

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CÂMPUS DE ARARAQUARA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ANDRÉ LUÍS DIAS

***Quality by Design* e Gerenciamento de Riscos como estratégias para a construção de um
modelo regulatório para medicamentos de base nanotecnológica**

ARARAQUARA - SP

2017

ANDRÉ LUÍS DIAS

***Quality by Design* e Gerenciamento de Riscos como estratégias para a construção de um modelo regulatório para medicamentos de base nanotecnológica**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa em Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Profa. Dra. Maria Palmira Daflon Gremião

ARARAQUARA - SP

2017

Ficha Catalográfica

Elaborada por Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

D541q

Dias, André Luís

Quality by Design e Gerenciamento de Riscos como estratégias para a construção de um modelo regulatório para medicamentos de base nanotecnológica / André Luís Dias. – Araraquara, 2017.
177 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.
Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas.
Área de Pesquisa em Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos.

Orientadora: Maria Palmira Daflon Gremião.

1. Nanotecnologia. 2. Medicamento. 3. Regulação. 4. Gerenciamento de Riscos. 5. Quality by Design (QbD). I. Gremião, Maria Palmira Daflon, orient. II. Título.

CAPES: 40300005

ANDRÉ LUÍS DIAS

***Quality by Design* e Gerenciamento de Riscos como estratégias para a construção de um modelo regulatório para medicamentos de base nanotecnológica**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa em Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Comissão Examinadora

Dra. Maria Palmira Daflon Gremião

Dr. Pedro Canísio Binsfeld

Dr. Marco Vinícius Chaud

Dr. Marlus Chorilli

Dra. Beatriz Stringhetti Ferreira Cury

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Maurício Caetano Dias e Vanderlice Barbosa Dias. Mesmo sem a oportunidade de estudarem, souberam ensinar aos filhos o valor da educação e a importância de se dedicar ao trabalho. Dedico a vocês este resultado, doutores da Escola da Vida.

Também dedico este trabalho ao meu tio Luiz Bosco que enfrentou dificuldades com a sua saúde e soube, com bastante destreza, superá-las. Espero que este trabalho auxilie no desenvolvimento de novos medicamentos cada vez mais seguros e eficazes para o Sr. e para tantos outros brasileiros.

AGRADECIMENTOS

Este é um momento muito importante. É a chegada de uma maratona de 12.000 quilômetros e com mais de quatrocentos pedágios, desde as disciplinas optativas até a conclusão deste doutorado...

Neste longo percurso, sempre fui acompanhado de um amigo especial... Deus! Ele sempre me iluminou, indicando o caminho e as pedras.

Posso comparar esta tese a uma grande jornada. Muitas foram as dificuldades... mas havia pessoas que acreditavam no meu sonho, apostavam que daria certo, e estavam ali, bem ao meu lado, para me apoiar nos momentos mais difíceis. A estas pessoas, meu sincero agradecimento.

À minha esposa Lorena que me acompanhou desde o início, como uma grande companheira. Lorena foi uma grande guia. Foi psicóloga nos momentos que o chão saía debaixo dos pés, articuladora de projetos, corretora de português e, mais que tudo, um porto seguro. Uma pessoa muito especial, minha inspiração.

Meus pais, Maurício e Vanderlice, meus irmãos, Elaine e Everton, meus sobrinhos, primos, tio Luiz e Tia Lena... vocês são meu combustível. Saí de casa com uma mochila cheia de força de vontade, determinação e exemplos. Foi preciso parar por várias vezes, tomar fôlego e, lá no fundo da mochila, pegar o que precisava, o que me faria seguir adiante: o amor da minha família.

Parti de longe para conhecer a UNESP e a professora Palmira, durante o mestrado e agora no doutorado. A Professora Palmira, como uma grande orientadora, me indicou qual caminho seguir, qual a melhor forma de seguir com este projeto, quais seriam minhas dificuldades e desafios a serem transpostos. Professora Palmira, à senhora meu especial agradecimento! Agradeço por ter me apoiado e compreendido minhas ideias, minhas limitações e a vontade de desenvolver este trabalho. Chego aqui como um profissional mais completo, pois a senhora soube me orientar para onde eu deveria direcionar os esforços, o que fazer para expandir minha visão e me tornar um profissional mais completo. Muito obrigado!

Agradeço ao Renan e à Dani que me indicaram por onde começar e quem estaria lá para me ajudar neste caminho. No caminho encontrei com meu grande amigo e às vezes até consultor de inglês, Luís Guilherme e a amiga Ste. Estes amigos, por várias vezes, compreenderam minhas ausências, minhas lamúrias e agora sei que estão felizes pela minha chegada.

Aos colegas de trabalho das empresas Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos e Germed Pharma que tiveram, em diversos momentos, a sensibilidade necessária para me ajudar a conciliar trabalho e universidade. Obrigado a vocês, pois sem essa ajuda a chegada não seria possível.

Agradeço aos colegas Dr. Leonardo Miziara e Dr. Fábio Barros pela atenção e dedicação dispensada durante o Exame de Qualificação. As sugestões apresentadas foram importantes para lapidar este trabalho.

Liliane e Natália, obrigado pela atenção e auxílio dispensados diversas vezes em razão da minha distância de Araraquara.

Agradeço às meninas da pós-graduação que em tantos momentos estiveram atentas a me ajudar para a obtenção de créditos, matrículas em disciplinas, envio de relatórios por Correios. Muito obrigado por terem entendido as dificuldades advindas da distância e do meu trabalho. Agradeço aos funcionários da Biblioteca, Irani pelas instruções para a elaboração deste trabalho e Max e Lívia, pelo auxílio com as renovações de livro, mesmo à distância.

Agradeço a todos que trabalham ou trabalharam com os aspectos técnicos e regulatórios de nanomateriais e nanotecnologia, pois criaram ferramentas para desenvolver este trabalho. Sem conhecê-lo pessoalmente, agradeço ao Dr. Barenholz, que divulgou os sucessos e insucessos de 30 anos desenvolvendo o produto Doxil[®]. Sem estes dados este trabalho não podia ser desenvolvido.

A lista de agradecimentos é imensa e certamente muitos não estão aqui. A vocês, merecedores de agradecimentos, saibam que em meu coração e em minha mente está o merecido agradecimento. Chego aqui, agradeço, e sigo... afinal há mais caminhos a trilhar, novas distâncias a percorrer e novos desafios a encarar.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê”.

Arthur Schopenhauer

RESUMO

A nanotecnologia tem evoluído rapidamente em diversas áreas, incluindo na área farmacêutica. Para produtos sujeitos à regulação sanitária, em especial medicamentos, esta evolução é um desafio regulatório. Embora já existam medicamentos base nanotecnológica disponíveis no mercado, existem importantes lacunas regulatórias que precisam ser preenchidas. Assim, frente à importância e ao impacto deste tema, foi realizada uma pesquisa científica-regulatória de modo a propor bases para a construção de um arcabouço regulatório, em especial para a regulação de medicamentos de base nanotecnológica. Ficou evidente que não existe, a nível mundial, diretrizes únicas para este tipo de regulação, iniciando pela ausência de consenso no conceito de “nanomaterial”. Percebe-se como consenso internacional que a complexidade e diversidade que cerca os nanomateriais exigem abordagens diferenciadas daquelas empregadas em produtos tradicionais, requerendo avaliações caso a caso e abordagens para avaliar os novos riscos introduzidos. Dessa forma, este trabalho avaliou as metodologias *Quality by Design* (QbD) e Gerenciamento de Riscos como alternativas para a construção do modelo regulatório. QbD e Gerenciamento de Riscos facilitam, compilam, direcionam e sistematizam o conhecimento e assim, por meio do desenvolvimento de produtos robustos, seguindo as etapas previstas no QbD, inclusive com a construção e sedimentação do Perfil de Qualidade Alvo do Produto e de Atributos Críticos a Qualidade, constituem importantes instrumentos para a construção da qualidade em medicamentos de base nanotecnológica. O Gerenciamento de Riscos, em especial a análise de risco, permite a categorização dos nanomateriais em cinco níveis de riscos, identificados a partir de um algoritmo construído por meio de aspectos técnicos, tornando as atividades regulatórias mais direcionadas para os produtos que oferecem maior risco. QbD e análise de riscos foram utilizados em um estudo de caso, aplicado nas etapas do desenvolvimento da doxorubicina lipossomal peguilada – Doxil[®], o primeiro e um dos principais medicamentos de base nanotecnológica disponível no mercado. As metodologias QbD e Gerenciamento de Riscos apresentadas, direcionadas e discutidas são capazes de responder às demandas regulatórias tornando-se, assim, pilares para a construção de um modelo regulatório.

Palavras-chave: Nanotecnologia; Medicamento; Regulação; Gerenciamento de Riscos; Quality by Design (QbD).

ABSTRACT

Nanotechnology has evolved rapidly in diverse areas, which include the pharmaceutical field. For products subject to sanitary regulation, especially drugs, this evolution is a regulatory challenge. Although there are nanotechnological drugs available in the market, there are important regulatory gaps that must be completed. Thus, in view of the importance and impact of the object, a scientific-regulatory research was carried out in order to propose bases for a regulatory framework, particularly for a regulation of nanotechnological drugs. It became clear that there is no a worldwide guidance for this type of regulation, starting with the lack of consensus for the concept of "nanomaterial". It has been noticed as an international consensus that the complexity and diversity surrounding nanomaterials require different approaches from those used in traditional products, demanding case-by-case evaluation and approaches to assess new introduced risks. Thus, this work evaluated Quality by Design (QbD) and Risk Management methodologies as alternatives for the construction of the regulatory model. QbD and Risk Management facilitate, compile, direct and systematize knowledge and thus, through a robust product development, following as expected by QbD steps - including a construction and sedimentation of the Product Target Quality Profile and Critical Quality Attributes - become important tools for building quality in nanotechnology-based drugs. Risk Management, especially the risk analysis, allows the categorization of the nanomaterials into five levels of risks, identified from an algorithm constructed through scientific aspects, making the regulatory activities more targeted to the greater risk products. QbD and risk analysis tools were used on a case study, applied in the development stages of pegylated liposomal doxorubicin - Doxil[®], the first and one of the main nanotechnology-based drugs available in the market. The QbD and risk management methodologies that have been presented, addressed and discussed are capable of responding to the regulatory demands, becoming pillars for the construction of a regulatory framework.

Keywords: Nanotechnology; Drug; Regulation; Risk Management; Quality by Design (QbD).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Comparação entre as escalas “Macro”, “Micro” e “Nano”	25
Figura 2 - Aspectos técnicos considerados para a definição de nanomaterial.....	50
Figura 3 - Estratificação de nanomateriais segundo abordagem sugerida pelo <i>Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks</i> (SCENIHR).....	58
Figura 4 - <i>Quality by Design</i> e Gestão de Risco apresentam-se como alternativas para atender necessidades de um modelo regulatório, considerando aspectos regulatórios sanitários e técnicos	66
Figura 5 - Organização dos itens requeridos para a definição do Perfil de Qualidade Alvo do Produto	69
Figura 6 - Representação da Etapa Inicial de Aplicação da Ferramenta <i>Quality by Design</i> – Aglutinar ideias dispersas em torno de uma estrutura clara – Perfil de Qualidade Alvo do Produto	71
Figura 7 - Ciclo PDCA – <i>Plan, Do, Check, Act</i> ou <i>Adjust</i> – Planejar, Fazer, Verificar, Agir e Corrigir. Metodologia de melhoria contínua aplicável ao Aperfeiçoamento do PQAP.....	72
Figura 8 - As etapas para o amadurecimento para a definição de um Perfil de Qualidade Alvo do Produto inovadores. N-estágios de ciclos de PDCA favorecem o amadurecimento do Perfil de Qualidade Alvo	73
Figura 9 - Gráfico de superfície para indicar o impacto dos parâmetros 1 e 2 na Dissolução .	85
Figura 10 - Etapas do Ciclo de Vida de Produtos Farmacêuticos	89
Figura 11 - Espectro para Avaliação do Risco	92
Figura 12 - Processo Gerenciamento de Riscos	96
Figura 13 - Risco Potencial dos nanomateriais de acordo com suas propriedades	99
Figura 14 - Sistema de Classificação Nanotoxicológico	101

