, sendo por vezes necessário a administração de uma grande quantidade do mesmo para se desenvolver o efeito terapêutico desejado. Assim, de modo a ultrapassar estes problemas, as nanopartículas como sistemas de entrega de fármacos têm recebido cada vez mais atenção, pois fornecem uma melhoria significativa das propriedades farmacocinéticas dos fármacos, com uma entrega segura, não invasiva, direcionada e controlada dos mesmos, para o local de ação pretendido através da funcionalização dos nanossistemas.

O conjugado fármaco-nanopartícula por si só já é muito vantajoso, comparativamente ao fármaco livre, contudo a funcionalização dos nanossistemas anteriormente descritos com polímeros e/ou ligandos específicos que se ligam a recetores do endotélio cerebral, aumenta significativamente a eficácia da terapia com minimização dos efeitos adversos, levando por isso, também a uma maior adesão à terapêutica por parte dos doentes. Para além da funcionalização dos nanossistemas, que irá conferir uma maior permeabilidade através da BHE e um direcionamento mais específico para o tecido alvo, outras características da nanopartícula, tais como, a capacidade de carga, a possibilidade de produção em grande escala, a biodegradabilidade, bem como as características do fármaco e a sua biocompatibilidade com o nanossistema, vão influenciar a escolha do nanossistema, a utilizar em cada caso.

Todos os nanossistemas descritos anteriormente, os lipossomas, as NPs, as SLN/NLC, as NEs, assim como as NMs apresentam estudos científicos, tanto *in vitro* como *in vivo*, demonstrando capacidade de transporte de fármacos antiepiléticos, muitos deles com resultados bastante promissores, tanto ao nível da redução das convulsões epiléticas, como ao nível da toxicidade apresentada por estes sistemas, como foi possível observar pelos exemplos supracitados.

Em suma, ainda que muitos avanços já tenham sido feitos ao nível da aplicação da nanotecnologia como sistemas de transporte de fármacos, muitos estudos ainda necessitam de ser realizados para garantir a sua segurança e eficácia no organismo humano, de forma que esta tecnologia passe a ser utilizada o mais rápido possível no tratamento da epilepsia, melhorando assim a qualidade de vida dos doentes que sofrem desta patologia.

7. PERSPETIVAS FUTURAS

Nos últimos anos, apesar do desenvolvimento de mais de vinte fármacos antiepiléticos, entre os quais alguns de terceira geração, um terço dos doentes permanece refratário à farmacoterapia atual. Por isso, para além dos modelos pré-clínicos já estabelecidos para a epilepsia, é necessário investir em novas abordagens, como por exemplo, o sequenciamento do genoma, a epigenómica e a metabolómica, de modo a identificar novos alvos moleculares, e assim poder fornecer novas estratégias terapêuticas para o futuro.^{63,64}

Para além do interesse pela área da genética, também o interesse pela pesquisa de nanoterapias para o uso em doenças do SNC tem crescido na última década, tendo-se refletido no progressivo aumento de publicações científicas neste âmbito. Os avanços têm-se verificado essencialmente ao nível do desenvolvimento de melhores estratégias para a formulação de novos fármacos e novas abordagens de entrega, com aumento da eficácia, de modo a tornar possível o tratamento das doenças do SNC de forma personalizada para cada doente.⁶⁵

Os maiores desafios que os investigadores têm encontrado, que impedem a implementação da nanomedicina personalizada na clínica, são sobretudo relacionados com a segurança, eficácia e questões regulamentares. É crucial a otimização destas estratégias de transporte de fármacos relativamente à segurança, à não-invasividade e à biocompatibilidade. É também necessário desenvolver nanossistemas, cujo material que incorporam seja biodegradável e passível de ser eliminado pelo parênquima cerebral, tornando-se seguro para os seres humanos. Todavia, a possível produção em grande escala poderá levantar outros problemas relacionados com o meio ambiente, sendo por isso necessário investigar também questões relativas à bioecotoxicidade, bioacumulação e transformação ambiental.^{65,66}

Dos nanossistemas abordados, os que se tem mostrado mais promissores no tratamento de doenças do foro neurológico, têm sido os métodos de entrega de fármacos guiados magneticamente, tais como as NMs. Apesar de possuírem testes apenas em animais de pequeno porte, destacam-se dos restantes devido às suas propriedades multifuncionais, que incluem a capacidade de entrega de fármacos de forma rápida e não invasiva, bem como a possibilidade de monitorização longitudinal da terapia através de ressonância magnética, podendo evidenciar a transformação da “*prática da medicina generalizada em medicina personalizada*”, que parece ser o procedimento mais adequado para doenças do SNC.⁶⁵

