

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

Desenvolvimento de nanocápsulas mucoadesivas de blenda de poli(ϵ -caprolactona) e poli(metacrilato de metila-*b*-metacrilato de 2-(metilamino)etila) e sua avaliação como sistema de liberação de fármacos no sistema nervoso central pela via nasal

FRANCISCO NOÉ DA FONSECA

PORTO ALEGRE, 2014

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

Desenvolvimento de nanocápsulas mucoadesivas de blenda de poli(ϵ -caprolactona) e poli(metacrilato de metila-*b*-metacrilato de 2-(metilamino)etila) e sua avaliação como sistema de liberação de fármacos no sistema nervoso central pela via nasal

Tese apresentada por **Francisco Noé da Fonseca** para obtenção do TÍTULO DE DOUTOR em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Raffin Pohlmann

PORTO ALEGRE, 2014

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Doutorado da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 30.01.2014, pela Banca Examinadora constituída por:

Prof. Dr. Helder Teixeira

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dra. Marilise Escobar Bürger

Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Ruy Carlos Ruver Beck

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Valdir Soldi

Universidade Federal de Santa Catarina

da Fonseca, Francisco Noé

Desenvolvimento de nanocápsulas mucoadesivas de blenda de poli(E-caprolactona) e poli(metacrilato de metila-b-metacrilato de 2-(metilamino)etila) e sua avaliação como sistema de liberação de fármacos no sistema nervoso central pela via nasal / Francisco Noé da Fonseca. -- 2014.

138 f.

Orientadora: Adriana Raffin Pohlmann.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-RS, 2014.

1. Nanotecnologia. 2. Sistema nervoso central. 3. Via nasal. 4. Copolímero metacrílico. I. Raffin Pohlmann, Adriana, orient. II. Título.

Agradecimentos à CAPES, órgão que financiou a bolsa de estudos para o desenvolvimento deste trabalho, e aos Laboratórios K204 (IQ-UFRGS), 405 (FacFar-UFRGS) e 505C (FacFar-UFRGS), os quais disponibilizaram equipamentos e materiais necessários para a realização dos experimentos práticos na elaboração da presente tese.

*Aos meus pais,
Noé (in memoriam) e Osanide,
Aos meus irmãos,
Patrício e Patrícia,
E a todos aqueles que acreditam que
sonhos podem se tornar realidade...*

AGRADECIMENTOS

À Profa. Adriana Pohlmann por ter me recebido e aceitado como aluno de doutorado, bem como pelas discussões científicas que enriqueceram o presente trabalho...

À Profa. Sílvia Guterres e ao Prof. Ruy Beck por deixarem a porta do laboratório 405 (FacFar) sempre aberta e pelas discussões científicas oportunas...

À Profa. Marli Tebaldi por ter me acompanhando nos meus primeiros meses no laboratório k204, ainda quando Pós-doc, e me introduzido no mundo da síntese de polímeros...

À Profa. Stela Rates e a Dra. Andresa Betti pela colaboração na experimentação animal, sempre com racionalidade, otimismo e ética...

Às Profa. Palmira Gremião e Profa. Flávia Carvalho pela colaboração nos experimentos de adesividade dos filmes poliméricos...

Aos técnicos da central analítica do IQ, da FacFar, do LAMAT e do CME pela solicitude para execução de análises ou mesmo explicações sempre pertinentes...

Aos amigos do laboratório k204 (IQ) e 405 (FacFar), que não citarei nomes pra não esquecer ninguém, que ao longo desses anos, tornaram o dia-a-dia sempre agradável, seja pelas conversas aleatórias, discussões científicas, pela ajuda na realização de experimentos, pela ida ao RU e o cafezinho em seguida... enfim, a presença de todos realmente fez a diferença...

Aos amigos que tive oportunidade de trabalhar como colaborador em seus projetos (Cassia, Cristina, Karina, Karine, Kelly, Rossana e Thatiana), pois é sempre bom poder compartilhar conhecimento e crescer juntos...

Aos meus amigos Willian e Tiago pela parceria contínua, não somente no laboratório, mas também em casa, tornando os dias mais agradáveis e divertidos... foi um prazer ter partilhado mais que um apartamento, mas um lar com vocês...

Aos demais amigos, seja os antigos de Fortaleza ou os novos de Porto Alegre, que sempre torceram pra que tudo desse certo...

Aos meus irmãos, Patrício e Patrícia, que, mesmo estando distantes, sempre estiveram disponíveis pra tudo...

Aos meus pais, Noé (in memoriam) e Osanide, por sempre me apoiarem em todas as minhas escolhas e por serem sempre um exemplo de como seguir, mantendo a serenidade e o respeito ao próximo... muito obrigado sempre...

*“O rio atinge seu objetivo, porque aprendeu
a contornar os obstáculos...”*

(Lao Tsé)

*“E o futuro não é mais como era
antigamente...”*

(Renato Russo)

RESUMO

A liberação intranasal de fármacos tem sido proposta como estratégia para escapar da seletividade da barreira hemato-encefálica. Recentemente, o uso da nanotecnologia tem sido uma abordagem promissora para a liberação cerebral pela via nasal, uma vez que o encapsulamento de fármacos em nanocarreadores tem aumentado sua distribuição cerebral, assim como melhorado seus efeitos farmacológicos quando comparados ao fármaco em solução. Além disso, para garantir um bom desempenho, tais formulações requerem propriedades mucoadesivas. Nesse contexto, esta tese apresenta a síntese de um copolímero anfifílico em bloco [Poli(MMA-*b*-DMAEMA)] e sua utilização para preparar nanocápsulas poliméricas com Poli(ϵ -caprolactona) para biodistribuição cerebral de fármacos pela via nasal. Elas apresentaram resposta frente a variações de pH devido a presença do revestimento com Poli(DMAEMA) (uma poliamina). As propriedades mucoadesivas foram estabelecidas em relação à capacidade de interagir com mucina e de aumentar a retenção de um fármaco em mucosa nasal *in vitro*. A partir desses resultados, foi realizada a avaliação biológica das nanocápsulas contendo um fármaco modelo (olanzapina) e foi verificado que a administração intranasal da formulação em ratos aumentou o teor de fármaco no cérebro de ratos, o que acarretou maior atividade antipsicótica em um modelo animal de esquizofrenia. Ainda, não foi verificado dano a mucosa nasal dos ratos após a administração das nanocápsulas brancas em dose única ou repetidas, sugerindo a segurança do sistema. Além disso, foi investigada a capacidade do nanocarreador desenvolvido de encapsular fármacos, sendo verificado que tanto moléculas hidrofílicas quanto hidrofóbicas podem ser encapsuladas através de um algoritmo desenvolvido para prever o mecanismo de distribuição nas nanocápsulas. Esses achados mostram que as nanocápsulas delineadas com propriedades mucoadesivas são promissoras para o transporte de fármacos no sistema nervoso central após administração intranasal.

Palavras-chave: sistema de liberação de medicamento, administração intranasal, nanotecnologia.

ABSTRACT

Development of mucoadhesive nanocapsules of poly(ϵ -caprolactone) and poly(methyl methacrylate-*b*-2-(methylamino)ethyl methacrylate) blend and their evaluation as nose-to-brain drug delivery system.