Figura 15 - Sistemática de avaliação de risco de nanomateriais e nanotecnologias: avaliação do risco associado aos aspectos físicos	103
Figura 16 - Sistemática de avaliação de risco de nanomateriais e nanotecnologias: avaliação do risco associado a interação biológica.....	104
Figura 17 - Sistema de avaliação de risco de nanomateriais e nanotecnologia considerando o uso.....	105
Figura 18 - Sistema de Avaliação de Risco de Nanomateriais e Nanotecnologias, com ações a serem adotadas para mitigação e demonstração de segurança, eficácia e qualidade.	106
Figura 19 - Compilado das características a serem continuamente consideradas para a obtenção de DOX Lipossomal que responda aos insucessos clínicos primários.....	118
Figura 20 - Representação esquemática simplificada da movimentação para carregamento ativo de DOX nos lipossomas	121
Figura 21- Exemplo de Delineamento Experimental – Superfícies de Resposta para prever EE% em relação à concentração de 1,2-Dipalmitol-sn-glicero-3-fosfocolina (DPPC%) – e a concentração de Colesterol (Cholesterol%)	129
Figura 22 - Evolução tecnológica dos Lipossomas	156
Figura 23 - Ilustração da administração endovenosa de uma nanopartícula	158
Figura 24- Representação esquemática de nanocápsula e nanoesfera polimérica.....	161
Figura 25 - Formulário considerando os diferentes aspectos a serem avaliados para o uso da metodologia QbD no desenvolvimento de medicamentos de base nanotecnológica.	171
Figura 26 - Metodologias QbD e Gerenciamento de Riscos aplicados ao Desenvolvimento do Doxil [®] - doxorrubicina lipossomal peguilada.	174

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Nanotecnologias utilizadas em produtos farmacêuticos disponíveis no mercado. .	28
Tabela 2 - Produtos nanotecnológicos para áreas de imagem, diagnóstico e biomateriais.	29
Tabela 3 - Produtos nanotecnológicos para o tratamento do câncer em triagem (fase I, II ou III) ou aprovados para uso.	30
Tabela 4 - Definições ou diretrizes nacionais para nanomateriais em países europeus.	41
Tabela 5 - Definições de Nanomateriais em Países Asiáticos e Austrália	45
Tabela 6 - Características consideradas nas diferentes definições de nanomaterial ou definições relacionadas.	51
Tabela 7 - Itens preconizados no Drug Master File.....	76
Tabela 8 - Exemplos de condições simuladas para avaliação do perfil de liberação in vitro de doxorubicina a partir de lipossomas peguilados.	81
Tabela 9 - Matriz de Classificação dos Nanomateriais baseado nos 8 questionamentos.	97
Tabela 10 - Características dos grupos dos nanomateriais e risco potencial definido.	98
Tabela 11 - Produtos lipossomais disponíveis no mercado.	109
Tabela 12 - Dados técnicos – cloridrato de doxorubicina.....	112
Tabela 13 - Fatores de Risco associados à cardiotoxicidade das antraciclinas	114
Tabela 14 - Comparação de parâmetros farmacocinéticos entre Rubex® (DOX livre) e Doxil® (DOX lipossomal peguilada).	123
Tabela 15 - Análise de risco: componentes da formulação.	127
Tabela 16 - Análise de risco: operações unitárias.	128
Tabela 17 - Nomenclatura e Tamanho aproximado de Lipossomas.	154
Tabela 18 - Definições de Nanocristais por diversos autores.....	164

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice A - Aspectos Técnicos relacionadas às principais tecnologias utilizadas no desenvolvimento de medicamentos de base nanotecnológica	153
Apêndice B - Formulário QbD como uma estratégia de regulação de medicamentos de base nanotecnológica	171
Apêndice C - Formulário QbD e gerenciamento de riscos – estudo de caso Doxil®	174

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABDI	Agência Brasileira de Desenvolvimento Industrial
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ACM	Atributo Crítico dos Materiais
ACQ	Atributo Crítico para a Qualidade
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (do inglês <i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>)
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APIMF	<i>Active Pharmaceutical Ingredient Master File</i>
ASEM	Área Superficial Específica por Massa
ASEV	Área Superficial Específica por Volume
ASMF	<i>Active Substance Master File</i>
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CCNS	<i>Cells Cycle-Nonspecific</i>
CCS	<i>Cells Cycle-Specific</i>
cm	Centímetro
Cmáx	Concentração Plasmática Máxima
DMF	<i>Drug Master File</i>
DOX	Cloridrato de doxorrubicina
DPPC	1,2-Dipalmitol-sn-glicero-3-fosfocolina
DSC	Calorimetria Diferencial Exploratória (do inglês <i>Differential Scanning Calorimetry</i>)
DTP	Distribuição de Tamanho de Partícula
ECPR	<i>European Cosmetic Products Regulation</i>
EE	Eficiência de Encapsulação
EIV	<i>Ether Injection Vesicles</i>
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
EPA	<i>Environmental Protection Agency</i>
EPR	Elevação da Permeabilidade e Retenção (do inglês <i>Enhanced Permeability and Retention</i>)
EU	<i>European Union</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FPV	<i>French Press Vesicles</i>
g	Gramma

HPH	Homogeneizador de Alta Pressão (do inglês <i>High Pressure Homogenizer</i>)
ICC	Insuficiência Cardíaca Congestiva
ICCA	<i>International Council of Chemical Associations</i>
ICCR	<i>International Cooperation on Cosmetic Regulation</i>
ICH	<i>International Conference on Harmonization of the Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals</i>
IFA	Insumo Farmacêutico Ativo
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IPEA	Instituto de Pesquisas Econômicas Aplicada
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
l/h	Litro por hora
LUV	<i>Large Unilamellar Vesicles</i>
m	Metro
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MLV	<i>Multilamellar Vesicles</i>
mm	Milímetro
N&N	Nanomateriais e Nanotecnologia
NCI	<i>National Cancer Institute</i>
NCLS	Nanocarreador Lipídico Sólido
NIFA	<i>National Institute of Food and Agriculture</i>
NIOSH	<i>National Institute of Environmental Health Sciences</i>
NLS	Nanopartícula Lipídica Sólida
nm	Nanômetro
NNI	<i>National Nanotechnology Initiative</i>
NPM	Nanopartículas Micelares
O/A	Óleo / Água
OMS	Organização Mundial da Saúde
P&D	Pesquisa e Desenvolvimento
PAQP	Perfil de Qualidade Alvo do Produto
PCP	Parâmetros Críticos do Processo
PDCA	Planejar, Fazer, Verificar e Agir (do inglês <i>Plan, Do, Check, Act</i>)
PEG	Polietilenoglicol
pH	Potencial Hidrogeniônico
pm	Picnonômetro

QbD	<i>Quality by Design</i>
QbR	<i>Question-based Review</i>
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RE	Resolução
RES	Sistema reticuloendotelial
REV	<i>Reverse-Phase Evaporation Vesicles</i>
SCENIHR	<i>Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks</i>
SINDUSFARMA	Sindicato das Indústrias de Produtos Farmacêuticos no Estado de São Paulo
SUV	<i>Small Unilamellar Vesicles</i>
TG	Termogravimetria
T _{máx}	Tempo de Concentração Plasmática Máxima
ULV	<i>Unilamellar Vesicles</i>
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
%NP	Porcentagem do Número de Partículas
µm	Micrômetro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	OBJETIVOS	23
3	CAPÍTULO I: NANOTECNOLOGIA.....	24
3.1	A escala nano	24
3.2	Produtos farmacêuticos de base nanotecnológica	27
3.3	Os desafios para o uso da nanotecnologia em medicamentos.....	31
4	CAPÍTULO II: DEFINIÇÕES RELACIONADAS A NANOMATERIAIS E NANOTECNOLOGIA NO CONTEXTO INTERNACIONAL DE REGULAÇÃO	34
4.1	Conceitos e diretrizes em diferentes países e organizações	35
4.2	Conceitos e Diretrizes em Organizações de Cooperação Internacional.....	46
4.3	Aspectos Técnicos divergentes e convergentes nas definições.....	49
4.4	A Construção de um conceito	63
5	CAPÍTULO III: CONCEITO QUALITY BY DESIGN COMO UMA ESTRATÉGIA PARA REGULAÇÃO DE MEDICAMENTOS DE BASE NANOTECNOLÓGICA	67
5.1	Definição do Perfil (de Qualidade) Alvo do Produto.....	68
5.2	Identificação de Potenciais Atributos Críticos para a Qualidade (ACQ).....	73
5.3	Determinação de ACQ do Fármaco e outros componentes da Formulação, Seleção do Processo e Avaliação de Parâmetros.	74
5.4	Definição do Controle Estratégico	84
5.5	Benefícios e Desafios para a Implementação de QbD	86
5.6	<i>Quality by Design</i> e Gestão de Riscos como ferramentas para o Ciclo de Vida de Produtos	88
5.7	Formulário para incluir <i>Quality by Design</i> como uma estratégia de regulação de medicamentos de base nanotecnológica.	90
6	CAPÍTULO IV: UM ENFOQUE DE RISCOS EM NANOMATERIAIS E NANOTECNOLOGIA PARA REGULAÇÃO DE MEDICAMENTOS DE BASE NANOTECNOLÓGICA.....	91
6.1	Gestão de Risco.....	92
6.2	O Gerenciamento de Riscos como estratégia regulatória para medicamentos de base nanotecnológica	96

7	CAPÍTULO V: APLICAÇÃO DOS MODELOS QbD E GERENCIAMENTO DE RISCOS NO DESENVOLVIMENTO DE UM MEDICAMENTO DE BASE NANOTECNOLÓGICA – ESTUDO DE CASO DOXIL®	108
7.1	Antineoplásicos e doxorubicina.....	110
7.2	Doxorubicina lipossomal peguilada – conceitos QbD.....	114
7.3	Doxorubicina lipossomal peguilada – Gerenciamento de Riscos.....	131
7.4	QbD e Gerenciamento de Riscos no Doxil	131
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	132
	REFERÊNCIAS	134
	APÊNDICE A - Aspectos Técnicos relacionadas às principais tecnologias utilizadas no desenvolvimento de medicamentos de base nanotecnológica.	153
	APÊNDICE B - Formulário QbD como uma estratégia de regulação de medicamentos de base nanotecnológica	171
	APÊNDICE C - Formulário QbD e gerenciamento de riscos – estudo de caso Doxil®	174

1 INTRODUÇÃO

A ciência está em constante evolução e dentre as várias vertentes pelas quais segue o conhecimento, temos a nanociência, ou seja, o estudo de fenômenos e características dos materiais na escala nanométrica, em que as propriedades diferem significativamente daquelas em uma escala maior (THE ROYAL SOCIETY; THE ROYAL ACADEMY OF ENGINEERING, 2004).

A manipulação da matéria em escala nanométrica tem permitido o aumento da eficiência de fármacos utilizados na terapêutica atual, a reintrodução de outros anteriormente descartados por suas propriedades indesejáveis e o aprimoramento de novos fármacos antes que sejam utilizados na terapêutica (MAINARDES et al., 2006), cujas vantagens e desvantagens estão amplamente discutidas na literatura científica (CHEN et al., 2011). Na área farmacêutica, os sistemas nanoestruturados têm a capacidade de compartimentalizar, de maneira eficiente, diversos grupos de agentes terapêuticos e de modificar as propriedades biofarmacêuticas em meio biológico (SILER-MARINKOVIC et al., 1997; O'DRISCOLL; GRIFFIN, 2008).

Medicamentos, cosméticos, produtos médicos e outros são sujeitos às ações de vigilância sanitária que visam eliminar, diminuir ou prevenir riscos à saúde e de intervir nos problemas sanitários decorrentes do meio ambiente, da produção e circulação de bens e da prestação de serviços de interesse da saúde. Entretanto, a introdução da nanotecnologia cria desafios aos legisladores, particularmente ao poder estar relacionada a riscos à saúde e ao meio ambiente. Assim, uma nova regulamentação ou a adaptação de diretrizes já existentes será necessária para monitorar os riscos e benefícios (EUROPEAN UNION, 2010a).

A grande diversidade de composição e de estrutura, a complexidade envolvida, a introdução de novos riscos e a já presença de produtos no mercado impõem lacunas regulatórias importantes que comprometem o equilíbrio, a previsibilidade e a segurança técnico-jurídica no que diz respeito aos produtos sujeitos à regulação sanitária. Assim, nanotecnologia e os nanomateriais chegam ao mercado com benefícios, mas também riscos, resultando na necessidade de ações regulatórias urgentes.

Considerando que os medicamentos ocupam uma posição de destaque dentre os produtos sujeitos à regulação sanitária, este trabalho estuda o contexto regulatório a nível mundial, no que diz respeito aos conceitos e diretrizes científico-regulatórias relacionadas aos medicamentos de base nanotecnológica e propõe, discute e aplica pilares do Quality by Design – QbD para serem considerados para a construção regulatória.