8. BIBLIOGRAFIA

1. MAGIORKINIS, E., DIAMANTIS, A., SIDIROPOULOU, K., PANTELIADIS, C. - **Highlights in the history of epilepsy: the last 200 years**. *Epilepsy research and treatment*, 2014 (2014).
2. WILHELM, I., KRIZBAI, I. A. - **In Vitro Models of the Blood–Brain Barrier for the Study of Drug Delivery to the Brain**. *Molecular Pharmaceutics*, 11 (2014) 1949–1963.
3. BERG, A. T. - **Identification of pharmacoresistant epilepsy**. *Neurologic clinics*, 27 (2009) 1003–1013.
4. WOHLFART, S., GELPERINA, S., KREUTER, J. - **Transport of drugs across the blood–brain barrier by nanoparticles**. *Journal of Controlled Release*, 161 (2012) 264–273.
5. PATEL, M. M., PATEL, B. M. - **Crossing the Blood–Brain Barrier: Recent Advances in Drug Delivery to the Brain**. *CNS Drugs*, 31 (2017) 109–133.
6. GULATI, M., CHOPRA, D., SINGH, S., SALUJA, V., PATHAK, P., BANSAL, P. - **Patents on Brain Permeable Nanoparticles**. *Recent Patents on CNS Drug Discovery*, 8 (2013) 220–234.
7. JABIR, N. R., TABREZ, S., FIROZ, C. K., ZAIDI, S. K., BAEESA, S. S., GAN, S. H. - **A Synopsis of Nano-Technological Approaches Toward Anti-Epilepsy Therapy: Present and Future Research Implications**. *Current Drug Metabolism*, 15 (2014).
8. FISHER, R. S., VAN EMDE BOAS, W., BLUME, W., ELGER, C., GENTON, P., LEE, P., ENGEL, J. - **Epileptic seizures and epilepsy: Definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE)**. *Epilepsia*, 46 (2005) 470–472.
9. SCHEFFER, I. E., BERKOVIC, S., CAPOVILLA, G., CONNOLLY, M. B., FRENCH, J., GUILHOTO, L., HIRSCH, E., JAIN, S., MATHERN, G. W., MOSHÉ, S. L., NORDLI, D. R., PERUCCA, E., TOMSON, T., WIEBE, S., ZHANG, Y. H., ZUBERI, S. M. - **ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology**. *Epilepsia*, 58 (2017) 512–521.
10. KO, D. Y. - **Epilepsy and Seizures**. *Psychiatric Care of the Medical Patient*, 2018. [Acedido a 10 de fevereiro de 2018]. Disponível na Internet: <https://emedicine.medscape.com/article/1184846-overview>
11. WORLD HEALTH ORGANIZATION. - **Epilepsy**. 2018. [Acedido a 24 de fevereiro

- de 2018]. Disponível na Internet: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy>
12. ABRAMOVICI, S., BAGIĆ, A. - **Epidemiology of epilepsy**. Handbook of Clinical Neurology, 138 (2016) 159–171.
 13. TANG, F., HARTZ, A. M. S., BAUER, B. - **Drug-Resistant Epilepsy: Multiple Hypotheses, Few Answers**. Frontiers in Neurology, 8 (2017).
 14. DAY, B. K., EISENMAN, L., HOGAN, R. E. - **Neurochemistry of Epilepsy**. In: SHORVON, S., GUERRINI, R., COOK, M., LHATOO, S., Oxford Textbook of Epilepsy and Epileptic Seizures. Oxford: Oxford University Press, 2013, ISBN 978-0-19-965904-3. p. 27–37.
 15. SILLS, G. J. - **Mechanisms of action of antiepileptic drugs**. In: WYLLIE, E., GIDAL, B. E., GOOGKIN, H. P., LODDENKEMPER, T., SIRVEN, J. I., Wyllie's Treatment of Epilepsy: Principles and Practice. Liverpool: Wolters Kluwer, 2015, ISBN 1451191529, 9781451191523. p. 1128–1131.
 16. OBERMEIER, B., DANEMAN, R., RANSOHOFF, R. M. - **Development, maintenance and disruption of the blood-brain barrier**. Nature medicine, 19 (2013) 1584–1596.
 17. BENARROCH, E. E. - **Blood-Brain Barrier: Recent developments and clinical correlations**. Neurology, 78 (2012) 1268–1276.
 18. VAN VLIET, E. A., ARONICA, E., GORTER, J. A. - **Role of blood-brain barrier in temporal lobe epilepsy and pharmacoresistance**. Neuroscience, 277 (2014) 455–473.
 19. IQBAL, A., AHMAD, I., KHALID, M. H., NAWAZ, M. S., GAN, S. H., KAMAL, M. A. - **Nanoneurotoxicity to nanoneuroprotection using biological and computational approaches**. Journal of Environmental Science and Health - Part C Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology Reviews, 31 (2013) 256–284.
 20. VAN VLIET, E. A., ARONICA, E., GORTER, J. A. - **Blood-brain barrier dysfunction, seizures and epilepsy**. Seminars in Cell and Developmental Biology, 38 (2015) 26–34.
 21. GLOOR, S. M., WACHTEL, M., BOLLIGER, M. F., ISHIHARA, H., LANDMANN, R., FREI, K. - **Molecular and cellular permeability control at the blood-brain barrier**. Brain Research Reviews, 36 (2001) 258–264.
 22. SERLIN, Y., SHELEF, I., KNYAZER, B., FRIEDMAN, A. - **Anatomy and physiology of the blood-brain barrier**. Seminars in Cell and Developmental Biology, 38 (2015) 2–6.