The intranasal delivery of drugs has been proposed as strategy to overcome the brain blood barrier selectivity. Recently, the use of nanotechnology has been a promising approach for nose-to-brain delivery, since the entrapment of drugs into nanocarriers has increased their distribution into brain as well as improved their pharmacological effects when compared to the drug solution. Besides, mucoadhesive properties are required to the formulation to enhance its performance. Based on this, this thesis presents the synthesis of an amphiphilic block copolymer [Poly(MMA-*b*-DMAEMA)] and its application to prepare polymeric nanocapsules with Poly(ϵ -caprolactone) for nose-to-brain drug delivery. They were pH-sensitive due to the presence of the Poly(DMAEMA) coating (a polyamine). The mucoadhesive properties were evaluated in terms of ability to interact with mucin and to increase the drug residency on nasal mucosa *in vitro*. Considering these findings, biological studies were carried out and the intranasal application of the formulation in rats increased the model drug (olanzapine) in brain, what led to improved antipsychotic effects in an animal model of schizophrenia. Also, no damage to rat nasal mucosa was observed after single or repeated doses of blank nanocapsules, suggesting the system safety. In addition, the ability of the developed nanocarrier to entrap drugs was investigated and both hydrophilic and hydrophobic molecules could be encapsulated, so that an algorithm was proposed to predict the drug distribution mechanism in the nanocapsule. These findings show that the designed nanocapsules with mucoadhesive properties are promising for nose-to-brain drug delivery after intranasal administration.

Key-words: drug delivery system, intranasal administration, nanotechnology.

LISTA DE ESQUEMAS

| | | |
|-------------|--|-----|
| Esquema 1. | Síntese do copolímero Poli(MMA- <i>b</i> -DMAEMA) | 52 |
| Esquema 2. | Analisador de textura (texturômetro) utilizado para determinação da força mucoadesiva dos filmes poliméricos .. | 55 |
| Esquema 3. | Célula de difusão de Franz modificada para determinar o tempo de residência das formulações na mucosa nasal | 62 |
| Esquema 4. | Protocolo experimental da avaliação da atividade antipsicótica no modelo de inibição do sobressalto por pré-pulso | 66 |
| Esquema 5. | Estruturas químicas dos compostos modelo | 69 |
| Esquema 6. | Modelo proposto do comportamento das nanocápsulas de blenda de Poli(ϵ -caprolactona) e Poli(MMA- <i>b</i> -DMAEMA) frente ao pH | 88 |
| Esquema 7. | Modelo proposto para interação das nanocápsulas de poli(ϵ -caprolactona) e poli(MMA- <i>b</i> -DMAEMA) com mucina | 96 |
| Esquema 8. | Modelo proposto para a liberação da olanzapina a partir das nanocápsulas | 100 |
| Esquema 9. | Pseudofases que compõem as nanocápsulas de blenda de poli(ϵ -caprolactona) e poli(MMA- <i>b</i> -DMAEMA) | 108 |
| Esquema 10. | Modelo proposto para o mecanismo de distribuição de fármacos nas nanocápsulas de Poli(ϵ -caprolactona) e Poli(MMA- <i>b</i> -DMAEMA) | 110 |
| Esquema 11. | Algoritmo para estabelecer o tipo de distribuição nas nanocápsulas de blenda de poli(ϵ -caprolactona) e poli(MMA- <i>b</i> -DMAEMA) | 111 |
| Esquema A1. | Reação para obtenção do éster etílico de indometacina | 135 |

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|------------|--|----|
| Figura 1. | Caixa acústica utilizada para realização do teste de inibição do sobressalto por pré-pulso | 67 |
| Figura 2. | Espectro de RMN-H do Poli(MMA) e do Poli(MMA- <i>b</i> -DMAEMA) em CDCl ₃ | 74 |
| Figura 3. | Espectro de Infravermelho do Poli(MMA) e do Poli(MMA- <i>b</i> -DMAEMA) | 75 |
| Figura 4. | Curva termogravimétrica do Poli(MMA) e Poli(MMA- <i>b</i> -DMAEMA) | 77 |
| Figura 5. | Termograma do Poli(MMA) e Poli(MMA- <i>b</i> -DMAEMA) | 78 |
| Figura 6. | Força mucoadesiva de filmes poliméricos em mucosa nasal suína | 79 |
| Figura 7. | Funções de correlação temporal obtidas por Espalhamento Dinâmico de Luz das nanocápsulas dispersas em soluções tampão de diferentes pH | 82 |
| Figura 8. | Comparação entre as técnicas de Espalhamento Dinâmico de Luz e Análise de Rastreamento de Nanopartícula | 85 |
| Figura 9. | Mobilidade eletroforética e potencial ζ das nanocápsulas dispersas em tampões com diferentes pH | 86 |
| Figura 10. | Perfil da variação de retroespalhamento da suspensão de nanocápsulas | 90 |
| Figura 11. | Avaliação da mobilidade eletroforética e potencial ζ das nanocápsulas antes e após incubação com solução de mucina 0,1% em diferentes pH | 95 |
| Figura 12. | Retenção da olanzapina, nanoencapsulada ou não, em mucosa nasal suína submetida à lavagem contínua | 97 |
| Figura 13. | Imagens por MEV de mucosa nasal suína submetida à lavagem contínua por 10 min após aplicação das nanocapsulas de olanzapina | 98 |

| | | |
|------------|---|-----|
| Figura 14. | Perfil de liberação <i>in vitro</i> da olanzapina a partir de solução tamponada e de nanocápsulas pelo método do saco de diálise | 99 |
| Figura 15. | Efeito da olanzapina intranasal, nanoencapsulada ou não, na inibição por pré-pulso em ratos com salina ou apomorfina | 102 |
| Figura 16. | Fotomicrografia da mucosa nasal de ratos após dose única ou dose repetidas (7 dias) de PBS pH 6,5 ou nanocápsulas brancas . | 103 |
| Figura A1. | Distribuição de tamanho (por volume) obtida por Difratometria de Laser das formulações do estudo de pré-formulação | 133 |
| Figura A2. | Distribuição de tamanho por Espalhamento de Luz Dinâmico das nanocápsulas na presença de mucina 0,1% em diferentes pH | 134 |
| Figura A3. | Distribuição de tamanho por Análise de Rastreamento de Nanopartícula das nanocápsulas na presença de mucina 0,1% em diferentes pH | 134 |
| Figura A4. | Espectro de RMN-H do éster etílico de indometacina em CDCl ₃ | 136 |
| Figura A5. | Especificidade dos métodos analíticos | 138 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|------------|---|----|
| Tabela 1. | Composição quali e quantitativa de nanocápsulas contendo poli(ϵ -caprolactona) e poli(MMA- <i>b</i> -DMAEMA) | 56 |
| Tabela 2. | Grupos experimentais em função do tipo de tratamento no modelo de inibição do sobressalto por pré-pulso | 66 |
| Tabela 3. | Estímulos sonoros utilizados na avaliação da atividade antipsicótica pelo modelo inibição do sobressalto por pré-pulso .. | 67 |
| Tabela 4. | Composição quali e quantitativa de nanocápsulas de poli(ϵ -caprolactona) e poli(MMA- <i>b</i> -DMAEMA) contendo diferentes compostos modelo | 69 |
| Tabela 5. | Massa molecular e polidispersão por Cromatografia de Permeação em Gel do poli(MMA) e poli(MMA- <i>b</i> -DMAEMA) produzidos via RAFT | 76 |
| Tabela 6. | Distribuição granulométrica por volume das formulações do estudo de pré-formulação obtidos por Difractometria de Laser | 81 |
| Tabela 7. | Diâmetro hidrodinâmico e coeficiente de difusão das nanocápsulas em soluções tampão de diferentes pH por Espalhamento de Luz Dinâmico | 83 |
| Tabela 8. | Diâmetro hidrodinâmico, número de partículas e coeficiente de difusão das nanocápsulas em soluções tampão de diferentes pH por Análise de Rastreamento de Nanopartículas | 84 |
| Tabela 9. | Comportamento frente ao pH das nanocápsulas após armazenagem de um mês por Espalhamento de Luz Dinâmico | 89 |
| Tabela 10. | Diâmetro hidrodinâmico, polidispersão e coeficiente de difusão das nanocápsulas antes e após incubação com solução de mucina 0,1% em diferentes pH por Espalhamento de Luz Dinâmico | 92 |
| Tabela 11. | Diâmetro hidrodinâmico, polidispersão e coeficiente de difusão das nanocápsulas antes e após incubação com solução de mucina 0,1% em diferentes pH por Análise de Rastreamento de Nanopartícula | 94 |