Para suprir as demandas de complexidade e diversidade que cercam os nanomateriais e a nanotecnologia no desenvolvimento de medicamentos, as diretrizes de Desenvolvimento Farmacêutico com o conceito de *Quality by Design* – QbD são estudadas e aplicadas para a construção de um ambiente regulatório. Como os medicamentos de base nanotecnológica podem oferecer riscos diferenciados, as diretrizes para o Gerenciamento de Riscos são apresentadas e discutidas, seguido de levantamento e discussão de critérios técnicos-científicos a serem utilizados na categorização dos diferentes tipos de tecnologias e materiais envolvidos.

As diretrizes *Quality by Design* e Gerenciamento de Riscos facilitam, compilam, direcionam e sistematizam o conhecimento. Assim, este trabalho vai ao encontro de diretrizes fornecidas por órgãos reguladores de referência (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2006, 2009a; EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2015a, 2015b), necessidades já apontadas pelo setor regulado (SINDUSFARMA, 2009) e discussões que já ocorrem em nosso grupo de pesquisa (DIAS, 2013).

Frente à relevante complexidade tecnológica e riscos sanitários envolvendo a nanotecnologia e os nanomateriais, este trabalho inicia com uma breve introdução aos aspectos técnicos relacionados aos nanomateriais e nanotecnologia, bem como produtos disponíveis no mercado utilizando esta tecnologia (Capítulo I). Segue com a avaliação de definições relacionadas a nanomateriais e nanotecnologia no contexto internacional (Capítulo II), apresenta e contextualiza o conceito QbD como uma estratégia de regulação de medicamentos de base nanotecnológica (Capítulo III) e contextualiza o conceito de risco e com a apresentação da metodologia de Gerenciamento de Riscos para, por meio de análises de riscos, categorizar os nanomateriais em grupos diferenciados pelo nível de risco introduzido (Capítulo IV). Por fim, são aplicados os conceitos anteriormente discutidos em um estudo de caso – doxorubicina lipossomal peguilada (Capítulo V).

2 OBJETIVOS

Este trabalho teve por objetivo propor pilares para a construção de um modelo regulatório relacionado aos medicamentos de base nanotecnológica, considerando as metodologias QbD e Gerenciamento de Riscos.

Consideram-se, assim, os seguintes objetivos específicos:

- I) Pesquisar, acompanhar e avaliar os principais conceitos e modelos regulatórios internacionais para regulação de medicamentos de base nanotecnológica, buscando evidências científicas para fundamentar diretrizes regulatórias para avaliação destes produtos;
- II) Pesquisar e avaliar conceitos relacionados a metodologia *Quality by Design* (QbD) e estruturar os principais aspectos para a regulamentação dos medicamentos de base nanotecnológica;
- III) Pesquisar e avaliar a metodologia de Gerenciamento de Risco e estruturar os principais aspectos para a regulamentação de medicamentos de base nanotecnológica, com a categorização dos nanomateriais em grupos que podem representar maior ou menor risco sanitário;
- IV) Aplicar elementos das metodologias Gerenciamento de Risco e QbD apresentadas em um estudo de caso de um medicamento de base nanotecnológica: Doxil[®] - doxorubicina lipossomal peguilada.

3 CAPÍTULO I: NANOTECNOLOGIA

A ciência está em constante evolução e caminha para as mais diversas direções, por um lado buscando novas galáxias e por outro definindo arranjos subatômicos. Dentre as várias vertentes pelas quais caminha, temos a nanociência, ou seja, o estudo de fenômenos e a manipulação de materiais na escala nanométrica, em que as propriedades diferem significativamente daquelas em maior dimensão (THE ROYAL SOCIETY; THE ROYAL ACADEMY OF ENGINEERING, 2004).

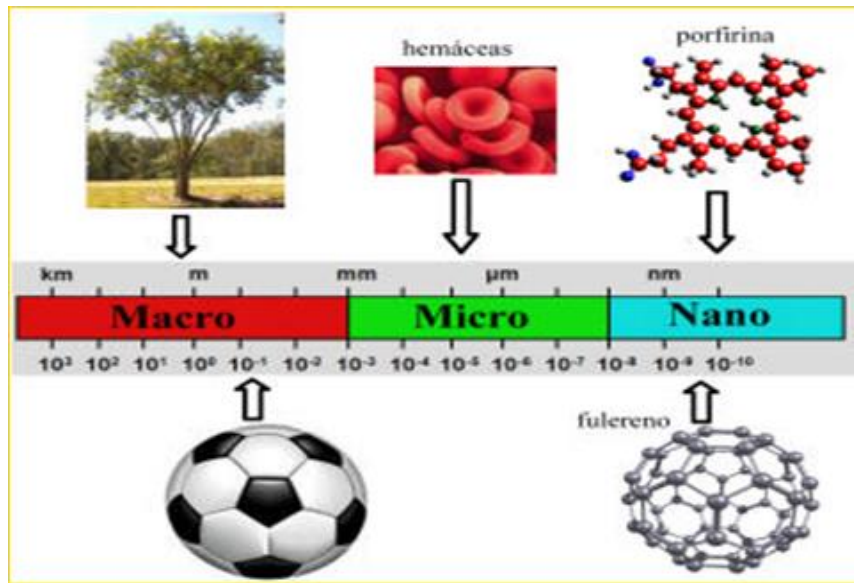
No sentido de contextualizar este tema, foi realizada uma pesquisa do tipo exploratória¹ em publicações relacionadas à nanotecnologia e nanomateriais para avaliar aspectos históricos do relacionadas ao termo “nano”, bem como busca por listas produtos de base nanotecnológica registrados junto às agências regulatórias. Por fim, tem-se avaliações iniciais indicadas pelas principais agências regulatórias a respeito dos desafios da nanotecnologia na área da saúde, em especial quando utilizada no desenvolvimento de medicamentos de base nanotecnológica.

3.1 A escala nano

O prefixo "nano" vem do grego e significa "anão". Um nanômetro (nm) equivale à bilionésima parte de um metro (10^{-9} m). Para se ter uma idéia de tamanho, um fio de cabelo humano tem 80.000nm de largura e uma célula sanguínea - glóbulo vermelho - tem aproximadamente 7.000nm de largura. Uma comparação que nos dá uma boa ideia da escala nanométrica é a relação entre o planeta Terra, uma bola de futebol e uma molécula de carbono⁶⁰. A Terra é aproximadamente cem milhões de vezes maior que uma bola de futebol, que é aproximadamente cem milhões de vezes maior que pequenas moléculas em escala nanométrica (NANOTECNOLOGIA PUC RIO, 2014). Esta correlação ilustra a dimensão da escala nanométrica frente ao tamanho das coisas que estamos acostumados a mensurar no cotidiano. Na Figura 1 é possível verificar a comparação entre as escalas “macro”, “micro” e “nano”.

¹ A pesquisa exploratória visa proporcionar maior familiaridade com o problema (explicitá-lo). Esta pesquisa propicia o aprimoramento de ideias ou a descoberta de intuições (GIL, 2008).

Figura 1 - Comparação entre as escalas “Macro”, “Micro” e “Nano”



Fonte: Colunano, 2011.

Embora o olhar para o “mundo pequeno” ocorresse desde o século V a.C. (AGÊNCIA BRASILEIRA DE DESENVOLVIMENTO INDUSTRIAL, 2010), no que diz respeito à nanotecnologia, considera-se que os primeiros conceitos foram introduzidos pelo físico americano Richard Feynman em 1959, em sua famosa palestra "*There's plenty of room at the bottom*". Nesta palestra Feynman exemplifica sua idéia descrevendo que era possível colocar toda a Enciclopédia Britânica na cabeça de um alfinete, por meio da manipulação da matéria individualizada (FEYNMAN, 1959) e possivelmente compartimentalizada, ou seja, trabalhando com o muito pequeno de maneira precisa e organizada. Tal palestra é considerada o marco inicial da nanociência, embora o termo “nano” não tenha sido claramente descrito nos registros da época.

Somente em 1974, o termo “nanotecnologia” foi utilizado pelo Professor Norio Taniguchi, da Universidade de Tóquio, na tentativa de distinguir entre a engenharia utilizada na escala micro (10^{-6} m) e aquela utilizada na escala nano (10^{-9} m). Neste caminho, a ciência volta-se para o estudo elementar da matéria e a partir destes conhecimentos, constrói sistemas macroscópicos com propriedades relevantes, detectadas e moldadas a partir da compreensão microscópica (GUTERRES; POHLMANN, 2013).

A nanotecnologia é, essencialmente, transdisciplinar e para o seu desenvolvimento empregam-se conhecimentos do campo da física, química, biologia, ciência dos materiais, ciências da saúde e engenharia (AGÊNCIA BRASILEIRA DE DESENVOLVIMENTO

INDUSTRIAL, 2011). A nanotecnologia e os nanomateriais representam um universo de aplicação e impacto em um grande volume de mercados, associado a aplicações na saúde humana, meio ambiente, sustentabilidade e segurança nacional (UNITED NATIONS EDUCATIONAL, SCIENTIFIC AND CULTURAL ORGANIZATION, 2006).

De uma maneira ampla, a nanotecnologia pode ser descrita como o desenvolvimento de técnicas para o estudo de fenômenos, construção e aplicação de estruturas na escala nanométrica. Embora o tamanho seja um parâmetro aparentemente adequado para a definição dos nanomateriais, esta propriedade, na maioria das áreas, não é suficiente para fazer distinção entre um material nanométrico e outro fora desta escala (KOSTOFF; KOYTCHEFF; LAU, 2007), devendo incluir, além das descrições de tamanho, as novas propriedades que o material apresenta.

Sobre novas propriedades, por exemplo, há o alumínio que quando em nanoescala e exposto ao ar sofre uma combustão imediata. No “macromundo” isso não acontece porque o alumínio em contato com o oxigênio origina um óxido protetor que impede a continuidade das reações. Outro exemplo é o carbonato de cálcio, substância que compõe tanto o giz, quebradiço, como as conchas, resistentes. A diferença é que o giz é formado por partículas grandes e desorganizadas, enquanto que as conchas são constituídas por nanopartículas, bem encaixadas umas às outras, integradas às proteínas e carboidratos. Isso demonstra como características no “macromundo” podem ser determinadas pela estrutura do material na nanoescala (TOMA, 2004² apud FERNANDES; FILGUEIRAS, 2008). Os materiais em nanoescala geralmente apresentam propriedades físicas, químicas ou biológicas que os diferenciam daqueles em maior escala. Nestas diferenças podem-se incluir alterações nas propriedades magnéticas, elétricas, ópticas, estruturais ou alterações nas atividades químicas ou biológicas (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2007a).

A nanotecnologia constitui um novo nível da engenharia, em que podem ser obtidos resultados extraordinários nos domínios da energia, da produção e dos produtos de consumo. Permite o desenvolvimento da biomedicina com sensores integrados ao corpo e com a possibilidade de programar materiais para ultrapassar as barreiras biológicas, como a barreira hematoencefálica (EUROPEAN PARLIAMENT, 2009).

² TOMA, H. E. **Parcerias Estratégicas**. Centro de Gestão e Estudos Estratégicos. Brasília: CGEE, 2004. n. 18, p. 87-98.

3.2 Produtos farmacêuticos de base nanotecnológica

Medicamentos (CHEN et al., 2011; GAO et al., 2012) e cosméticos (PARDEIKE; HOMMOSS; MÜLLER, 2009) empregando a nanotecnologia e sistemas nanoestruturados já são comercializados no Brasil e em todo mundo (NANOMEDICINE [...], 2012; AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2014; HARE et al., 2017). Os produtos de base nanotecnológica apresentam uma grande diversidade de composição, quali e quantitativa, e de estrutura. Segundo a Agência Europeia de Medicamentos (*European Medicines Agency – EMA*) a maioria das aplicações comerciais da nanotecnologia na medicina é voltada para a vetorização de agentes terapêuticos para locais específicos (*drug delivery*), bem como uma melhor orientação e biodisponibilidade de fármacos hoje disponíveis. Novas aplicações de nanotecnologia incluem nanoestruturas para substituição tecidual, nanoestruturas que permitem o transporte através de barreiras biológicas, controle remoto de nanossondas, sistemas nanoeletrônicos integrados e implantáveis e estruturas químicas multifuncionais para liberação do fármaco (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2006).

Os sistemas de liberação de fármacos, como lipossomas, microemulsões, cristais líquidos, dispersões sólidas, hidrogéis e micro/nanopartículas, têm permitido o aumento da eficácia de fármacos utilizados na terapêutica atual, a reintrodução de outros anteriormente descartados por suas propriedades indesejáveis e o aprimoramento de novos fármacos conforme compilado por MAINARDES e colaboradores (2006), cujas vantagens e desvantagens dessas propriedades também são discutidas por CHEN e colaboradores (2011). Especificamente, quando a nanotecnologia é aplicada para nanocarreadores, é possível a obtenção de nanomateriais capazes de proteger essas substâncias de sua degradação prematura e/ou melhorar sua eficácia aumentando seus benefícios, permitindo, a vetorização de substâncias para órgãos ou tumores, com potencial para o aumento de sua eficácia e redução de seus efeitos adversos (ROSSI-BERGMANN, 2008).