23. ABBOTT, N., FRIEDMAN, A. - **Overview and introduction: the blood–brain barrier in health and disease.** *Epilepsia*, 53 (2012) 1–6.
24. ABBOTT, N. J., RÖNNBÄCK, L., HANSSON, E. - **Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier.** *Nature Reviews Neuroscience*, 7 (2006) 41–53.
25. DANEMAN, R., PRAT, A. - **The Blood-Brain Barrier.** *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7 (2015).
26. LA TORRE, A., ROCHA, L., SALGADO-CEBALLOS, H., GARCÍA CASILLAS, P., LUNA-BARCENAS, G. - **Nanotechnology as Potential Strategy for the Treatment of Pharmaco-resistant Epilepsy and Comorbid Psychiatric Disorders.** *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 17 (2017) 250–259.
27. GHADIRI, T., FARHOUDI, M., SHARIFZADEH, M., GORJI, A. - **Alterations of GABAergic System which Perturb GABA Mediated Inhibition in Temporal Lobe Epilepsy.** *Journal of Experimental and Clinical Neurosciences*, 3 (2016) 1–8.
28. LI, X., TSIBOUKLIS, J., WENG, T., ZHANG, B., YIN, G., FENG, G., CUI, Y., SAVINA, I. N., MIKHALOVSKA, L. I., SANDEMAN, S. R., HOWEL, C. A., MIKHALOVSKY, S. V. - **Nano carriers for drug transport across the blood–brain barrier.** *Journal of Drug Targeting*, 25 (2017) 17–28.
29. AKBARZADEH, A., REZAEI-SADABADY, R., DAVARAN, S., JOO, S. W., ZARGHAMI, N., HANIFEHPOUR, Y., SAMIEI, M., KOUHI, M., NEJATI-KOSHKI, K. - **Liposome: classification, preparation, and applications.** *Nanoscale research letters*, 8 (2013) 102–111.
30. FONTES, M. A. P., VAZ, G. C., CARDOSO, T. Z. D., DE OLIVEIRA, M. F., CAMPAGNOLE-SANTOS, M. J., DOS SANTOS, R. A. S., SHARMA, N. M., PATEL, K. P., FRÉZARD, F. - **GABA-containing liposomes: neuroscience applications and translational perspectives for targeting neurological diseases.** *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 14 (2018) 781–788.
31. ALYAUTDIN, R., KHALIN, I., NAFEEZA, M. I., HARON, M. H., KUZNETSOV, D. - **Nanoscale drug delivery systems and the blood-brain barrier.** *International Journal of Nanomedicine*, 9 (2014) 795–811.
32. RIAZ, M. K., RIAZ, M. A., ZHANG, X., LIN, C., WONG, K. H., CHEN, X., ZHANG, G., LU, A., YANG, Z. - **Surface Functionalization and Targeting Strategies of Liposomes in Solid Tumor Therapy: A Review.** *International journal of molecular sciences*, 19 (2018) 195–222.