| | | |
|------------|---|-----|
| Tabela 12. | Coeficiente de distribuição (LogD) e concentração de saturação dos compostos modelo em pH 8,5 | 105 |
| Tabela 13. | Caracterização físico-química das suspensões de nanocápsulas contendo diferentes compostos modelo | 107 |
| Tabela 14. | Percentual de fármaco quantificado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência no ultrafiltrado antes e após diluições | 108 |
| Tabela A1. | Parâmetros dos métodos analíticos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência dos compostos modelos utilizados | 137 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

| | |
|-----------|--|
| μ_E | Mobilidade eletroforética |
| 6-OHDOPA | 6-hidróxidopamina |
| AIBN | Azobisisobutironitrila |
| ATRP | Polimerização radicalar de transferência atômica |
| BHE | Barreira hemato-encefálica |
| CAC | Concentração de agregação crítica |
| CLAE | Cromatografia líquida de alta eficiência |
| CPDB | 2-ciano-2-ditiobenzoato de propila |
| D | Coefficiente de difusão |
| $d_{4,3}$ | Diâmetro da esfera equivalente |
| d_H | Diâmetro hidrodinâmico |
| DLS | Espalhamento dinâmico de luz |
| DMAEMA | Metacrilato de 2-(metilamino)etila |
| EE% | Eficiência de encapsulação |
| FTIR | Espectroscopia de infra-vermelho com transformada de Fourier |
| GPC | Cromatografia de permeação em gel |
| INDOET | Éster etílico de indometacina |
| INDOH | Indometacina |
| LD | Difratometria de laser |
| LDE | Eletroforese de laser Doppler |
| LNC | Nanocápsula de núcleo lipídico |
| LogD | Coefficiente de distribuição |
| MLS | Espalhamento múltiplo de luz |
| MMA | Metacrilato de metila |
| MTX | Metotrexato |
| M_w | Massa molecular ponderal |
| NLC | Carreador lipídico nanoestruturado |
| NOP | Polimerização mediada por nitróxido |
| NQ | Nanopartícula de quitosana |

| | |
|-----------------------------|---|
| NTA | Análise de rastreamento de nanopartículas |
| OLA | Olanzapina |
| PCL | Poli(ϵ -caprolactona) |
| PDI | Índice de polidispersão |
| PEG | Polietilenoglicol |
| Pgp | Glicoproteína-P |
| pK_a | Constante de dissociação ácida |
| PLGA | Copolímero de lactato e ácido glicólico |
| Poli(MMA- <i>b</i> -DMAEMA) | Copolímero em bloco de metacrilato de metila e metacrilato de 2-(metilamino)etila |
| PPI | Inibição de Pre-pulso |
| RAFT | Polimerização de transferência de cadeia de adição e fragmentação reversível |
| RMN-H | Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio |
| rpm | Rotações por minuto |
| RSV | Resveratrol |
| SNC | Sistema nervoso central |
| Span | Amplitude da distribuição de tamanho das partículas |
| TCM | Triglicerídeos de cadeia média |
| THF | Tetrahidrofurano |
| Z-average | Diâmetro médio por intensidade |
| ζ | Zeta |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| INTRODUÇÃO | 25 |
| 1. OBJETIVOS | 29 |
| 1.1. Objetivo geral | 31 |
| 1.2. Objetivos específicos | 31 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 33 |
| 2.1. O Sistema Nervoso Central como alvo terapêutico | 35 |
| 2.2. Nanotecnologia aplicada a sistemas de liberação de fármaco SNC .. | 37 |
| 2.3. Liberação cerebral de fármacos pela via nasal | 39 |
| 2.4. Sistemas para uso intranasal: papel do muco e a mucoadesão | 42 |
| 2.5. Copolímeros anfifílicos funcionais | 43 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS | 47 |
| 3.1. Reagentes e Instrumentação | 49 |
| 3.2. Obtenção do copolímero metacrílico poli(MMA- <i>b</i> -DMAEMA) | 51 |
| 3.2.1. Síntese do copolímero | 51 |
| 3.2.2. Caracterização físico-química do copolímero | 53 |
| 3.3. Avaliação da adesividade de poli(ϵ -caprolactona) e poli(MMA- <i>b</i> -DMAEMA) em mucosa nasal <i>in vitro</i> | 54 |
| 3.4. Desenvolvimento de nanocápsulas de blenda de poli(ϵ -caprolactona) e poli(MMA- <i>b</i> -DMAEMA) | 56 |
| 3.4.1. Preparação das nanocápsulas | 56 |
| 3.4.2. Caracterização físico-química das nanocápsulas | 57 |
| 3.5. Avaliação da mucoadesividade de nanocápsulas de blenda de poli(ϵ -caprolactona) e poli(MMA- <i>b</i> -DMAEMA) | 59 |
| 3.5.1. Estudo da interação das nanocápsulas com mucina <i>in vitro</i> | 59 |
| 3.5.2. Tempo de residência das nanocápsulas em mucosa nasal <i>in vitro</i> | 60 |
| 3.6. Avaliação do perfil de liberação <i>in vitro</i> das nanocápsulas de blenda de poli(ϵ -caprolactona) e poli(MMA- <i>b</i> -DMAEMA) | 63 |
| 3.7. Avaliação biológica das nanocápsulas de blenda de poli(ϵ -caprolactona) e poli(MMA- <i>b</i> -DMAEMA) por via intranasal | 64 |

| | |
|--|-----|
| 3.7.1. Estudo de distribuição cerebral <i>in vivo</i> das nanocápsulas contendo olanzapina | 64 |
| 3.7.2. Avaliação da atividade antipsicótica das nanocápsulas contendo olanzapina no modelo de inibição de sobressalto por pré-pulso (PPI) em ratos | 65 |
| 3.7.3. Avaliação preliminar de toxicidade nasal das nanocápsulas | 68 |
| 3.8. Estudo da distribuição de fármacos em nanocápsulas de blenda de poli(ϵ -caprolactona) e poli(MMA- <i>b</i> -DMAEMA) | 68 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES | 71 |
| 4.1. Caracterização do copolímero Poli(MMA- <i>b</i> -DMAEMA) | 73 |
| 4.2. Propriedades adesivas dos materiais poliméricos em mucosa nasal <i>in vitro</i> | 78 |
| 4.3. Estudo de pré-formulação | 79 |
| 4.4. Avaliação do comportamento das nanocápsulas frente ao pH | 81 |
| 4.5. Avaliação da interação das nanocápsulas com mucina <i>in vitro</i> | 91 |
| 4.6. Retenção das nanocápsulas em mucosa nasal <i>in vitro</i> | 96 |
| 4.7. Modulação da liberação <i>in vitro</i> das nanocápsulas | 99 |
| 4.8. Avaliação biológica das nanocápsulas <i>in vivo</i> | 100 |
| 4.9. Estudo da distribuição de fármacos nas nanocápsulas de blenda de Poli(ϵ -caprolactona) e Poli(MMA- <i>b</i> -DMAEMA) | 104 |
| 5. CONCLUSÕES | 113 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 117 |
| APÊNDICES | 131 |