A *Nanomedicine European Technology Platform* indica uma lista de 18 produtos farmacêuticos já disponibilizados no mercado com o uso de diferentes tecnologias (Tabela 1), além de produtos que estão no mercado para áreas de Imagem, Diagnóstico e Biomateriais (Tabela 2).

Tabela 1 - Nanotecnologias utilizadas em produtos farmacêuticos disponíveis no mercado.

Produto	Indicação	Tecnologia / Composição
Abelcet [®]	Infecções fúngicas	Lipossomas de Anfotericina B
Abraxane [®]	Quimioterapia do câncer	Nanopartículas poliméricas
Adagen [®]	Imunodeficiência	PEG-adenosina deaminase
AmBisome [®]	Infecções fúngicas	Lipossomas de Anfotericina B
Copaxone [®]	Esclerose Múltipla	Copolímero de aminoácidos
DepoCyt [®]	Quimioterapia do Câncer	Lipossomas de Citarabina
Doxil [®] /Caelyx [®]	Quimioterapia do Câncer	Lipossomas de Doxorrubicina
Estrasorb [®]	Menopausa	Nanopartículas Micelares de Estradiol
Macugen [®]	Degeneração Macular relacionada à idade	PEG anti-VEGF
Megace ES [®]	Distúrbios anoréxicos	Nanocristais de Acetato de Megestrol
Neulasta [®]	Neutropenia	PGE-filgrastim
Oncospar [®]	Leucemia	PEG-L-Asparaginase
Pegasys [®]	Hepatite C	PEG- α -interferon alfa 2a - Peguilação
PEG-Intron [®]	Hepatite C	PEG- α -interferon alfa 2b - Peguilação
Rapamune [®]	Imunossupressor	Nanocristal de Sirolimo
Renagel [®]	Doença renal crônica	Resina de poli (cloridrato de alilamina)
Somavert [®]	Acromegalia	PEG-HGH
Visudyne [®]	Degeneração Macular relacionada à idade	Lipossomas de Veterporfina

Fonte: Adaptado de *Nanomedicine* [...] (2012).

Tabela 2 - Produtos nanotecnológicos para áreas de imagem, diagnóstico e biomateriais.

Produto	Tecnologia (In Vivo)	Composição	Indicação
Acticoat [®]	Biomateriais	Nanopartículas de prata	Curativo antimicrobiano
Ceram X Duo [®]	Biomateriais	Nanopartículas	Material de enchimento dental
Clinical Separation [®]	Cell Diagnóstico	Nanopartículas magnéticas	Imunodiagnóstico
Feridex [®] Endorem [®]	/ Imagem	Nanopartículas de ferro	Tumores de Fígado
Filtek Supreme [®]	Biomateriais	Nanopartículas	Material de enchimento dental
Gastromark [®] Lumirem [®]	/ Imagem	Nanopartículas de ferro	Imagem Abdominal
Lateral Flow Tests [®]	Diagnóstico	Ouro coloidal	HIV, Ovulação e Gravidez e outros
Mondial [®]	Biomateriais	Nanopartículas	Restauração dental
Ostim [®]	Biomateriais	Nano-hidroxiapatita	Reparação de defeitos ósseos
Pacemaker [®]	Implantes Ativos	Fractal Eletrodos	Falhas cardíacas
Perossal [®]	Biomateriais	Nano-hidroxiapatita	Reparação de defeitos ósseos
Premise [®]	Biomateriais	Nanopartículas	Restauração dental
Resovist [®]	Imagem	Nanopartículas de ferro	Tumores de Fígado
Tetric Evoceram [®]	Biomateriais	Nanopartículas	Restauração dental
Vitoss [®]	Biomateriais	Nano-hidroxiapatita	Reparação de defeitos ósseos

Fonte: Adaptado de *Nanomedicine* [...] (2012).

No caso dos cânceres, por exemplo, a Organização Mundial da Saúde prevê que haverá 15 milhões de novos casos de câncer em todo o mundo até 2020, com mais de 90% das mortes relacionadas às metástases (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2016), sendo a nanotecnologia uma importante ferramenta para minimizar estes óbitos por meio de diagnóstico e tratamento precoce, além de tornar os tratamentos mais eficazes e direcionados. Para isso, as nanopartículas contendo fármacos quimioterápicos podem ser direcionadas para dentro de tumores, tornando os tratamentos mais efetivos, com redução na quantidade de fármaco necessária para o tratamento e consequentemente redução de efeitos colaterais em tecidos

saudáveis. A nanotecnologia, por exemplo, permite imagens mais precisas por meio de nanopartículas de óxido de ferro que se ligam às células tumorais, tornando os processos cirúrgicos mais precisos para a remoção de tumores (NANOMEDICINE EUROPEAN TECHNOLOGY PLATFORM, 2016).

Para o tratamento do câncer já há produtos disponibilizados no mercado e uma série de outros produtos estão em diversas fases de desenvolvimento. Hare e colaboradores (2017) apresentam uma lista atualizada de nanotecnologias utilizadas no desenvolvimento de terapias do câncer. Como pode ser visto na Tabela 3, além dos produtos já disponibilizados no mercado, outros já estão em fase I, II e III, utilizando diferentes tipos de N&N.

Tabela 3 - Produtos nanotecnológicos para o tratamento do câncer em triagem (fase I, II ou III) ou aprovados para uso.

Tipos	Fármaco	Produto/Empresa	Fase
Lipossomas	Doxorrubicina	Myocet [®] /Teva UK	Aprovado
		Doxil [®] /Janssen	Aprovado
		ThermoDox [®] /Celsion	Fase III
		2b3-101/2-BBB- Medicines BV	Fase II
	Vincristina	Marquibo [®] /Spectrum Pharmaceuticals	Aprovado
		DaunoXome [®] /Galen	Aprovado
	Daunorrubicina	Depocyt [®] /Pacira Pharmaceuticals	Aprovado
	Citarabina	Onivyde [®] /Merrimack Pharmaceuticals	Fase II/Aprovado
	Irinotecan	CPX-351/Celator	Fase II e III
	Citarabina (5:1) daunorrubicina	Lipoplatin [®] /Regulon e outros	Fase II e III
	Cisplatina	MBP-426/Mebiopharm e outros	Fase II
	Oxaliplatin	LEP-ETU/Insys e outros	Fase II
	Paclitaxel	LE-SN38/Neopharm	Fase II
	SN-38	CPX-1/Celator	Fase II
	Irinotecan (1:1) floxuridina		
Conjugados Poliméricos	Camptotecin	CRLX 101 (Ciclodextrina)/Cerulean	Fase II
	Asparaginase	Oncaspar [®] (PEG)/Baxalta	Aprovado
	Paclitaxel	Opaxio [®] (Poliglicerol Adipato)/CTI Biopharma	Fase II e III
	Irinotecan	NKTR102 (PEG)/Nektar	Fase III
	Camptothecin	CRLX 101 (nanopartículas)/Cerulean XMT 1001 (Fleximer)/Mersana	Fase II

Continua

Continuação

Tabela 3 - Produtos nanotecnológicos para o tratamento do câncer em triagem (fase I, II ou III) ou aprovados para uso.

	Diaminociclohexa no (DACH) Platinun	AP 5346 (Hidroxypopilmetacrilato)/ ProLindaC	Fase II
	Docetaxel	DEP (5g PEG-Polilisina)/ StartPharma	Fase I
	Docetaxel	Criopec Docetaxel (Nanopartícula)/ Cristal Therapeutics	Fase I
Nanopartículas Poliméricas	Decetaxel	BIND-014/BIND Therapeutics	Fase II
	Antígeno Específico AZD 2811	AZD 2811 nanopartículas/ AstraZeneca	Fase I
Micelas Poliméricas	Paclitaxel	Genexol-PM/Samyang Biopharmaceuticals e outros	Fase I, III e Aprovado
	DACH-Platina	NK105/NanoCarrier	Fase III

Fonte: Adaptado de Hare e colaboradores (2017).

3.3 Os desafios para o uso da nanotecnologia em medicamentos

A presença de produtos de base tecnológica no mercado tem exigido um esforço mundial para entender os possíveis impactos na saúde humana e para o meio ambiente. Até o momento, há evidências limitadas do dano real decorrente do uso dos nanomateriais, no entanto, há uma aceitação comum de que esta é uma possibilidade e que há, de fato, uma necessidade de avanço de pesquisas nesta temática (EUROPEAN UNION, 2010a). A imersão no mundo “nano” impõe grandes desafios às agências regulatórias que se deparam com lacunas do conhecimento que devem ser urgentemente preenchidas, visto que já há produtos no mercado que utilizam essas tecnologias. É imprescindível que os órgãos reguladores desenvolvam mecanismos regulatórios apropriados para atender tais demandas que poderão crescer nos próximos anos (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2014), com avaliações de risco-benefício e o profundo conhecimento técnico para o desenvolvimento de uma matriz regulatória.

A introdução de novas tecnologias, com frequência, cria desafios aos legisladores, particularmente se estão relacionadas a produtos com expectativa de benefícios associados à riscos à saúde e ao meio ambiente. Neste caso, pode ser necessária uma nova regulamentação

ou a adaptação de diretrizes já existentes para fins de monitorar os riscos e benefícios (EUROPEAN UNION, 2010a).

A diretriz “*no data, no market*”³ ganha força, visto que a nanotecnologia envolve riscos toxicológicos não bem esclarecidos. Ensaio aplicados aos nanomateriais não são triviais e o conhecimento existente das reações imunológicas a estes materiais é ainda escasso. Ficou demonstrado que os nanotubos de carbono provocam exatamente o mesmo tipo de danos que o amianto, as nanopartículas de carbono em baixas concentrações provocaram lesões cerebrais em peixes e as nanopartículas de prata passaram de meias para a água de lavagem, com riscos ainda não conhecidos para o sistema de tratamento de águas residuais. Sabendo-se que as nanopartículas podem atravessar a barreira hematoencefálica, e assim acessar locais não inicialmente previstos ou delineados para tal (EUROPEAN PARLIAMENT, 2009), tem-se uma potencial situação de risco.

Devido ao diminuto tamanho, os sistemas nanoestruturados têm uma área superficial ou interface específica muito maior, isto é, uma área maior em relação à massa, do que os materiais em escalas maiores. Uma vez que as reações biológicas e químicas ocorrem frequentemente na superfície de materiais, espera-se que os nanomateriais sejam muito mais reativos que a mesma massa de material constituído por partículas maiores. Além disso, como consequência do seu pequeno tamanho, as nanopartículas podem difundir mais facilmente em sistemas biológicos como o corpo humano e podem apresentar-se capazes de atravessar as barreiras biológicas do pulmão, intestino ou cérebro, e, portanto, podem causar exposições inesperadas (EUROPEAN UNION, 2010a).

No nível científico de hoje, a interação das nanopartículas com o organismo humano e meio ambiente não são bem entendidos e o princípio da precaução deve ser estabelecido (EUROPEAN COMMUNITIES, 2009). O *Code of Conduct for Responsible Nanosciences and Nanotechnologies Research* estabelecido pela União Europeia, prevê que “as atividades de pesquisa em N&N devem ser conduzidas de acordo com o princípio da precaução, antecipando potenciais impactos ambientais, de saúde, e de segurança dos resultados da N&N, tomando assim as devidas precauções, proporcionais aos níveis de proteção, enquanto fomenta o

³ Princípio adotado na União Europeia que visa melhorar níveis de proteção à saúde humana e meio ambiente através de melhores e mais rápidas identificações intrínsecas das substâncias químicas. Realizado em 4 etapas – Registro, Avaliação, Autorização e Restrição de Produtos Químicos - REACH (do inglês *Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals*), este regulamento atribui à indústria química a responsabilidade de gerir os riscos decorrentes de seus produtos e de fornecer informações de segurança sobre as substâncias, conforme Regulamento CE 1907/2006 (PARLAMENTO EUROPEU, 2014).

progresso científico em benefício da sociedade e do meio ambiente” (EUROPEAN COMMUNITIES, 2009).

Mesmo respeitando os direitos da propriedade intelectual, deve existir um trabalho conjunto e cooperativo entre os estados, unidades de pesquisa, pesquisadores e outros interessados em N&N: setores públicos e privados devem ser incentivados ao compartilhamento de boas práticas aplicadas a nanomateriais; dados científicos devem ser revisados antes de amplamente disseminados para se assegurar a clareza e o equilíbrio científicos. As pesquisas devem ser conduzidas com o mais alto nível de integridade científica com combate às práticas indesejadas que colocam em risco a saúde, a segurança e o meio ambiente, recursos humanos e financeiros sejam dedicados na avaliação da aplicação das diretrizes e legislações relacionadas às pesquisas em N&N e com transparência demonstrem a conformidade com os regulamentos relevantes (EUROPEAN COMMUNITIES, 2009).