33. OLUSANYA, T. O. B., AHMAD, R. R. H., IBEGBU, D. M., SMITH, J. R., ELKORDY, A. A. - **Liposomal drug delivery systems and anticancer drugs.** *Molecules*, 23 (2018) 907–924.
34. ZHOU, Y., PENG, Z., SEVEN, E. S., LEBLANC, R. M. - **Crossing the blood-brain barrier with nanoparticles.** *Journal of Controlled Release*, 270 (2018) 290–303.
35. CRAWFORD, L., ROSCH, J., PUTNAM, D. - **Concepts, technologies, and practices for drug delivery past the blood–brain barrier to the central nervous system.** *Journal of Controlled Release*, 240 (2016) 251–266.
36. MASOOD, F. - **Polymeric nanoparticles for targeted drug delivery system for cancer therapy.** *Materials Science and Engineering C*, 60 (2016) 569–578.
37. CORTES, H., ALCALA-ALCALA, S., AVALOS-FUENTES, A., MENDOZA-MUNOZ, N., QUINTANAR-GUERRERO, D., LEYVA-GOMEZ, G., FLORAN, B. - **Nanotechnology As Potential Tool for siRNA Delivery in Parkinson’s Disease.** *Current Drug Targets*, 18 (2017).
38. CANO, A., ETTCHETO, M., ESPINA, M., AULADELL, C., CALPENA, A. C., FOLCH, J., BARENYS, M., SÁNCHEZ-LÓPEZ, E., CAMINS, A., GARCÍA, M. L. - **Epigallocatechin-3-gallate loaded PEGylated-PLGA nanoparticles: A new anti-seizure strategy for temporal lobe epilepsy.** *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 14 (2018) 1073–1085.
39. TAJES, M., RAMOS-FERNÁNDEZ, E., WENG-JIANG, X., BOSCH-MORATÓ, M., GUIVERNAU, B., ERASO-PICHOT, A., SALVADOR, B., FERNÁNDEZ-BUSQUETS, X., ROQUER, J., MUÑOZ, F. J. - **The blood-brain barrier: Structure, function and therapeutic approaches to cross it.** *Molecular Membrane Biology*, 31 (2014) 152–167.
40. LI, S., PENG, Z., DALLMAN, J., BAKER, J., OTHMAN, A. M., BLACKWELDER, P. L., LEBLANC, R. M. - **Crossing the blood–brain–barrier with transferrin conjugated carbon dots: A zebrafish model study.** *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 145 (2016) 251–256.
41. LIU, H., LI, Z., SUN, Y., GENG, X., HU, Y., MENG, H., GE, J., QU, L. - **Synthesis of Luminescent Carbon Dots with Ultrahigh Quantum Yield and Inherent Folate Receptor-Positive Cancer Cell Targetability.** *Scientific Reports*, 8 (2018) 1086–1094.
42. SCIOLI MONTOTO, S., SBARAGLINI, M. L., TALEVI, A., COUYOUPETROU, M., DI IANNI, M., PESCE, G. O., ALVAREZ, V. A., BRUNO-BLANCH, L. E., CASTRO, G. R., RUIZ, M. E., ISLAN,