INTRODUÇÃO

A farmacoterapia das desordens do sistema nervoso central (SNC), mesmo com o amplo arsenal terapêutico disponível, continua sendo um desafio até o presente momento; embora a maioria dos fármacos utilizados na clínica apresente notável eficácia, a sua efetividade é limitada. Esse fato é decorrente da presença da barreira hemato-encefálica (BHE), a qual consiste em um endotélio vascular diferenciado que reveste o SNC (MACHADO, 2004).

Essa barreira apresenta papel fundamental na manutenção do bom funcionamento do SNC, pois confere seletividade às moléculas circulantes no sangue, sejam elas tóxicas ou não. Logo, muitos fármacos de ação central tem sua biodistribuição restrita no tecido cerebral por não passarem a BHE, seja por sua estrutura química (molécula hidrofílica ou com elevada massa molecular é menos permeável) ou por ser substrato de alguma bomba de efluxo, como a glicoproteína-P (ALAM *et al.*, 2010; BOER; GAILLARD, 2007; MISRA *et al.*, 2003).

Diversas estratégias são utilizadas para aumentar a entrada dos fármacos no SNC, como mudança da hidrofília da molécula (pro-fármaco lipofílico), uso de agentes que desestremem a BHE momentaneamente ou a administração do medicamento diretamente no líquido encéfalo-raquidiano; contudo, os dois últimos procedimentos conferem riscos ao paciente se utilizados cronicamente (ALAM *et al.*, 2010; BOER; GAILLARD, 2007; FORTIN, 2003).

Nesse contexto, a nanotecnologia tem se mostrado promissora, pois muitos estudos pré-clínicos têm mostrado a passagem de fármacos pela BHE quando encapsulados em nanocarreadores, conferindo aumento da distribuição cerebral (FROZZA *et al.*, 2010; BERNARDI *et al.*, 2009), assim como o aumento da resposta em modelos experimentais, como de doença de Alzheimer (FROZZA *et al.*, 2013; IANISKI *et al.*, 2012; BERNARDI *et al.*, 2012), glioma (FIGUEIRÓ *et al.*, 2013; ZANOTTO-FILHO *et al.*, 2013; BERNARDI *et al.*, 2009) e pseudopsicose (BENVEGNÚ *et al.*, 2012; BENVEGNÚ *et al.*, 2011).

Além disso, a administração de fármacos pela via nasal tem sido alvo de investigações nos últimos anos, visto que é possível acessar o SNC pelas ramificações do nervo olfatório presentes na cavidade nasal, e com a vantagem de não sofrer a triagem da BHE (SHAH; YADAV; AMIJI, 2013; CHUGH; KAPOOR; KAPOOR,

2009). Por outro lado, a mucosa nasal é revestida por uma fina camada de muco, a qual é continuamente renovada, de modo que um bom sistema de liberação de fármacos para uso nasal requer propriedades mucoadesivas que favoreçam a interação entre a formulação e os componentes do muco, bem como garanta tempo de residência na cavidade nasal suficiente para que haja a liberação e absorção do fármaco (PATHAK, 2012; ILLUM, 2003).

A utilização de copolímeros no desenvolvimento de sistemas coloidais para terapêutica tem amplamente avaliada devido à versatilidade desses materiais, pois são de fácil obtenção, podem responder a estímulos ambientais (alteração de pH, de temperatura, etc.) e apresentar propriedades surfactantes (KIM *et al.*, 2010; LIU, ARMES, 2001). Esta última característica foi explorada pelo nosso grupo e uma nova nanocápsula polimérica foi proposta utilizando um copolímero metacrílico anfifílico como estabilizante (PENNOT-CHANG *et al.*, 2012). Além disso, esse copolímero também tem relatadas propriedades mucoadesivas (QUINTANAR-GUERRERO *et al.*, 2001).

A partir do exposto, considerando a seletividade da BHE aos fármacos, o que dificulta o tratamento das doenças do SNC, a potencialidade da nanotecnologia no desenvolvimento de sistemas de liberação, e também o uso da via nasal para sua administração como forma de evitar a BHE, o presente trabalho propõe o desenvolvimento de nanocápsulas poliméricas com propriedades mucoadesivas para aplicação intranasal visando à biodistribuição de fármacos no SNC.

1. OBJETIVOS

1.1. Objetivo geral

Desenvolver nanocápsulas com propriedades mucoadesivas a partir da blenda polimérica de poli(ϵ -caprolactona) e poli(metacrilato de metila-*b*-metacrilato de 2-(metilamino)etila) e avaliar seu potencial como sistema de liberação de fármacos no SNC pela via nasal.

1.2. Objetivos específicos

- Sintetizar o copolímero anfifílico poli(MMA-*b*-DMAEMA) pela técnica de polimerização do tipo RAFT e caracterizá-lo físico-quimicamente;
- Determinar a adesividade da poli(ϵ -caprolactona) e poli(metacrilato de metila-*b*-metacrilato de 2-(metilamino)etila) em mucosa nasal *in vitro*
- Preparar nanocápsulas com a blenda poli(ϵ -caprolactona)/poli(MMA-*b*-DMAEMA) e caracterizá-las físico-quimicamente;
- Avaliar a interação das nanocápsulas com mucina *in vitro* e determinar a sua residência sobre mucosa nasal *in vitro*
- Estimar a distribuição cerebral de um fármaco modelo (olanzapina) associado às nanocápsulas após administração intranasal *in vivo*
- Avaliar a atividade antipsicótica de um fármaco modelo (olanzapina) associado às nanocapsulas após administração intranasal em modelo animal de esquizofrenia
- Verificar preliminarmente a toxicidade nasal das nanocápsulas *in vivo*
- Estabelecer o mecanismo de distribuição de diferentes fármacos nessas nanocápsulas.