Este contexto apresentado, junto à nanotecnologia tem-se a necessidade de se estabelecer regulações frente ao elevado grau de incerteza da segurança dos produtos e processos. As incertezas, relacionadas ao que já está no mercado e ao que está em desenvolvimento, são causa e consequência para insegurança jurídica e sanitária, sendo alvo de debate dentro das agências, universidades e empresas. A complexidade que envolve os produtos de base nanotecnológica e a necessidade de se construir a qualidade nestes produtos tornam imprescindível preencher quaisquer lacunas de conhecimento.

Identificar com precisão o que qualifica um nanomaterial é difícil e, atualmente, é objeto de substancial discussão nas comunidades científicas e normativas (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2007a). Até o momento tem-se uma idéia do que seja “nano”, mas uma definição mais precisa é apresentada no próximo capítulo.

4 CAPÍTULO II: DEFINIÇÕES RELACIONADAS A NANOMATERIAIS E NANOTECNOLOGIA NO CONTEXTO INTERNACIONAL DE REGULAÇÃO

Um modelo regulatório gera maior segurança técnica e jurídica e reduz impactos à inovação. A construção de um ambiente de regulação inicia-se com a construção de marcos regulatórios - “conjunto de normas, leis e diretrizes que regulamentam o funcionamento de setores nos quais agentes privados prestam serviços de utilidade pública” (INSTITUTO DE PESQUISA ECONÔMICA APLICADA, 2006). O marco regulatório cria um ambiente que concilia a saúde econômico-financeira das empresas com exigências e expectativas do mercado. A regulação deve ser feita por um organismo independente, com condições de defender os interesses dos cidadãos, do governo e de empresas envolvidas, favorecendo assim o diálogo entre as partes. Em geral, são agências reguladoras, como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a *Food and Drug Administration* (FDA) ou a *European Medicines Agency* (EMA), as responsáveis por estabelecer marcos regulatórios específicos para a área de atuação, visto que com as regras claras facilitam-se fiscalizações, auditorias, pareceres técnicos, autorizações e o estabelecimento de indicadores de qualidade – parâmetros a serem demonstrados de maneira a garantir a segurança e eficácia dos produtos.

Assim, neste capítulo são apresentadas as definições obtidas por uma pesquisa exploratória-descritiva⁴ e regulatória⁵, considerando os descritores “*Nanotechnology*”, “*Nanoscience*” e “*Nanomaterial*”, em publicações editadas pelas principais agências regulatórias (norte americana, europeia, japonesa, canadense, australiana e outras) em avançado processo de regulação. Adicionalmente, foram consideradas diretrizes da Organização Mundial da Saúde (OMS), do *International Conference on Harmonisation of the Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals* (ICH) e outras de referência mundial na temática. A partir das informações obtidas, foram realizadas discussões técnico-científicas, a respeito das convergências e divergências nas diferentes definições apresentadas, sugerindo, por fim, uma definição a ser utilizada nesta construção regulatória.

⁴ A pesquisa exploratória-descritiva além de considerar os aspectos relacionados à pesquisa exploratória, tem como objetivo a descrição de determinadas características de determinada população, fenômeno ou o estabelecimento de relação entre variáveis (GIL, 2008).

⁵ Este tipo de pesquisa agrega valor aos normativos editados por órgãos relacionados com o objeto da pesquisa (ASSIS; RECHE; AZEVEDO, 2009) e foi direcionada para atos normativos, diretrizes e regulamentações definidos por órgãos de referência relacionados à nanotecnologia e nanomateriais em produtos sujeitos à regulação sanitária, a fim de evidenciar conceitos e marcos regulatórios existentes.

4.1 Conceitos e diretrizes em diferentes países e organizações

➤ A Visão Norte Americana

Nos Estados Unidos, o programa *U.S. National Nanotechnology Initiative* (NNI), nos anos 2000, iniciou a pesquisa e desenvolvimento governamental envolvendo vinte departamentos e agências independentes para trabalharem em parceria, por considerar que a contribuição conjunta é necessária para a evolução tecnológica e científica. NNI formou grupos de trabalho em parceria com uma série de agências e institutos: *Environmental Protection Agency* (EPA), *FDA*, *National Cancer Institute* (NCI), *National Institute of Food and Agriculture* (NIFA), *National Institute of Environmental Health Sciences* (NIOSH) dentre outras (NATIONAL SCIENCE AND TECHNOLOGY COUNCIL, 2011; UNITED STATES NATIONAL NANOTECHNOLOGY INITIATIVE, 2014).

No contexto relacionado à regulamentação sanitária (medicamentos, produtos médicos, alimentos, vacinas, cosméticos e outros), a FDA reconhece que a nanotecnologia é uma tecnologia emergente com significativo potencial de aplicação em uma grande variedade de segmentos regulados pela agência. Dessa forma, a exemplo do ocorrido no passado com outras tecnologias emergentes, envolvendo promessas, riscos e incertezas neste período de estruturação, inclusive regulatória (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2014a), exige atenção da agência que deve ser capaz de prever e preparar-se para os diferentes tipos de produtos que serão regulamentados (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2007a).

A utilização da nanotecnologia pode resultar em produtos com características que os diferenciam daqueles convencionalmente utilizados e neste mérito cabem avaliações particulares. A FDA não categoriza os produtos de base nanotecnológica como intrinsecamente “benignos” ou “maléficos”, mas cabe à agência monitorar a ciência envolvida e definir agendas que ajudem na definição dos aspectos de segurança e eficácia dos produtos de base nanotecnológica. Neste sentido, o suporte científico é crítico para que a FDA consiga monitorar estes aspectos. Para isso, nos Estados Unidos, têm-se investido em programas para fortalecer a capacitação científica, incluindo o desenvolvimento de dados e ferramentas para identificar as propriedades relevantes dos nanomateriais e a definição de impactos que estes produtos apresentarão. Assim, nanotecnologia está entre as principais prioridades da agência (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2007a, 2014a).

A agência iniciou em 2006 uma força tarefa para ajudar na definição de aspectos regulatórios relacionados à nanotecnologia (*Nanotechnology Task Force*). Este programa foi direcionado para tornar público a preocupação da agência na compreensão da evolução dos nanomateriais; o entendimento de como a interação biológica dos nanomateriais podem gerar efeitos benéficos ou adversos à saúde; avaliar o *state-of-art* do conhecimento científico e os desafios relacionados à nanomateriais em produtos regulamentados pela agência; explorar oportunidades que permitam a inovação utilizando materiais em nanoescala para desenvolver medicamentos, dispositivos, alimentos e cosméticos seguros e eficazes (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2007a).

Em 2007, a FDA enfatizou que a ausência de conceitos para “materiais em nanoescala”, “nanomateriais” ou “nanotecnologia” havia sido proposital, considerando que seriam mais produtivas as abordagens amplas. A aplicação de um termo em um contexto pode não ser aplicável em outros e isso pode comprometer a construção do conhecimento e a busca de estudos e dados (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2007a).

Com enfoque na divulgação de como a FDA iria direcionar os trabalhos relacionados à nanotecnologia dentro de sua área de atuação, a agência publicou em 2014 dois guias oficiais⁶ relacionados à regulamentação de nanomateriais:

- i) *Guidance for Industry: Considering Whether an FDA-Regulated Product Involves the Application of Nanotechnology* (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2014a);
- ii) *Guidance for Industry: Safety of Nanomaterials in Cosmetic Products* (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2014b);

No primeiro destes guias, a agência reforça a posição de que a regulamentação de produtos de base nanotecnológica, frente às possibilidades de características que diferem estes produtos dos convencionalmente produzidos, deve receber uma atenção particular na avaliação. Entretanto, a regulamentação de nanomateriais seguirá as diretrizes já definidas para cada um dos tipos de produtos regulamentados, visto que a condição atual se apresenta robusta e flexível o suficiente para a avaliação dos mais diversos tipos de tecnologias, inclusive a nanotecnologia. Os aspectos regulatórios devem permanecer com o foco científico na avaliação do produto e

⁶ Também está publicada prévia de um guia para avaliação *Guidance for Industry: Use of Nanomaterials in Food for Animals* (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2014c).

neste cenário os aspectos técnicos específicos dos produtos devem ser levados em consideração, incluindo os efeitos dos nanomateriais de acordo com o produto e a intenção de uso. Com isso, a agência acredita em uma política de regulamentação que siga as estruturas legais já estabelecidas, mas com abordagens personalizadas de acordo com o produto regulamentado. Dois aspectos são considerados pela agência para se definir se um produto envolve ou não a aplicação de nanotecnologia (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2014a):

- i) Se um material ou produto final é desenvolvido para se ter pelo menos uma dimensão externa, ou uma estrutura interna ou de superfície, na nanoescala (aproximadamente de 1 a 100 nm);
- ii) Se um material ou produto final é projetado para exibir propriedades ou fenômenos, incluindo propriedades físicas, químicas ou efeitos biológicos que são atribuíveis à dimensão, mesmo que fora da faixa definida para nanoescala, até 1 micrômetro (1000nm).

Materiais ou produtos em nanoescala podem apresentar propriedades ou fenômenos atribuíveis à dimensão que podem impactar na segurança, eficácia, desempenho, qualidade, na saúde pública ou na classificação regulatória do produto. A agência sugere que seja dada atenção especial dentro da própria agência, durante os processos regulatórios, e pelo regulado, na identificação e entendimento de implicações à segurança, efetividade, impactos na saúde pública e considerações regulatórias para cada tipo de produto (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2014a).

No *Guidance for Industry: Safety of Nanomaterials in Cosmetic Products* (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2014b) há diretrizes específicas aplicáveis à avaliação da segurança de nanomateriais em produtos cosméticos. A regulação americana não prevê a avaliação e aprovação prévia pelo órgão regulador de dados de segurança e eficácia aplicada aos cosméticos. Estes dados devem ser obtidos e ficam de posse do fabricante que é o responsável pelo produto liberado para o mercado. Entretanto, os trabalhos desenvolvidos pelo grupo envolvido (*Nanotechnology Task Force*) recomendam que ocorra a submissão de dados ou outras informações para produtos cosméticos caracterizados pela presença de componentes que utilizam nanotecnologia.

➤ A Visão Europeia

Assuntos de interesse à União Europeia são levados à discussão pela Comissão Europeia. A Comissão propõe ao Parlamento Europeu e ao Conselho da União Europeia novas legislações e assegura a correta aplicação do direito europeu pelos países⁷ da União Europeia (COMISSÃO EUROPEIA, 2014).

No trabalho “*Towards a European Strategy for Nanotechnology*”, publicado em 2004, a Comissão Europeia já reforçava que na década anterior a União Europeia fortaleceu o conhecimento de base em nanociências e em nanotecnologia, mas ainda seriam necessárias ações que garantissem este progresso científico e o desenvolvimento de debates para que o conhecimento gerado com Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) fosse capaz de resultar em benefícios para a sociedade. Desde então uma série de trabalhos foram publicados e a Comissão Europeia reforçou a necessidade de gerenciar possíveis riscos dos nanomateriais relacionados à Saúde, Meio Ambiente e Segurança (EUROPEAN COMMUNITIES, 2005 e 2009; EUROPEAN PARLIAMENT, 2006).

No “*Report on Regulatory Aspects of Nanomaterial*” o Parlamento Europeu inclui que “a discussão atual sobre Nanomateriais é caracterizada por uma significativa falta de conhecimento e de informações, (...) iniciando pelas definições”. Assim, somente com a introdução de uma definição clara, com embasamento científico abrangente, é possível a formação de uma legislação horizontal e adequadamente setorial. Apesar de ainda não existir um conjunto plenamente desenvolvido de definições harmonizadas, existe certo número de normas internacionais disponíveis ou em fase de elaboração, que definem “escala nanométrica” como “tendo uma ou mais dimensões da ordem dos 100 nm ou menos” (EUROPEAN PARLIAMENT, 2009).