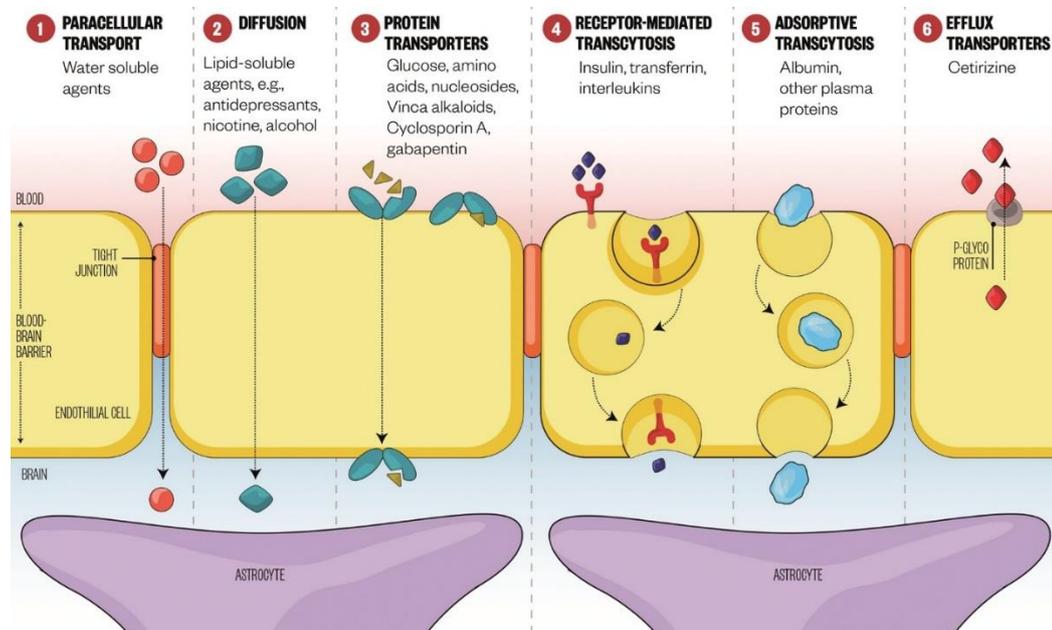
- G. A. - **Carbamazepine-loaded solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers: Physicochemical characterization and in vitro/in vivo evaluation.** *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 167 (2018) 73–81.
43. NASERI, N., VALIZADEH, H., ZAKERI-MILANI, P. - **Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers: Structure preparation and application.** *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 5 (2015) 305–313.
44. SALUNKHE, S. S., BHATIA, N. M., KAWADE, V. S., BHATIA, M. S. - **Development of lipid based nanoparticulate drug delivery systems and drug carrier complexes for delivery to brain.** *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5 (2015) 110–129.
45. CACCIATORE, I., CIULLA, M., FORNASARI, E., MARINELLI, L., DI STEFANO, A. - **Solid lipid nanoparticles as a drug delivery system for the treatment of neurodegenerative diseases.** *Expert Opinion on Drug Delivery*, 13 (2016) 1121–1131.
46. KHOSA, A., REDDI, S., SAHA, R. N. - **Nanostructured lipid carriers for site-specific drug delivery.** *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 103 (2018) 598–613.
47. KIM, C. H., LEE, S. G., KANG, M. J., LEE, S., CHOI, Y. W. - **Surface modification of lipid-based nanocarriers for cancer cell-specific drug targeting.** *Journal of Pharmaceutical Investigation*, 47 (2017) 203–227.
48. LUO, Y., TENG, Z., LI, Y., WANG, Q. - **Solid lipid nanoparticles for oral drug delivery: Chitosan coating improves stability, controlled delivery, mucoadhesion and cellular uptake.** *Carbohydrate Polymers*, 122 (2015) 221–229.
49. MAHATO, R. - **Nanoemulsion as Targeted Drug Delivery System for Cancer Therapeutics.** *Journal of Pharmaceutical Sciences and Pharmacology*, 3 (2017) 83–97.
50. HALNOR, V., PANDE, V., BORAWAKE, D., NAGARE, H. - **Nanoemulsion: A Novel Platform for Drug Delivery System.** *Journal of Materials Science & Nanotechnology*, 6 (2018) 104–115.
51. SINGH, Y., MEHER, J. G., RAVAL, K., KHAN, F. A., CHAURASIA, M., JAIN, N. K., CHOURASIA, M. K. - **Nanoemulsion: Concepts, development and applications in drug delivery.** *Journal of Controlled Release*, 252 (2017) 28–49.
52. GUPTA, A., ERAL, H. B., HATTON, T. A., DOYLE, P. S. - **Nanoemulsions: formation, properties and applications.** *Royal Society of Chemistry*, 12 (2016) 2826–2841.
53. HAKEMI-VALA, M., RAFATI, H., ALIAHMADI, A., ARDALAN, A. - **Nanoemulsions: A**