As seções referentes a *Revisão de Literatura, Materiais e Métodos, Resultados e Discussões* e *Apêndices* foram excluídas, pois contém informações e dados em processo de publicação em periódicos indexados

$$\mu_E = \frac{2 \varepsilon \zeta f(ka)}{3 \eta} \quad (\text{Eq. 6})$$

4. CONCLUSÕES

- Foi possível sintetizar um copolímero em bloco, formado por MMA e DMAEMA, utilizando a técnica de RAFT, que resultou em um produto com baixa polidispersão;
- A incorporação do copolímero em filmes de PCL conferiu propriedades adesivas frente à mucosa nasal
- Foram preparadas nanocápsulas a partir de PCL e do copolímero sintetizado, as quais apresentaram população monomodal na faixa nanométrica estabelecida por diferentes técnicas de determinação de diâmetro (DL, DLS, NTA);
- A presença do bloco hidrofílico do copolímero (Poli(DMAEMA)) conferiu às nanocápsulas caráter catiônico e sensibilidade frente à variação de pH, resultando em alteração do seu diâmetro hidrodinâmico de modo inversamente proporcional;
- A incubação das nanocápsulas com solução de mucina em pH fisiológicos acarretou o aumento do diâmetro das partículas, a redução do número destas, bem como a alteração na sua mobilidade eletroforética e inversão de potencial ζ , indicando a interação do nanocarreador com a mucina;
- As nanocápsulas aumentaram o tempo de residência do fármaco modelo (olanzapina) em mucosa nasal submetida à lavagem contínua;
- A administração intranasal das nanocápsulas aumentou o teor no cérebro do fármaco modelo (olanzapina) em ratos;
- A nanoencapsulação da olanzapina aumentou sua atividade antipsicótica no modelo do PPI em ratos após administração intranasal em relação ao fármaco livre;
- As nanocápsulas desenvolvidas são capazes de encapsular tanto fármacos hidrofílicos quanto lipofílicos devido às diferentes pseudofases presentes na partícula.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAM, M. I.; BABOOTA, S.; AHUJA, A.; ALI, M.; ALI, J.; SAHNI, J. K. Intranasal administration of nanostructured lipid carriers containing CNS acting drug: Pharmacodynamic studies and estimation in blood and brain. **Journal of Psychiatric Research**, v. 46, p. 1133-1138, 2012.

ALAM, M. I.; BEG, S.; SAMAD, A. BABOOTA, S.; KOHLI, K.; ALI, J.; AHUJA, A.; AKBAR, M. Strategy for effective brain drug delivery. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 40, p. 385–403, 2010.

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

BAHADUR, S.; PATHAK, K. Buffered Nanoemulsion for Nose to Brain Delivery of Ziprasidone Hydrochloride: Preformulation and Pharmacodynamic Evaluation. **Current Drug Delivery**, v. 9, p. 596-607, 2012.

BEHL, C. R.; PIMPLASKAR, H. K.; SILENO, A. P.; MEIRELES, J.; ROMEO, V. D. Effects of physicochemical properties and other factors on systemic nasal drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 29, p. 89–116, 1998.

BEIJA, M.; SALVAYRE, R.; VIGUERIE, N. L.; MARTY, J. Colloidal systems for drug delivery: from design to therapy. **Trends in Biotechnology**, v. 30, p. 485-496, 2012.

BENVEGNÚ, D. M.; BARCELOS, R. C. S.; BOUFLEUR, N.; PASE, C. S.; RECKZIEGEL, P.; FLORES, F. C.; OURIQUE, A. F.; NORA, M. D.; SILVA, C. B.; BECK, R. C. R.; BÜRGER, M. E. Haloperidol-loaded polysorbate-coated polymeric nanocapsules decrease its adverse motor side effects and oxidative stress markers in rats. **Neurochemistry International**, v. 61, p. 623–631, 2012.

BENVEGNÚ, D. M.; BARCELOS, R. C. S.; BOUFLEUR, N.; RECKZIEGEL, P.; PASE, C. S.; OURIQUE, A. F.; BECK, R. C. R.; BÜRGER, M. E. Haloperidol-loaded polysorbate-coated polymeric nanocapsules increase its efficacy in the antipsychotic treatment in rats. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 77, p. 332–336, 2011.

BERNARDI, A.; BRAGANHOL, E.; JÄGER, E.; FIGUEIRÓ, F.; EDELWEISS, M. I.; POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S.; BATTASTINI, A. M. O. Indomethacin-loaded nanocapsules treatment reduces in vivo glioblastoma growth in a rat glioma model. **Cancer Letters**, v. 281, p. 53–63, 2009.

BERNARDI, A.; FROZZA, R. L.; MENEGHETTI, A.; HOPPE, J. B.; BATTASTINI, A. M. O.; POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S.; SALBEGO, C. G. Indomethacin-loaded lipid-core nanocapsules reduce the damage triggered by A β 1-42 in Alzheimer's disease models. **International Journal of Nanomedicine**, v. 7, p. 4927–4942, 2012.

BETTENCOURT, A.; ALMEIDA, A. J. Poly(methyl methacrylate) particulate carriers in drug delivery. **Journal of Microencapsulation**, v. 29, p. 353-67, 2012.

BOER, A. G.; GAILLARD, P. J. Drug Targeting to the Brain. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 47, p. 323-355, 2007.

BOYD, R. D.; PICHAIMUTHU, S. K.; CUENAT, A. New approach to inter-technique comparisons for nanoparticle size measurements; using atomic force microscopy, nanoparticle tracking analysis and dynamic light scattering. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**, v. 387, p. 35–42, 2011.

BRIGGER, I.; DUBERNET, C.; COUVREUR, P. Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, v. 54, p. 631–651, 2002.

CALVO, P.; VILA-JATO, J. L.; ALONSO, M. A. Comparative in Vitro Evaluation of Several Colloidal Systems, Nanoparticles, Nanocapsules, and Nanoemulsions, as Ocular Drug Carriers. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 85, p. 530-536, 1996.

CARVALHO, F. C.; BRUSCHI, M. L.; EVANGELISTA, R. C.; GREMIÃO, M. P. D. Mucoadhesive drug delivery systems. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, p. 1-17, 2010.

CHIEFARI, J.; CHONG, Y. K.; ERCOLE, F.; KRSTINA, J.; JEFFERY, J.; LE, T. P. T.; MAYADUNNE, R. T. A.; MEIJS, G. F.; MOAD, C. L.; MOAD, G.; RIZZARDO, E.; THANG, S. H. Living Free-Radical Polymerization by Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer: The RAFT Process. **Macromolecules**, v. 31, p. 5559-5562, 1998.

CHUGH, Y.; KAPOOR, P.; KAPOOR, A. K. Intranasal drug delivery: a novel approach. **Indian J Otolaryngol Head Neck Surg**, v. 61, p. 90–94, 2009.

COLOMÉ, L. M.; RAFFIN, R. P.; ASSUMPÇÃO, E. R.; POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S. Theospheres based on *Theobroma grandiflorum* seed butter: development of innovative nanoparticles for skin application.

CONTRI, R. V.; RIBEIRO, K. L. F.; FIEL, L. A.; POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S. Vegetable oils as core of cationic polymeric nanocapsules: influence on the physicochemical properties. **Journal of Experimental Nanoscience**, p. 1–12, 2012.

CRUZ, L.; SOARES, L. U.; COSTA, T. D.; MEZZALIRA, G.; SILVEIRA, N. P.; GUTERRES, S. S.; POHLMANN, A. R. Diffusion and mathematical modeling of release profiles from nanocarriers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 313, p. 198–205, 2006.

DELGADO, A. V.; GONZÁLEZ-CABALLERO, F.; HUNTER, R. J.; KOOPAL, L. K.; LYKLEMA, J. Measurement and interpretation of electrokinetic phenomena. **Pure Appl. Chem.**, v. 77, n. 10, p. 1753–1805, 2005.

DIKPATI, A.; MADGULKAR, A. R.; KSHIRSAGAR, S. J.; BHALEKAR, M. R.; CHAHAL, S. A. Targeted Drug Delivery to CNS using Nanoparticles. **Journal of advanced pharmaceutical sciences**, v. 2, p. 179-191, 2012.