Considerando a sugestão de que o tamanho não deve constituir a única propriedade a ser considerada na definição de um nanomaterial, a comissão Europeia incumbiu o *Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks* (SCENIHR) de apresentar dados científicos sobre os elementos que deveriam ser considerados em uma definição de nanomaterial para fins regulatórios (EUROPEAN UNION, 2010a, 2010b; JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA, 2011). Para o SCENIHR, a construção de um conceito utilizando o

⁷ São membros da União Europeia: Alemanha, Áustria, Bélgica, Bulgária, Chipre, Croácia, Dinamarca, Eslováquia, Eslovênia, Espanha, Estônia, Finlândia, França, Grécia, Hungria, Irlanda, Itália, Letônia, Lituânia, Luxemburgo, Malta, Países Baixos, Polônia, Portugal, Reino Unido, República Checa, Romênia e Suécia (UNIÃO EUROPEIA, 2014).

tamanho dos nanomateriais é o mais adequado, universal, mas não deve ser tratado com tanta simplicidade (EUROPEAN UNION, 2010b). A proposta fixa uma faixa de tamanho com limite inferior em 1nm e, por consenso geral, o limite superior em 100nm, embora não haja dados científicos que corroborem a adequação deste valor. Meramente definir limites inferior e superior não é suficiente, visto que as partículas, em geral, apresentam-se distribuídas segundo o tamanho e a utilização de um único valor limite seria demasiado restritivo na classificação de nanomateriais, cabendo assim algum tipo de abordagem diferenciada. Assim, a definição regulatória deveria considerar o tamanho e o número de partículas (distribuição de tamanho das partículas). A distribuição de um material por tamanho deve ser definida como o número de partículas numa dada gama de tamanhos dividido pelo número total de partículas⁸ (EUROPEAN UNION, 2010b).

A distribuição das partículas por tamanho proposta ganha relevância quando se considera que os nanomateriais são constituídos por um grande número de partículas com diferentes tamanhos. Ignorar esta grande variação de tamanho torna difícil determinar se um dado material obedece à definição quando algumas partículas têm uma dimensão inferior a 100nm.

Após a publicação de estudos (EUROPEAN UNION, 2010a, 2010b), a Comissão Europeia publicou uma Recomendação 2011/696/EU sobre a definição de Nanomaterial para ser utilizada como referência na determinação da presença de nanomateriais para fins legislativos e políticos dos estados membros (JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA, 2011):

“(…) 2. Por <Nanomaterial>, entende-se um material natural, incidental ou fabricado, que contém partículas num estado desagregado ou na forma de um agregado ou de um aglomerado, e cuja distribuição número-tamanho 50% ou mais das partículas têm uma ou mais dimensões externas na gama de tamanho compreendido entre 1 e 100nm.

Em casos específicos e sempre que tal se justifique devido a preocupações ambientais e ligadas à saúde, segurança e competitividade, o limiar da distribuição número-tamanho de 50% pode ser substituído por um limiar compreendido entre 1 e 50%.

(…) 5. Sempre que tal seja tecnicamente possível e requerido por atos legais específicos, a conformidade com a definição (...) pode ser determinada com base na

⁸ O SCENIHR reforça a ideia de que a avaliação deve ser de número de partículas que atendem uma faixa de tamanho pelo número total de partículas. Avaliações por massa seriam inadequadas visto que uma mínima fração da massa pode conter um grande número de partículas de diminuto tamanho enquanto que um pequeno número de partículas de maior tamanho pode representar a maior parte da massa. Além disso, em efeitos associados a uma dose-reposta, o risco está mais associado com o número de partículas ou à área superficial total que a massa (EUROPEAN UNION, 2010b).

superfície específica por volume. Considera-se que um material é abrangido pela definição constante nº 2 se sua superfície específica por volume for superior a $60\text{m}^2/\text{cm}^3$ ”.

Além das diretrizes considerando a distribuição número-tamanho das partículas, a definição enfatiza casos específicos em que sua aplicação poderia ser facilitada avaliando-se a superfície específica por volume, com o valor de referência de $60\text{m}^2/\text{cm}^3$. Além disso, outro item a se considerar é que partículas aglomeradas ou agregadas podem se formar e apresentar as mesmas propriedades que partículas individuais ou ainda podem se libertar de aglomerados ou agregados durante o ciclo de vida de um nanomaterial. Com isso essas informações são relevantes e devem fazer parte de uma possível definição (JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA, 2011), conforme indicado:

“Para efeitos do ponto 2, os termos (...) são definidos do seguinte modo:

- a) <Partícula>, uma porção minúscula da matéria com fronteiras físicas definidas;
- b) <Aglomerado>, um conjunto de partículas levemente agregadas ou de agregados em que a superfície externa é igual à soma das superfícies dos componentes específicos;
- c) <Agregado>, uma partícula composta por partículas fortemente ligadas ou aglutinadas”.

Baseando nestas diretrizes, alguns dos países integrantes da União Europeia publicaram definições para Nanomateriais e/ou outros termos relacionados (Tabela 4):

Tabela 4 - Definições ou diretrizes nacionais para nanomateriais em países europeus.

País	Definição
França	Material intencionalmente produzido em escala nanométrica que contém partículas em estado desagregado ou agregado ou aglomerado, em que uma proporção mínima de partículas na distribuição número-tamanho encontra-se na faixa de 1 a 100nm. Em casos específicos e sempre que se justifique por precauções com o meio ambiente, saúde, segurança, competitividade, esta porção mínima é especificada em despacho conjunto dos ministérios. Além disso, há definições para: a) Partícula: porção minúscula da matéria com fronteiras físicas bem definidas; b) Agregado: significa uma partícula composta de partículas fortemente ligadas ou fundidas; c) Aglomerado: significa uma coleção das partículas ou agregados fracamente ligadas, onde a área de superfície externa é igual à soma das áreas de superfície dos componentes individuais ¹ .
Bélgica	Segue a recomendação europeia prevista na Recomendação 2011/696/EU, mas que exclui substâncias não quimicamente modificadas como, por exemplo, pigmentos e nanomateriais que seguem legislações específicas, como biocidas ou alimentos, e se a substância na escala nanométrica for um subproduto da atividade humana. A legislação define subproduto da atividade humana as substâncias derivadas de processos de produção em que o objetivo principal não era a produção desta substância. Sendo assim não são considerados subprodutos da atividade humana: a) uma substância cuja produção é o resultado de uma escolha técnica; b) substância que não é necessária para a produção do produto principal; c) substância com características técnicas específicas que é resultado de uma mudança voluntária no processo de produção. ²
Dinamarca	A Agência de Proteção do Meio Ambiente da Dinamarca (<i>Miljøstyrelsen</i>) em 2013 apresentou uma consulta pública relacionada ao registro de produtos que contenham nanomateriais. Neste documento seguiu a definição recomendada pela União Europeia para nanomateriais, entretanto certas atividades ou produtos foram excluídos da obrigatoriedade: - Produtos que se enquadravam em regulamentos específicos (por exemplo: medicamentos, cosméticos, pesticidas, alimentos e outros); - Produtos em que o nanomaterial não é conscientemente produzido; - Produtos em que o nanomaterial está em uma matriz fixa; - Produtos para aplicações têxteis, tintas e outras informações. ³
Alemanha	Para as Autoridades alemãs, a definição da União Europeia é bem-vinda e deve haver esforços para a sua aplicação. Entretanto há problemas relacionados à viabilidade de uso da definição visto que ainda não há métodos reconhecidamente definidos e padronizados para determinar os parâmetros necessários. ⁴
Suiça	Um material cuja distribuição de tamanho de partícula inclui mais de 1% (nanopartículas de 1 a 100nm) em estado não agregado ou aglomerado. Caso a distribuição de partícula não seja conhecida, então qualquer material com um tamanho médio inferior a 500nm deve ser classificado como um nanomaterial. Esta definição diferencia-se daquela elaborada pela Recomendação da União Europeia pela redução do limite de 50% para 1% e a ação de 500nm como limite superior quando a distribuição de tamanho de partícula é desconhecida. Estas diferenças tiveram as seguintes justificativas: a) quando os materiais possuem tamanho médio de 500nm, a distribuição de tamanho de partícula aponta uma grande quantidade de partículas que alcançariam o limite inferior (provavelmente de 1 a 100nm). Além disso, o potencial de interação com células já ocorre com tamanhos próximos de 300nm. ⁵
Noruega	Segue-se a mesma definição recomendada pela União Europeia, entretanto, para fins de registro junto à <i>Norwegian Product Register of Chemical</i> apenas Nanomateriais intencionalmente produzidos são considerados, excluindo aqueles que naturalmente ou não intencionalmente estejam nos produtos. ³

1 – Official Journal of the French Republic, 2012; 2 – Belgisch Staatsblad, 2014; 3 - European Union, 2014; 4 – UBA, BfR e BAuA, 2013; 5 – State Secretariat for Economic Affairs, Chemical and Occupational, 2012 e Hoehener e Hoeck, 2013.

Em 2006, a Agência Reguladora – *European Medicines Agency* (EMA) publicou um *Reflection Paper on Nanotechnology-based Medicinal Products for Human Use* cujo objetivo foi refletir as iniciativas da EMA no desenvolvimento e regulação de produtos de base nanotecnológica (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2006). Neste documento, a Agência reconhece o papel inovador da nanotecnologia e que apropriada *expertise* deve ser mobilizada para se avaliar a qualidade, segurança, eficácia e o gerenciamento de riscos nos produtos baseados em nanotecnologia. Neste contexto, torna-se também necessária a divulgação de *guidelines* com experiências acumuladas e o incentivo que os envolvidos com o desenvolvimento nanotecnológicos interajam com a agência desde os primeiros estágios de desenvolvimento.

Para definir nanotecnologia, a Agência considera “como a produção e aplicação de estruturas, dispositivos e sistemas pelo controle da forma e tamanho na escala nanométrica”. Esta escala varia do nível atômico, com cerca de 0,2nm, até 100nm. Para a Agência, os medicamentos de base nanotecnológica na forma de lipossomas (por exemplo, Caelyx[®], Myocet[®]), polímeros conjugados com proteína (por exemplo, PegIntron[®], Somavert[®]) ou não (Copaxone[®]) ou ainda suspensões (Rapamune[®], Emend[®]) já tiveram concedidas autorizações de comercialização pela EMA, considerando o atual quadro regulamentar. O desenvolvimento de grandes moléculas solúveis com tamanho nanométrico, como peptídios ou oligonucleotídeos recombinantes, que tenham sido fabricados utilizando técnicas bem estabelecidas, não devem ser considerados como necessariamente resultantes de métodos inovadores da nanotecnologia (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2006) e, portanto, não requerem avaliações especiais por apresentarem-se na escala nanométrica.

A agência reforça que na União Europeia, a avaliação e prevenção dos riscos potenciais relacionados com o uso de qualquer produto já estão previstas na legislação farmacêutica em vigor. Como para qualquer medicamento, as autoridades competentes da União Europeia avaliarão qualquer pedido para colocar um produto nanotecnológico no mercado, utilizando os princípios estabelecidos de análise de risco/benefício, e não apenas com base na tecnologia em si. Para isso, como para qualquer medicamento, produtos de origem nanotecnológica deverão ser caracterizados, a eficácia e considerações toxicológicas devem ser estabelecidas e comprovação da adequação dos métodos de ensaio deve ser demonstrada. Antes de comercializar, considerações toxicológicas, bem como as metodologias utilizadas para estas avaliações devem ser consideradas no contexto do pedido de autorização de comercialização, que prevê a avaliação dos riscos e benefícios para os pacientes. Uma descrição do sistema de

farmacovigilância deve ser apresentada e, quando apropriado, um plano de Gestão de Risco pode ser requerido (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2006).

Para a agência, os produtos de base nanotecnológica não representam, por si só, necessariamente uma novidade. Entretanto, espera-se que a investigação em nanotecnologia resulte em abordagens terapêuticas ou tecnológicas inovadoras. Os produtos nanotecnológicos podem apresentar um complexo mecanismo de ação que combina propriedades mecânicas, químicas, farmacológicas e imunológicas ainda associando com aspectos de diagnóstico e terapêutico. A especialização neste tipo de produto com uma atenção especial pode ser necessária, visto a complexidade para avaliação da qualidade, segurança, eficácia e gestão de riscos de tais produtos. O acúmulo de experiências, a partir de dados, debates, fluxo de informação, pareceres científicos ou procedimentos de avaliação para autorizações de comercialização, permitirá avaliar a necessidade para o desenvolvimento de orientações específicas aos produtos nanotecnológicos, sejam em desenvolvimento ou aqueles já existentes para acomodar aspectos específicos (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2006).

A fim de lidar com estas questões, a EMA criou a *Innovation Task Force* para assegurar a coordenação de toda agência para desenvolver competências científicas e regulamentares no campo de terapias e tecnologias emergentes, incluindo nanotecnologia, e proporcionar um fórum para o diálogo sobre as questões regulamentares, científicas ou outras que possam surgir a partir do desenvolvimento destes produtos. Na ausência de orientações específicas, os envolvidos são encorajados a entrar em contato com a agência desde as fases iniciais do desenvolvimento de seus produtos para em parceria construir o desenvolvimento (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2006).