- Novel Antimicrobial Delivery System.** In: GRUMEZESCU, A. M., Nano- and Microscale Drug Delivery Systems: Design and Fabrication, Romania: William Andrew, 2017, ISBN: 978-0-323-52727-9. p. 245–263.
54. CHUNG, C., MCCLEMENTS, D. J. - **Structure–function relationships in food emulsions: Improving food quality and sensory perception.** Food Structure, 1 (2014) 106–126.
55. GUO, T., LIN, M., HUANG, J., ZHOU, C., TIAN, W., YU, H., JIANG, X., YE, J., SHI, Y., XIAO, Y., BIAN, X., FENG, X. - **The Recent Advances of Magnetic Nanoparticles in Medicine.** Journal of Nanomaterials, 2018 (2018).
56. D’AGATA, F., RUFFINATTI, F. A., BOSCHI, S., STURA, I., RAINERO, I., ABOLLINO, O., CAVALLI, R., GUIOT, C. - **Magnetic nanoparticles in the central nervous system: Targeting principles, applications and safety issues.** Molecules, 23 (2018).
57. PEDRAM, M. Z., SHAMLOO, A., ALASTY, A., GHAFAR-ZADEH, E. - **Superparamagnetic Nanoparticles for Epilepsy Detection.** In World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering, 51, Toronto, Canada. Springer, Cham, 2015. p. 1237–1238.
58. DILNAWAZ, F., SAHOO, S. K. - **Therapeutic approaches of magnetic nanoparticles for the central nervous system.** Drug Discovery Today, 10 (2015) 1256–1264.
59. HAJBA, L., GUTTMAN, A. - **The use of magnetic nanoparticles in cancer theranostics: Toward handheld diagnostic devices.** Biotechnology Advances, 34 (2016) 354–361.
60. LU, C.-T., YING-ZHENG ZHAO, SHU-PING GE, JIN, Y.-G., DU, L.-N. - **Potential and problems in ultrasound-responsive drug delivery systems.** International Journal of Nanomedicine, 8 (2013) 1621–1633.
61. ROSILLO-DE LA TORRE, A., LUNA-BÁRCENAS, G., OROZCO-SUÁREZ, S., SALGADO-CEBALLOS, H., GARCÍA, P., LAZAROWSKI, A., ROCHA, L. - **Pharmacoresistant epilepsy and nanotechnology.** Frontiers in Bioscience, 6 (2014) 329–340.
62. ETHEMOGLU, M. S., SEKER, F. B., AKKAYA, H., KILIC, E., ASLAN, I., ERDOGAN, C. S., YILMAZ, B. - **Anticonvulsant activity of resveratrol-loaded liposomes in vivo.** Neuroscience. 357 (2017) 12–19.
63. MYERS, K. A., JOHNSTONE, D., DYMENT, D. A. - **Epilepsy Genetics: current**

- knowledge, applications and future directions.** *Clinical Genetics*, 0 (2018).
64. YOUNUS, I., REDDY, D. S. - **A resurging boom in new drugs for epilepsy and brain disorders.** *Expert Review of Clinical Pharmacology*, 11 (2018) 27–45.
 65. KAUSHIK, A., JAYANT, R. D., BHARDWAJ, V., NAIR, M. - **Personalized nanomedicine for CNS diseases.** *Drug Discovery Today*, 23 (2018) 1007–1015.
 66. PUROHIT, R., MITTAL, A., DALELA, S., WARUDKAR, V., PUROHIT, K., PUROHIT, S. - **Social, Environmental and Ethical Impacts of Nanotechnology.** *Materials Today: Proceeding*, 4, (2017) 5461–5467.
 67. BRAZIL, R. - **A barrier to progress: getting drugs to the brain.** *The Pharmaceutical Journal*, 2017. [Acedido a 19 de maio de 2018]. Disponível na Internet: <https://www.pharmaceutical-journal.com/news-and-analysis/features/a-barrier-to-progress-getting-drugs-to-the-brain/20202723.article>

9. ANEXOS

ANEXO I - Sistemas de transporte através da BHE.^{24,67}



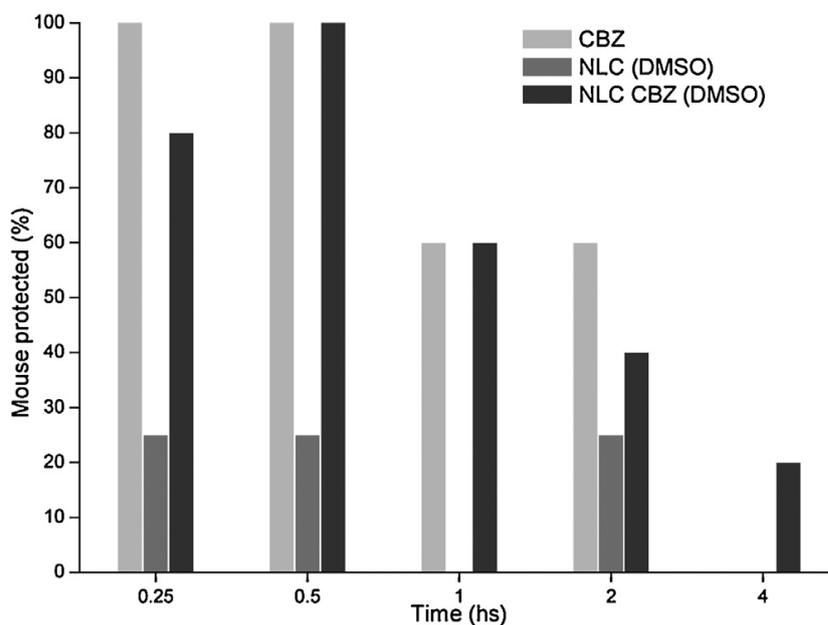
Existem vários mecanismos através dos quais os fármacos podem atravessar a BHE: (1) O transporte paracelular de moléculas solúveis em água ao longo da BHE é muito reduzido devido à presença de TJs entre as células endoteliais; (2) Pequenas moléculas lipossolúveis, conseguem atravessar a BHE por difusão através das células endoteliais; (3) A BHE contém proteínas transportadoras específicas para a glicose, aminoácidos e diversos fármacos; (4) Na BHE existem também recetores que medeiam a transcitose de proteínas como a insulina e a transferrina; (5) Proteínas, como a albumina, são adsorvidas e transportadas através da BHE por transcitose; (6) Os transportadores de efluxo impedem a difusão passiva bombeando agentes estranhos, como anti-histamínicos não sedativos, para fora do cérebro.