DIMER, F. A.; POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S. Characterization of Rheology and Release Profiles of Olanzapine-Loaded Lipid-Core Nanocapsules in Thermosensitive Hydrogel. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 13, p. 1-10, 2013.

DOMINGOS, R. F.; BAALOUSHA, M. A.; JU-NAM, Y.; REID, M. M.; TUFENKJI, N.; LEAD, J. R.; LEPPARD, G. G.; WILKINSON, K. J. Characterizing Manufactured Nanoparticles in the Environment: Multimethod Determination of Particle Sizes. **Environ. Sci. Technol.**, v. 43, p. 7277–7284, 2009.

DUSCI, L. J.; HACKETT, L. P.; FELLOWS, L. M.; ILETT, K. F. Determination of olanzapine in plasma by high-performance liquid chromatography using ultraviolet absorbance detection. **J. Chromatogr. B**, v. 773, p. 191-197, 2002.

ESKANDARI, S.; VARSHOSAZ, J.; MINAIYAN, M.; TABBAKHIAN, M. Brain delivery of valproic acid via intranasal administration of nanostructured lipid carriers: in vivo pharmacodynamic studies using rat electroshock model. **International Journal of Nanomedicine**, v. 6, p. 363–371, 2011.

FERRANTI, V.; MARCHAIS, H.; CHABENAT, C.; ORECCHIONI, A. M.; LAFONT, O. Primidone-loaded poly- ϵ -caprolactone nanocapsules: incorporation efficiency and in vitro release profiles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 193, p. 107-111, 1999.

FERRIOLA, M.; GENTILHOMME, A.; COCHEZ, M.; OGET, N.; MIELOSZYNSKI, J. L. Thermal degradation of poly(methyl methacrylate) (PMMA): modelling of DTG and TG curves. **Polymer Degradation and Stability**, v. 79, p. 271-281, 2003.

FESSI, H.; PUISIEUX, F.; DEVISSAGUET, J. P.; AMMOURY, N.; BENITA, S. Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 55, 1989.

FIGUEIRÓ, F.; BERNARDI, A.; FROZZA, R. L.; TERROSO, T.; ZANOTTO-FILHO, A.; JANDREY, E. H. F.; MOREIRA, J. C. F.; SALBEGO, C. G.; EDELWEISS, M. I.; POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S.; BATTASTINI, A. M. O. Resveratrol-Loaded Lipid-Core Nanocapsules Treatment Reduces In Vitro and In Vivo Glioma Growth. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 9, p. 1–11, 2012.

FILIFE, V.; HAWE, A.; JISKOOT, W. Critical Evaluation of Nanoparticle Tracking Analysis (NTA) by NanoSight for the Measurement of Nanoparticles and Protein Aggregates. **Pharmaceutical Research**, v. 27, p. 796-810, 2010.

FORTIN, D. Altering the properties of the blood–brain barrier: disruption and permeabilization. **Prog Drug Res**, v. 61, p. 125–154, 2003.

FRISKEN, B. J. Revisiting the method of cumulants for the analysis of dynamic light-scattering data. **Applied Optics**, v. 40, p. 4087 – 4091, 2001.

FROZZA, R. L.; BERNARDI, A.; HOPPE, J. B.; MENEGHETTI, A. B.; MATTÉ, A.; BATTASTINI, A. M. O.; POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S.; SALBEGO, C. Neuroprotective Effects of Resveratrol Against A β Administration in Rats are Improved by Lipid-Core Nanocapsules. **Mol Neurobiol**, v. 47, p. 1066–1080, 2013.

FROZZA, R. L.; BERNARDI, A.; PAESE, K.; HOPPE, J. B.; SILVA, T.; BATTASTINI, A. M. O.; POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S.; SALBEGO, C. Characterization of trans-Resveratrol-Loaded Lipid-Core Nanocapsules and Tissue Distribution Studies in Rats. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 6, p. 1–10, 2010.

FROZZA, R. L.; BERNARDI, A.; PAESE, K.; HOPPE, J. B.; SILVA, T.; BATTASTINI, A. M. O.; POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S.; SALBEGO, C. Characterization of trans-Resveratrol-Loaded Lipid-Core Nanocapsules and Tissue Distribution Studies in Rats. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 6, p. 1–10, 2010.

GUYTON, A. C. **Tratado de fisiologia médica**. 11^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

HANSON, L. R.; FREY, W. H. Intranasal delivery bypasses the blood-brain barrier to target therapeutic agents to the central nervous system and treat neurodegenerative disease. **BMC Neuroscience**, v. 9, p. 1-4, 2008.

HU, Y.; CHEN, C. The effect of end groups on the thermal degradation of meloxicam-loaded nanocapsules against amyloid- β peptide-induced damage in mice. **Behavioural Brain Research**, v. 230, p. 100-107, 2012.

ILLUM, L. Nanoparticulate Systems for Nasal Delivery of Drugs: A Real Improvement over Simple Systems? **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, p. 473-483, 2006.

ILLUM, L. Nasal drug delivery – possibilities, problems and solutions. **Journal of Controlled Release**, v. 87, p. 187-198, 2003.

IVARSSON, D.; WAHLGREN, M. Comparison of in vitro methods of measuring mucoadhesion: Ellipsometry, tensile strength and rheological measurements. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 92, p. 353-359, 2012.

JIANG, J.; OBERDÖRSTER, G.; BISWAS, P. Characterization of size, surface charge, and agglomeration state of nanoparticle dispersions for toxicological studies. **J Nanopart Res**, v. 11, p. 77–89, 2009.

JOGANI, V. V.; SHAH, P. J.; MISHRA, P.; MISHRA, A. K. Intranasal Mucoadhesive Microemulsion of Tacrine to Improve Brain Targeting. **Alzheimer Dis Assoc Disord**, v. 22, p. 116-124, 2008.

JONES, C. A.; WATSON, D. J. G.; FONE, K. C. F. Animal models of Schizophrenia. **British Journal of Pharmacology**, v. 164, p. 1162–1194, 2011.

JORNADA, D. S.; FIEL, L. A.; BUENO, K.; GERENT, J. F.; PETZHOLD, C. L.; BECK, R. C. R.; GUTERRES, S. S.; POHLMANN, A. R. Lipid-core nanocapsules: mechanism of self-assembly, control of size and loading capacity. **Soft Matter**, v. 8, p. 6646-6655, 2012.

KALGUTKAR, A. S.; MARNETT, A. B.; CREWS, B. C.; REMMEL, R. P. Ester and Amide Derivatives of the Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug, Indomethacin, as Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitors. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, p. 2860-2870, 2000.

KEELY, S.; RULLAY, A.; WILSON, C.; CARMICHAEL, A.; CARRINGTON, S.; CORFIELD, A.; HADDLETON, D. M.; BRAYDEN, D. J. In vitro and ex vivo Intestinal Tissue Models to Measure Mucoadhesion of Poly (Methacrylate) and N-Trimethylated Chitosan Polymers. **Pharmaceutical Research**, v. 22, p. 38-49, 2005.

KHUTORYANSKIY, V. V. Advances in Mucoadhesion and Mucoadhesive Polymers. **Macromol. Biosci.**, v. 11, p. 748–764, 2011.