➤ A Visão Canadense

Os nanomateriais começaram a ser regulados no Canadá em 1999, com a inclusão no *Canadian Environmental Protection Act*, com leis federais para prevenir o meio ambiente e a saúde da população de possíveis danos gerados (NANOPORTAL, 2014). Os pesquisadores identificam quatro passos importantes para a regulamentação destes novos materiais (COUNCIL OF CANADIAN ACADEMIES, 2008):

- i) Definir uma classificação para os nanomateriais;
- ii) Definir os critérios a serem utilizados para identificar quando há nanomateriais nos produtos sujeitos à regulamentação;

- iii) Definir abordagens padronizadas para a gestão dos nanomateriais com foco na proteção do trabalhador;
- iv) Desenvolver uma capacidade metrológica para nanomateriais de maneira a reforçar as garantias de vigilância sobre os efeitos nos consumidores, trabalhadores e meio ambiente.

As novas propriedades dos nanomateriais são controláveis, desde que haja suficiente evolução técnico-científica para isso. Existem dados de efeitos biológicos, mas ainda são pobres. Devem ser estabelecidas pesquisas para preencher lacunas de conhecimento e reduzir incertezas detectadas durante as avaliações de riscos. Com o que há disponível, não é possível implementar um sistema regulatório baseado em ciência robusto e confiável. Para tanto, medidas de precaução, como guias científicos de avaliação de riscos, padrões de segurança e avaliações de risco são importantes e exigem avaliações caso a caso (COUNCIL OF CANADIAN ACADEMIES, 2008).

No Canadá cabe a agência *Health Canada* a responsabilidade de regular produtos e substâncias, incluindo medicamentos, dispositivos médicos e biológicos, produtos naturais, alimentos (inclusive embalagens), pesticidas e novas e atuais substâncias, cosméticos ou produtos consumidos no mercado canadense para a saúde. Neste contexto, a agência reconhece que é crescente a preocupação de produtos contendo nanomateriais que chegam ao mercado. Para tanto foi adotada a definição de que são considerados nanomateriais aqueles manufaturados e produzidos para comercialização, ou aqueles usados como ingredientes de produtos, dispositivos ou estruturas, desde que cumpram as seguintes características (HEALTH CANADA, 2011):

- i) Apresentar pelo menos uma dimensão externa, ou ter estrutura interna ou de superfície, na nanoescala (1 a 100 nm), ou;
- ii) Apresentar dimensões abaixo ou acima da nanoescala e exibir um ou mais fenômenos característicos da nanoescala.

A *Health Canada* reforça que na definição é utilizado o termo “manufaturado” que “inclui processos engenheirados e controle da matéria” que se relaciona com a síntese, geração, fabricação ou isolamento de nanomateriais. Também são incluídos os componentes naturais que tenham sido deliberadamente utilizados ou modificados com vistas a apresentarem propriedades ou fenômenos característicos da nanoescala. Estes fenômenos atribuíveis ao tamanho e seus efeitos “diferem das propriedades de átomos individualizados, moléculas e materiais macroscópicos, para a criação de materiais, dispositivos e sistemas que exploram estas novas propriedades” (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION,

2005; HEALTH CANADA, 2011). Para exemplificar, considere que a partir de processos de manufatura, como a nanoencapsulação de fármacos, pode-se gerar efeitos biológicos, como o aumento da permeabilidade através de membranas celulares (HEALTH CANADA, 2011).

A agência reconhece que o termo nanomaterial é representado por diferentes conceitos e interpretações e cabe, no momento da sua utilização, contextualizá-lo para a aplicação. Manter a flexibilidade na abordagem é importante para integrar novos conhecimentos a respeito dos riscos e benefícios relacionados a nanomateriais. Encorajar as empresas e outros envolvidos à troca de informações junto à agência desde etapas iniciais de desenvolvimento tornam mais eficientes os processos regulatórios que impactem decisões de mercado da saúde (HEALTH CANADA, 2011).

➤ A Visão nos Países Asiáticos e Austrália

Tabela 5 - Definições de Nanomateriais em Países Asiáticos e Austrália

País	Definição
Taiwan	Um nanomaterial é aquele que é intencionalmente fabricado ou desenvolvido e que se enquadra em qualquer das seguintes condições: a) Material com uma ou mais dimensões externa ou interna ou estrutura de superfície na escala de 1-100nm; b) É menor ou maior do que a nanoescala acima, em todas as dimensões espaciais e exibe um ou mais fenômenos/propriedades da nanoescala (por exemplo, aumento da intensidade ou reatividade química). ¹
Coreia do Sul	Significa nano-objetos ou materiais nano-estruturados (incluindo materiais que tenham estruturas internas de tamanho nano ou materiais com condensado de nanopartículas) em forma sólida, que são menores que 100nm em qualquer dimensão. ²
China	É o material que tem uma estrutura tridimensional com pelo menos uma dimensão na escala nanométrica (faixa de 1 a 100nm em dimensão geométrica) ou constituído por uma unidade nanoestruturada e um material com propriedades especiais. ²
Japão	Refere-se entre os materiais sólidos fabricados obtidos utilizando elementos como uma matéria-prima, um nano-objeto com pelo menos uma das três dimensões com aproximadamente 1-100nm e um material nanoestruturado composto por nano-objetos (incluindo matéria composta de aglomerados/agregados de nano-objetos). ²
Austrália	Materiais intencionalmente produzidos, manufaturados ou modificados para terem propriedades únicas ou composição específica à nanoescala, que é uma faixa de tamanho tipicamente entre 1 e 100nm, e é ou um nano-objeto (isto é, com uma, duas ou três dimensões em nanoescala) ou é nanoestruturado (isto é, tem uma estrutura interna ou de superfície na nanoescala). Notas para esta definição: i) Materiais intencionalmente produzidos, manufaturados ou engenheirados são distintos daqueles materiais acidentalmente produzidos; ii) “propriedades únicas” referem-se a propriedades químicas e/ou físicas que são diferentes devido às características dos materiais em nanoescala quando comparados com o mesmo material fora da nanoescala e o resultado é um fenômeno único (por exemplo, aumento da força, reatividade, condutividade) que permite novas aplicações. iii) Agregados e aglomerados são considerados nanoestruturados. ³

Referências: 1 - European Union, 2014; 2 - PARK, 2012; 3 - Australian Government (National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme), 2013.

Nos países asiáticos os debates a respeito da nanotecnologia, a exemplo de outras partes do mundo, estão em andamento. Conforme apresentado (Tabela 5) temos definições para “Nanomaterial”, com diferentes considerações de acordo com o país de origem.

4.2 Conceitos e Diretrizes em Organizações de Cooperação Internacional

➤ *International Conference on Harmonisation of the Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals (ICH)*

A ICH é uma instituição importante por reunir autoridades reguladoras e o setor regulado, em especial farmacêutico, para discutir aspectos científicos e técnicos relacionados ao registro de medicamento. Desde sua criação, em 1990, o ICH evoluiu e cada vez mais tem respondido às demandas globais para o desenvolvimento de medicamentos de modo que os benefícios da harmonização internacional para a melhor saúde global possam ser realizados em todo o mundo (ICH, 2005).

A divulgação dos trabalhos da ICH é feita através de Guias que hoje estão divididos em 4 áreas: Qualidade, Segurança, Eficácia e Multidisciplinar. Avaliações dos guias já publicados, dos grupos de discussão formados e *website* da organização não indicaram a existência de trabalhos direcionados para nanomateriais, nanotecnologia ou outros possíveis termos com o prefixo “nano”. Não foi verificado parecer técnico, proposta de legislação ou padronização de conceitos (pesquisa atualizada em maio de 2017).

O ICH apresenta-se como um órgão de referência para agências regulatórias de todo o mundo e a ausência de diretrizes sobre a regulamentação de nanomateriais pode ser fruto da ausência de sintonia entre os integrantes (FDA, EMA e Agência Sanitária Japonesa), conforme já apresentamos anteriormente.

➤ *International Organization for Standardization (ISO)*

A ISO é um órgão de referência mundial a respeito da padronização internacional. As definições a respeito de nanomateriais estão em revisão (EUROPEAN UNION, 2010a). Em 2005, através do Comitê Técnico que trata das Nanotecnologias ISO/TC 229, a normatização do conceito de Nanomateriais incluiu:

- i) Compreensão e controle da matéria e processos em nanoescala, tipicamente, mas não exclusivamente, abaixo de 100 nanômetros em uma ou mais dimensões, onde o aparecimento de fenômenos tamanho-dependentes, normalmente, permitem novas aplicações; ou
- ii) Utilização das propriedades dos materiais em nanoescala que diferem das propriedades de átomos individualizados, moléculas e materiais macroscópicos, para a criação de materiais, dispositivos e sistemas que exploram estas novas propriedades (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2005).

Após este trabalho, diversos outros já foram publicados e/ ou estão em desenvolvimento por grupos de estudo na ISO, na tentativa de padronizar atividades/termos relacionados à nanotecnologia. Dentro das atualizações mais recentes temos:

Nanoescala: faixa de tamanho de aproximadamente 1nm até 100nm.

Nota 1: Propriedades que não são extrapolações a partir de um tamanho maior, tipicamente, mas não exclusivamente, são verificadas neste intervalo de tamanho. Para essas propriedades, este limite de tamanho é considerado aproximado.

Nota 2: O limite inferior desta definição (aproximadamente 1nm) é introduzido para evitar grupos individuais e pequenos átomos de serem designados como nano-objetos ou elementos de nanoestruturas que podem ser influenciados pela ausência de um limite inferior (ISO TE 27687:2008 *apud* European Union, 2010b).

Na ISO 26824:2013 – *Particle Characterization of Particulate Systems – Vocabulary* (*apud* EUROPEAN UNION, 2014), são definidos os termos:

Partícula: diminuta parte da matéria com fronteiras físicas bem definidas.

Nota 1: Um limite físico pode também ser definido como uma interface.

Nota 2: Uma partícula pode mover-se como uma unidade.

Nota 3: Esta definição aplica-se a nano-objetos.

Aglomerado: coleção de partículas fraca ou moderadamente ligadas de maneira que a superfície externa é igual à soma das áreas de superfície dos seus componentes individuais.

Nota 1: As forças que mantêm um aglomerado junto são forças fracas, por exemplo, forças de Van de Waals ou simples emaranhados físicos.

Nota 2: Aglomerados também são denominadas partículas secundárias e as partículas de origem são denominadas partículas primárias.

Agregado: partículas fortemente ligadas ou fundidas com a área superficial externa significativamente menor do que a soma das áreas de superfície dos componentes individuais.

Nota 1: As forças que mantêm o conjunto são fortes como, por exemplo, ligações covalentes ou resultantes de síntese ou emaranhado físico complexo ou partículas primárias combinadas de maneira diferente.

Nota 2: Agregados também são denominados partículas secundárias e as partículas de origem são denominadas partículas primárias.

Partícula Primária: partícula original fonte de aglomerados ou agregados ou a mistura dos dois.

➤ *European Cosmetic Products Regulation (ECPR) e International Cooperation on Cosmetic Regulation (ICCR)*

No caso de cosméticos, a ECPR através do Regulamento nº 1223/2009 do Parlamento e do Conselho Europeu (JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA, 2009) caracteriza nanomaterial:

“(...) k) um material insolúvel ou biopersistente e fabricado intencionalmente e dotado de uma ou mais dimensões externas ou de uma estrutura interna, numa escala de 1 a 100nm”, acrescido ao fato que esta definição deve ser adaptada com o progresso técnico e científico.

Em conformidade com a definição ECPR, a ICCR (2010), grupo formado por autoridades regulatórias dos Estados Unidos, Japão, União Europeia e Canadá, considera:

“(...) é considerada nanomaterial se for um ingrediente insolúvel, produzido intencionalmente, com uma ou mais dimensões na região de 1 a 100nm na formulação final e que seja estável e persistente no meio biológico o suficiente para permitir um potencial de interação com meios biológicos”.

Considerando as diferentes visões entre as organizações avaliadas, a seguir é realizado um compilado de aspectos técnicos divergentes e convergentes.