ANEXO 2 - Transportadores da BHE e respectivas funções.^{5,25,23}

| | COMPONENTES | FUNÇÃO |
|--|---|--|
| TIGHT JUNCTIONS | Claudins (Cldn): Cldn5, Cldn12 | Proteínas transmembranares essenciais para a formação e integridade da barreira paracelular. |
| | Occludin (Ocln) | Regulação da permeabilidade paracelular e estabilidade da mesma. |
| | Zonula Occludens (ZO): ZO-1, ZO-2 Junction associated coiled-coil protein (Jcop) | Proteínas citoplasmáticas estruturais que ligam a occludina e as claudinas ao citoesqueleto, atuando também como proteínas sinalizadoras. |
| ADHERENS JUNCTIONS | VE-cadherin (Vascular endotelial-cadherin) | Proteína que medeia as interações adesivas celulares e que interage com as catequinas. |
| | Catenins | Proteína que liga a <i>VE-cadherin</i> ao citoesqueleto de actina e inicia várias vias de sinalização, incluindo a <i>upregulation</i> da expressão das claudinas. |
| | N-cadherin | Proteínas transmembranares que medeiam a adesão celular. |
| TRANSPORTADORES | Transportadores de efluxo | |
| | <i>P-glycoprotein (Pgp)</i> | Efluxo de substâncias endógenas, fármacos, toxinas e outros xenobióticos. |
| | <i>Breast cancer resistance protein (BCRP)</i> | |
| | <i>Multidrug resistance protein (Mrp)</i> | |
| | Transportadores de influxo | |
| | <i>Glucose transporter 1 (Glut 1)</i> | Influxo de nutrientes para o SNC. |
| <i>Monocarboxylate transporter 1 (Mct 1)</i> | | |
| <i>L-type amino acid transport (Lat-1)</i> | | |
| <i>Transferrin (Tfr)</i> | | |



ANEXO 3 - Avaliação *in vivo* da atividade anticonvulsivante de NLCs contendo CBZ.⁴²



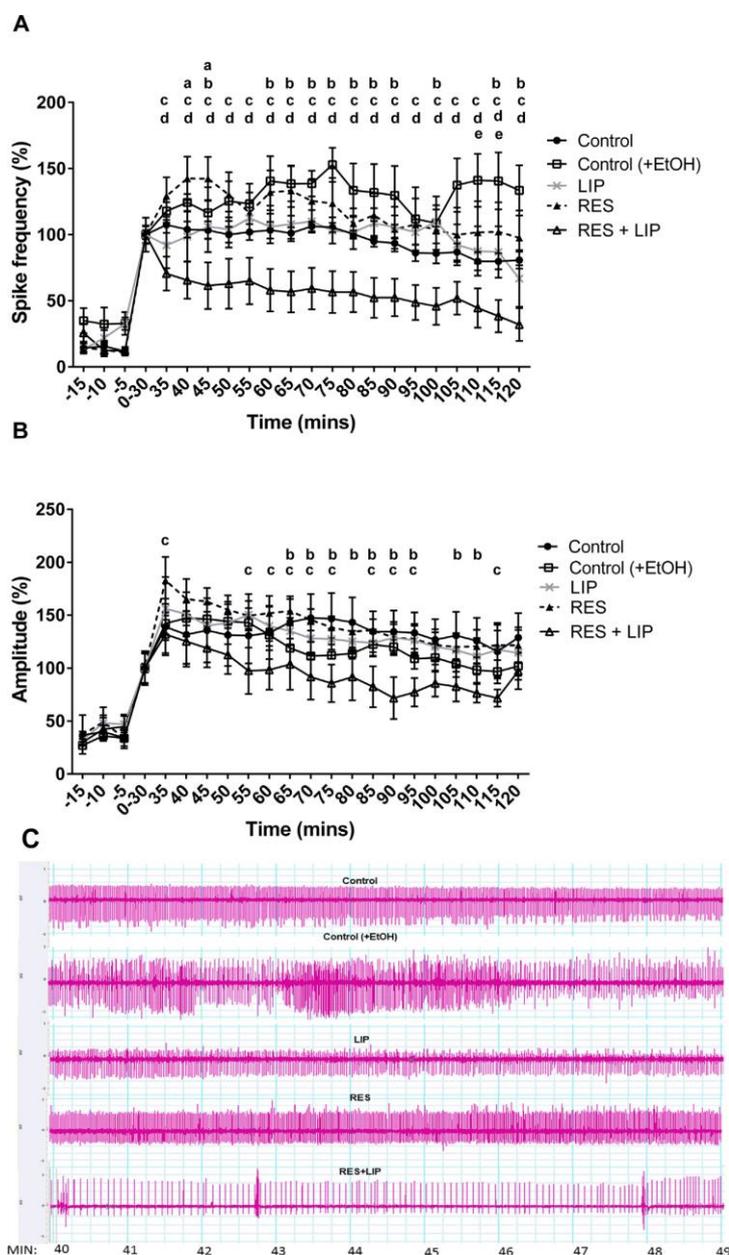
Avaliação *in vivo* da atividade anticonvulsivante representada pela percentagem de murganhos protegidos a cada momento pós-dose, por solução fisiológica (PS), veículo [NLC(DMSO)], solução de (CBZ) e a formulação testada [NLC CBZ(DMSO)].