KIM, K. T.; MEEUWISSEN, S. A.; NOLTE, R. J. M.; HEST, J. C. M. Smart nanocontainers and nanoreactors. **Nanoscale**, v. 2, p. 844–858, 2010.

KORSMEYER, R. W.; GUMY, R.; DOELKER, E.; BURI, P.; PEPPAS, N. A. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 15, p. 25-35, 1983.

KUMAR, M.; MISRA, A.; MISHRA, A. K.; MISHRA, P.; PATHAK, K. Mucoadhesive nanoemulsion-based intranasal drug delivery system of olanzapine for brain targeting. **Journal of Drug Targeting**, v. 16, p. 806–814, 2008.

- LARRAURI, J.; SCHMAJUK, N. Prepulse inhibition mechanisms and cognitive processes: a review and model. **Neurotransmitter Interactions and Cognitive Function**, v. 98, p. 245-278, 2006.
- LIAO, J. F.; WANG, C.; WANG, Y. J.; LUO, F.; QIAN, Z. Y. Recent Advances in Formation, Properties, and Applications of Polymersomes. **Current Pharmaceutical Design**, v. 18, p. 3432-3441, 2012.
- LIELEG, O.; VLADESCU, I.; RIBBECK, K. Characterization of Particle Translocation through Mucin Hydrogels. **Biophysical Journal**, v. 98, p. 1782–1789, 2010.
- LIMER, A. J.; ULLAY, A. K.; MIGUEL, V. S.; PEINADO, C.; KEELY, S.; FITZPATRICK, E.; CARRINGTON, S. D.; BRAYDEN, D.; HADDLETON, D. M. Fluorescently tagged star polymers by living radical polymerisation for mucoadhesion and bioadhesion. **Reactive & Functional Polymers**, v. 66, p. 51–64, 2006.
- LIN, S.; DU, F.; WANG, Y.; JI, S.; LIANG, D.; YU, L.; LI, Z. An Acid-Labile Block Copolymer of PDMAEMA and PEG as Potential Carrier for Intelligent Gene Delivery Systems. **Biomacromolecules**, v. 9, p. 109–115, 2008.
- LIU, S.; ARMES, S. P. Recent advances in the synthesis of polymeric surfactants. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 6, p. 249-256, 2001.
- LUO, Y.; YUAN, J.; LIU, X.; XIE, H.; GAO, Q. Self-assembled Polyion Complex Micelles based on PVP-b-PAMPS and PVP-b-PDMAEMA for Drug Delivery. **Journal of Bioactive and Compatible Polymers**, v. 25, p. 292-304, 2010.
- MACHADO, A. **Neuroanatomia Funcional**. 2^a ed., Rio de Janeiro: Atheneu, 2004.
- MAHL, D.; DIENDORF, J.; MEYER-ZAIKA, W.; EPPLE, M. Possibilities and limitations of different analytical methods for the size determination of a bimodal dispersion of metallic nanoparticles. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**, v. 377, p. 386–392, 2011.
- MALVERN. **Mastersizer® 2000 User's guide** – Malvern Instruments, 2007.
- MALVERN. **Zetasizer Nano Series® User's guide** – Malvern Instruments, 2004.
- MANDAL, D.; HOSOI, H.; CHATTERJEE, U.; TAHARA, T. Direct observation of time-dependent photoluminescence spectral shift in CdS nanoparticles synthesized in polymer solutions. **J. Chem. Phys.**, v. 130, 2009.
- MAZZARINO, L.; TRAVELET, C.; ORTEGA-MURILLO, S.; OTSUKA, I.; PIGNOT-PAINTRAND, I.; LEMOS-SENNA, E.; BORSALI, R. Elaboration of

chitosan-coated nanoparticles loaded with curcumin for mucoadhesive applications. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 370, p. 58–66, 2012.

MD, S.; KHAN, R. A.; MUSTAFA, G.; CHUTTANI, K.; BABOOTA, S.; SAHNI, J. K.; ALI, J. Bromocriptine loaded chitosan nanoparticles intended for direct nose to brain delivery: Pharmacodynamic, Pharmacokinetic and Scintigraphy study in mice model. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 48, p. 393–405, 2013.

MENGUAL, O.; MEUNIER, G.; CAYRE, I.; PUECH, K.; SNABRE, P. TURBISCAN MA 2000: multiple light scattering measurement for concentrated emulsion and suspension instability analysis. **Talanta**, v. 50, p. 445 – 456, 1999. methacrylate-co-methyl methacrylate. **Biomaterials**, v. 22, p. 957-961, 2001.

MISHRA, V.; KUMAR, R. Living radical polymerization: a review. **Journal of Scientific Research**, v. 56, p. 141-176, 2012.

MISRA, A.; GANESH S.; SHAHIWALA, A.; SHAH, S. P. Drug delivery to the central nervous system: a review. **J Pharm Pharmaceut Sci**, v. 6, p. 252-273, 2003.

MOAD, G.; RIZZARDO, E.; HANG, S. H. Living radical polymerization by the RAFT process. **Aus. J. Chem.**, v. 58, p. 379-410, 2005.

MODI, G.; PILLAY, V.; CHOONARA, Y. E. Advances in the treatment of neurodegenerative disorders employing nanotechnology. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, v. 1184, p. 154–172, 2010.

MODI, G.; PILLAY, V.; CHOONARA, Y. E.; NDESENDO, V. M. K.; TOIT, L. C.; NAIDOO, D. Nanotechnological applications for the treatment of neurodegenerative disorders. **Progress in Neurobiology**, v. 88, p. 272–285, 2009.

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

NI, P.; ZHANG, M.; MA, L.; FU, S. Poly(dimethylamino)ethyl Methacrylate for Use as a Surfactant in the Miniemulsion Polymerization of Styrene. **Langmuir**, v. 22, p. 6016-6023, 2006.

ODIAN, G. **Principles of Polymerization**. 4th ed., New Jersey: Wiley-Interscience, 2004.
of poly(methyl methacrylate). **Polymer Degradation and Stability**, v. 82, p. 81-88, 2003.

OLIVEIRA; C. P.; VENTURINI, C. G.; DONIDA, B.; POLETTO, F. S.; GUTERRES, S. S.; POHLMANN, A. R. An algorithm to determine the mechanism of

drug distribution in lipid-core nanocapsule formulations. **Soft Matter**, v. 9, p. 1141–1150, 2013.

PARDEIKE, J.; HOMMOSS, A.; MÜLLER, R. H. Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 366, p. 170–184, 2009.

PATEL, D.; NAIK, S.; MISRA, A. Improved Transnasal Transport and Brain Uptake of Tizanidine HCl-Loaded Thiolated Chitosan Nanoparticles for Alleviation of Pain. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 101, p. 690-706, 2012.

PENOTT-CHANG, E.; WALTHER, A.; MILLARD, P.; JÄGER, A.; JÄGER, E.; MÜLLER, A. H. E.; GUTERRES, S. S.; POHLMANN, A. R. Amphiphilic Diblock Copolymer and Polycaprolactone Blends to Produce New Vesicular Nanocarriers. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 8, p. 1–8, 2012.

POHLMANN, A. R.; SOARES, L. U; CRUZ, L.; SILVEIRA, N. P.; GUTERRES, S. S. Alkaline hydrolysis as a tool to determine the association form of indomethacin in nanocapsules prepared with poly(3-caprolactone). **Current Drug Delivery**, v. 1, p. 103–110, 2004.