ANEXO 4 - Resultados obtidos na avaliação do comportamento da convulsão no grupo controle, no grupo tratado com EGCG livre e no grupo com EGCG encapsulada em NPs.³⁸

| | | Groups | | |
|--------------------------|-------------------|--------------------------|------------------|-----------------|
| | | WT+KA | WT+KA+ free EGCG | WT+KA+ EGCG NPs |
| | | n=10 | n=16 | n=16 |
| Seizure Behaviors | Scale rate | Number of periods | | |
| Normal behavior | 0 | 0.50±0.00 | 4.94±3.35 | 8.94±2.74 |
| Immobility | 1 | 7.50±4.69 | 14.00±3.99 | 13.00±3.99 |
| Rigidity | 2 | 8.10±4.86 | 3.12±3.07 | 0.87±0.71 |
| Automatisms | 3 | 2.20±1.42 | 1.00±1.75 | 0.81±1.07 |
| Clonus and falling | 4 | 1.30±1.60 | 0.75±0.89 | 0.37±1.00 |
| Repetitions of falls | 5 | 1.10±1.71 | 0.06±0.00 | 0 |
| Severe seizures | 6 | 1.10±1.71 | 0.06±0.00 | 0 |
| Number of deaths | | 2 | 1 | 0 |
| Seizure Score | | 41.00±6.57 | 26.03±7.77 | 18.70±5.21 |

Duração do estudo 2h (24 períodos de 5 minutos). Abreviaturas: WT: *wild-type*; KA: *kainic acid*; EGCG: *epigallocatechin-3-gallate*; NPs: *nanoparticles*.

ANEXO 5 - Análise da frequência e amplitude dos picos, traços do ECoG e análise bioquímica dos quatro grupos (Controlo, Lipossoma, RES livre, RES incorporado no lipossoma).



Efeitos do RES livre e encapsulado em lipossomas na frequência do pico (%) **(A)**, amplitude do pico (%) **(B)** e os traços representativos das medições por ECoG **(C)**.

Atividade no tecido cerebral das enzimas GST e SOD e níveis de GSH e MDA.

| Group | GST ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$) (N) | GSH ($\mu\text{mol/ml}$) (N) | SOD (U/mg protein) (N) | MDA (nmol/gr tissue) (N) |
|-----------|--|-----------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|
| Control | 15.74 \pm 2.04 (5) | 8.75 \pm 3.42 (5) | 1.27 \pm 0.09 (4) [*] | 2.76 \pm 0.53 (5) |
| LIP | 19.29 \pm 4.02 (5) | 14.04 \pm 0.54 (3) | 1.35 \pm 0.17 (5) | 2.11 \pm 0.57 (5) |
| RES | 17.42 \pm 2.01 (5) | 11.84 \pm 5.15 (4) | 1.17 \pm 0.16 (5) | 2.43 \pm 0.64 (5) |
| RES + LIP | 20.14 \pm 4.14 ^a (5) | 15.49 \pm 3.99 ^a (5) | 1.40 \pm 0.25 ^a (5) | 1.57 \pm 0.24 ^{k,l} (5) |