PORSOLT, R. D.; MOSER, P. C.; CASTAGNÉ, V. Behavioral Indices in Antipsychotic Drug Discovery. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 333, p. 632-638, 2010.

QUINTANAR-GUERRERO, D.; VILLALOBOS-GARCÍA, R.; ALVAREZ-COLÍN, E.; CORNEJO-BRAVO, J. M. In vitro evaluation of the bioadhesive properties of hydrophobic polybasic gels containing N,N-dimethylaminoethyl

RAWLINSON, L. B.; RYAN, S. M.; MANTOVANI, G.; SYRETT, J. A.; HADDLETON, D. M.; BRAYDEN, D. J. Antibacterial Effects of Poly(2-(dimethylaminoethyl)methacrylate) against Selected Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria. **Biomacromolecules**, v. 11, p. 443–453, 2010.

SAHNOUN, M.; CHARREYRE, M. T.; VERON, L.; DELAIR, T.; D'AGOSTO, F. Synthetic and Characterization Aspects of Dimethylaminoethyl Methacrylate Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer (RAFT) Polymerization. **Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry**, v. 43, p. 3551–3565, 2005.

SALAMA, H. A.; MAHMOUDA, A. A.; KAMEL, A. O.; HADYA, M. A.; AWAD, G. A. S. Phospholipid based colloidal poloxamer-nanocubic vesicles for brain targeting via the nasal route. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 100, p. 146-154, 2012.

SAPINO, S.; CARLOTTI, M. E.; CARON, G.; UGAZIO, E.; CAVALLI, R. In silico design, photostability and biological properties of the complex

resveratrol/hydroxypropyl- β -cyclodextrin. **J Incl Phenom Macrocycl Chem**, v. 63, p.171-180, 2009.

SARTORI, T.; SEIGI, M. F.; PINHEIRO, C. A.; MACHADO, C. A. Development and validation of a fast RP-HPLC method for determination of methotrexate entrapment efficiency in polymeric nanocapsules. **J. Chromatogr. Sci.**, v. 46, p. 505–509, 2008.

SCHAFFAZICK, S. R.; SIQUEIRA, I. R.; BADEJO, A. S.; JORNADA, D. S.; POHLMANN, A. R.; NETTO, C. A.; GUTERRES, S. S. Incorporation in polymeric nanocapsules improves the antioxidant effect of melatonin against lipid peroxidation in mice brain and liver. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, p. 64–71, 2008.

SCHATZBERG, A. F.; COLE, J. O.; DE BATTISTA, C. **Manual de psicofarmacologia clínica**. 6^a ed., Porto alegre: Artmed, 2009.

SEJU, U.; KUMAR, A.; SAWANT, K. K. Development and evaluation of olanzapine-loaded PLGA nanoparticles for nose-to-brain delivery: In vitro and in vivo studies. **Acta Biomaterialia**, v. 7, p. 4169–4176, 2011.

SHAH, L.; YADAV, S.; AMIJI, M. Nanotechnology for CNS delivery of bio-therapeutic agents. **Drug Deliv. and Transl. Res.**, DOI 10.1007/s13346-013-0133-3.

SILVA, C. B. D. **Nanotecnologia na prevenção de danos à pele induzidos por radiação ultravioleta: aspectos de segurança e desenvolvimento de formulações inovadoras**: 2013, 147f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

SMART, J. D. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, p. 1556-1568, 2005.

STRIEGEL, A. M. Size-exclusion chromatography: smaller, faster, multi-detection, and multi-dimensions. **Anal Bioanal Chem**, v. 390, p. 303–305, 2008.

SVENSSON, O.; THURESSON, K.; ARNEBRANT, T. Interactions between Drug Delivery Particles and Mucin in Solution and at Interfaces. **Langmuir**, v. 24, p. 2573-2579, 2008.

SWERDLOW, N. R.; GEYER, M. A. Using an Animal Model of Deficient Sensorimotor Gating to Study the Pathophysiology and New Treatments of Schizophrenia. **Schizophrenia Bulletin**, v. 24, p. 285-301, 1998.

TADROS, T. Polymeric surfactants in disperse systems. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 147–148, p. 281–299, 2009.

TALEGAONKAR, S.; MISHRA, P. R. Intranasal delivery: An approach to bypass the blood brain barrier. **Indian J Pharmacol**, v. 36, p. 140-147, 2004.

THAKKAR, H. P.; PATEL, A. A.; CHAUHAN, N. P. Intranasal mucoadhesive microemulsion of mirtazapine: Pharmacokinetic and pharmacodynamic studies. **Asian J Pharm**, v. 7, p. 36-42, 2013.

THAKRAL, S.; THAKRAL, N. K.; MAJUMDAR, D. K. Eudragit®: a technology evaluation. **Expert Opin Drug Deliv**, v. 10, p.131-49, 2013.

TORCHILIN, V. P. Structure and design of polymeric surfactant-based drug delivery systems. **Journal of Controlled Release**, v. 73, p. 137–172, 2001.

VENTURINI, C. G.; JÄGER, E.; OLIVEIRA, C. P.; BERNARDI, A.; BATTASTINI, A. M. O.; GUTERRES, S. S.; POHLMANN, A. R. Formulation of lipid core nanocapsules. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**, v. 375, p. 200–208, 2011.

WEN, Z.; YAN, Z.; HU, K.; PANG, Z.; CHENG, X.; GUO, L. R.; ZHANG, Q.; JIANG, X.; FANG, L.; LAI, R. Odorranalectin-conjugated nanoparticles: Preparation, brain delivery and pharmacodynamic study on Parkinson's disease following intranasal administration. **Journal of Controlled Release**, v. 151, p. 131–138, 2011.

WETERING, P.; CHERNG, J. Y.; TALSMA, H.; CROMMELIN, D. J. A.; HENNINK, W. E. 2-(dimethylamino)ethyl methacrylate based (co)polymers as gene transfer agents. **Journal of Controlled Release**, v. 53, p. 145–153, 1998.

WETERING, P.; ZUIDAM, N. J.; STEENBERGEN, M. J.; HOUWEN, O. A. G. J.; UNDERBERG, W. J. M.; HENNINK, W. E. A Mechanistic Study of the Hydrolytic Stability of Poly(2-(dimethylamino)ethyl methacrylate). **Macromolecules**, v. 31, p. 8063-8068, 1998.

WILKINSON, I.; LENNOX G. **Essential neurology**. 4th ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2005.

WNEK, W. J.; DAVIES, R. An Analysis of the Dependence of the Zeta Potential and Surface Charge on Surfactant Concentration, Ionic Strength and pH. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 60, p. 361-375, 1977.

YONCHEVA, K.; LIZARRAGA, E.; IRACHE, J. M. Pegylated nanoparticles based on poly(methyl vinyl ether-co-maleic anhydride): preparation and evaluation of their bioadhesive properties. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 24, p. 411–419, 2005.

ZANOTTO-FILHO, A.; CORADINI, K.; BRAGANHOL, E.; SCHRÖDER, R.; OLIVEIRA, C. M.; SIMÕES-PIRES, A.; BATTASTINI, A. M. O.; POHLMANN, A.

R.; GUTERRES, S. S.; FORCELINI, C. M.; BECK, R. C. R.; MOREIRA, J. C. F. Curcumin-loaded lipid-core nanocapsules as a strategy to improve pharmacological efficacy of curcumin in glioma treatment. **European. Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 83, p. 156–167, 2013.