4.3 Aspectos Técnicos divergentes e convergentes nas definições

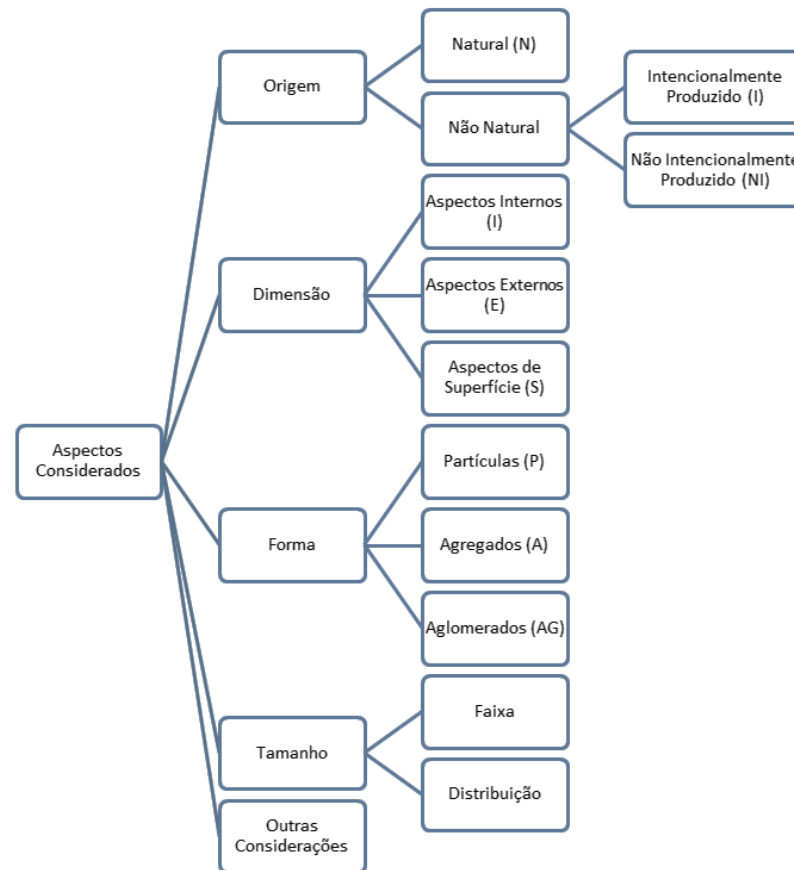
A multiplicidade de definições disponíveis neutraliza o poder e a força individual de cada definição, uma vez que cada uma delas é aplicável em setores específicos, dentro de uma determinada organização ou atividade (EUROPEAN UNION, 2010a). Considerando a grande diversidade de conceitos existentes e como não há um consenso de requisitos a serem considerados torna-se, neste momento, uma questão chave estabelecer os principais critérios e assim facilitar a comunicação das provas científicas.

Foram apresentados elementos divergentes e convergentes, gerando uma grande diversidade de conceitos. As variações foram agrupadas em (Figura 2):

- Quanto à origem do nanomaterial: Natural (N) ou Não Natural este último podendo ser Intencionalmente Produzido (I) ou ainda Não Intencionalmente (NI);
- Quanto à dimensão considerando aspectos Internos (I), Externos (E) e/ou de Superfície (S);
- Quanto à forma (estrutura) com referência à formação de Partículas (P), Agregados (A) ou Aglomerados (AG);
- Quanto ao tamanho indicado por meio de faixa ou frequência (distribuição de tamanho de partícula - DTP);
- Considerando outras propriedades como referências ao aparecimento de fenômenos ou propriedades vinculadas à nanoescala como solubilidade, superfície específica por volume ou outras.

Considerando estes aspectos, as definições levantadas foram avaliadas, conforme indicado na Tabela 6.

Figura 2 - Aspectos técnicos considerados para a definição de nanomaterial



Fonte: Próprio autor.

Tabela 6 - Características consideradas nas diferentes definições de nanomaterial ou definições relacionadas.

ORGANIZAÇÃO (Origem)	CARACTERÍSTICAS CONSIDERADAS						
	Origem	Aspectos Físicos				Fenômenos e Propriedades	Outras / Observações:
		Dimensão:	Forma/ Estrutura:	Faixa (nm):	Frequência		
FDA - Food and Drug Administration (EUA)	I	I, E, S	-	1 a 100	-	Sim	Limite de até 1000nm quando exhibe fenômenos e/ou propriedades atribuíveis à dimensão.
European Cosmetic Products Regulation (União Europeia)	I	I, E	-	1 a 100	-	-	Insolúvel e Biopersistente
European Comission (União Europeia)	N, I, NI	-	P, A, AG	1 a 100	1 a 50% em número de partículas	-	Superfície específica mínima por volume: 60m ² /cm ³ .
EMA - European Medice Agency (União Europeia)	-	-	-	0,2 a 100	-	-	Aplicação de estruturas, dispositivos e sistemas.
Ministère de l'Écologie, du Développement durable et de l'Énergie (França)	I	-	P, A, AG	1 a 100	Proporção mínima	-	O limite da proporção mínima varia de acordo com a precaução requerida.
Federale Overheidsdienst Volksgezondheid, Veiligheid Van de Voedselketen em Leefmilieu (Serviço Público Federal de Saúde Pública, Segurança, Meio Ambiente e Cadeia Alimentar) (Bélgica)	I	-	P, A, AG	1 a 100	1 a 50% em número de partículas	-	Substâncias produzidas por escolha técnica, por mudança voluntária em processo e substância não necessária para a produção de um produto principal.

Continua

Continuação

Tabela 6 - Características consideradas nas diferentes definições de nanomaterial ou definições relacionadas.

<i>Background Paper on the Position of German Competent Authorities</i> (Alemanha)	N, I, NI	-	P, A, AG	1 a 100	1 a 50% em número de partículas	-	A recomendação da União Europeia é bem-vinda e deve haver esforços para sua aplicação.
<i>State Secretariat for Economic Affairs, Chemical and Occupational Health</i> (Suíça)	-	-	P, A, AG	1 a 100	>1% das partículas em estado não agregado ou aglomerado.	-	Inclui qualquer material que o tamanho médio seja menor que 500nm (grande quantidade de partículas alcançariam a faixa de 1 a 100nm). Reforça o potencial de interação com células a partir de 300nm.
<i>Norwegian Product Register of Chemical</i> (Noruega)	I	-	P, A, AG	1 a 100	1 a 50% em número-partículas	-	Superfície específica por volume: 60m ² /cm ³ .
<i>Health Canada</i> (Canadá)	I	I, E, S	-	1 a 100	-	Sim	-
<i>The Council of Labor Affairs – Chemical Substance Nomination & Notification</i> (Taiwan)	I	I, E, S	-	1 a 100	-	Sim	Exemplos de fenômenos: aumento da intensidade ou reatividade química
<i>Korean Agency for Technology and Science</i> (Coreia do Sul)	-	I, E, S	-	<100	-	-	Indica nano-objetos ou materiais nano-estruturados (estruturas internas ou material com condensado de nanopartículas).

Continua

Continuação

Tabela 6 - Características consideradas nas diferentes definições de nanomaterial ou definições relacionadas.

<i>Technical Committee 279 / AQSIQ (China)</i>	-	I, E, S	-	1 a 100	-	Sim	Faz referência à material com propriedades especiais.
Ministério da Saúde, Trabalho e Bem Estar (Japão)	I	I, E, S	P, A, AG	1 a 100	-	-	Somente considera materiais sólidos.
<i>Australian Government – Department of Health (National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme) (Austrália)</i>	I	I, E, S	P, A, AG	1 a 100	-	Sim	Materiais acidentalmente produzidos não são intencionais.
<i>International Organization for Standardization</i>	-	-	P, A, AG	1 a 100	-	Sim	Compilado de diretrizes do ISO/TC 229 (2005) e ISO 26824:2013. Agregados e aglomerados são partículas secundárias que surgem de partículas originais (Partículas Primárias).
<i>International Council of Chemical Associations</i>	I	-	P, A, AG	1 a 100	-	Sim	-
<i>International Cooperation on Cosmetics Regulation</i>	I	-	-	1 a 100	-	-	Deixa claro que a faixa estabelecida é na formulação final. Insolúvel, Estável e persistente o suficiente para permitir potencial de interação com meios biológicos.

Origem: N - Natural; I - Intencional; NI - Não Intencional. Dimensão: I – Interna; E – Externa; S – Superfície. Forma: P – Partícula; A – Agregado; AG – Aglomerado. Fonte: Próprio autor.

➤ Origem

No que diz respeito à origem, os nanomateriais podem ser divididos em dois grandes grupos: aqueles de origem natural e aqueles não naturais. Em nenhuma das diretrizes avaliadas há referência somente à origem natural, em cinco (28%) este requisito não é considerado e em poucas (2 - 11%) a origem natural juntamente com a não natural é considerada. A grande maioria das definições considera um nanomaterial aquelas partículas de origem não naturais (13 - 72,0%).

A origem não natural é dividida na maioria das organizações estudadas em outros dois grupos: Intencional ou Não Intencional. Esta divisão é esclarecida por algumas organizações que ressaltam que os “materiais acidentalmente produzidos não são intencionais”. Considerando esta divisão, das 13 organizações que faziam referências à origem não natural, onze indicam que a origem é intencional, ou seja, 84% das organizações indicam o termo “intencional” nas diretrizes. As duas que consideram na origem aspectos “não intencionais” coincidem com as mesmas que aceitam a origem natural, provavelmente pela dificuldade de se separar o natural do não intencional. Dessa forma, quanto à origem, a maioria das definições/instituições avaliadas (11 - 61%) deixa muito claro que um nanomaterial deve surgir de origem intencional, a partir de atividades de produção ou engenharia.

A inclusão da origem Natural e Não Intencional ocorre na recomendação feita pela União Europeia e na indicada pela Alemanha. Para Bleeker e colaboradores (2013), no caso da recomendação dada pela União Europeia, a descrição foi bastante ampla de maneira proposital. Ao incluir todos os tipos de nanomateriais ou nanopartículas, independente da origem, como as cinzas vulcânicas (origem natural), partículas de processos de combustão (origem não intencional) ou nanomateriais intencionalmente produzidos para processos industriais e produtos de consumo, a organização prefere relacionar apenas ao tamanho (conforme discutido adiante), não realizando seleções prévias. Para os autores é conveniente utilizar uma ampla descrição, sem distinção quanto à origem e deixar a distinção entre o natural, acidental ou o fabricado para legislações específicas, uma vez que a necessidade de tal distinção estará relacionada com o propósito da legislação. Ou seja, para a Comissão Europeia trata-se de uma recomendação ampla que servirá de base para diretrizes específicas conforme posteriores marcos regulatórios de várias áreas.

Em suma, para uma estrutura de regulação de medicamentos de base nanotecnológica, independente da origem (natural ou não natural), caso os novos fenômenos sejam observados e relacionados ao tamanho, o nanomaterial deve ser incluído no escopo da regulamentação.

➤ Aspectos Físicos: Dimensão, Forma e Tamanho

Quanto aos aspectos físicos considerados no contexto estudado, verifica-se que em alguns casos são consideradas as dimensões internas, externas e superfície para a avaliação dos nanomateriais. Em outros casos há a indicação de se considerar a forma: partícula, aglomerado e agregado.

O Parlamento Europeu (EUROPEAN UNION, 2009) estabelece que existe certo número de normas internacionais disponíveis ou em fase de elaboração que estipulam, frequentemente, uma distinção entre nanomateriais (nano-objetos) e materiais nano-estruturados. Os primeiros são definidos como "elementos distintos de materiais com uma, duas ou três dimensões externas na escala nanométrica", ou seja, como materiais constituídos por objetos isolados com dimensões muito reduzidas; já os últimos são definidos como materiais "com uma estrutura interna ou de superfície à escala nanométrica", por exemplo, com cavidades de dimensões reduzidas. Dessa forma, inclui mais dois termos que estão relacionados aos aspectos físicos considerados.

De maneira conjunta, os diferentes termos refletem a mesma situação. Ao se considerar dimensões externas (com uma, duas ou três dimensões), tem-se trabalhado com o nanomaterial, que está em conformidade com o conceito de partícula. Ao se considerar estruturas internas ou de superfície, tem-se trabalhado com os materiais nano-estruturados que nos remetem à formação de partículas secundárias (agregados ou aglomerados) ou a presença de, por exemplo, poros. Embora algumas diretrizes relacionem exclusivamente à dimensão (33%) e outras exclusivamente à estrutura / forma (44%), existem as diretrizes que deixam claro ambos os aspectos, como é o caso, por exemplo, da definição adotada pela Austrália (AUSTRALIAN GOVERNMENT, 2013).

(...) e é ou um nano-objeto (isto é, que com uma, duas ou três dimensões em nanoescala) ou é nanoestruturado (isto é, tem uma estrutura interna ou de superfície na nanoescala). Notas para esta definição:

(...) iii) Agregados e aglomerados são consideradas nanoestruturas.

Neste sentido, ao que parece, não há necessidade de demasiada discussão a respeito dos aspectos considerados – dimensão ou forma – e utilizar ambas diretrizes pode ser a solução para evitar dúvidas.

Cabe uma avaliação aprofundada a respeito das faixas de tamanho consideradas e a aplicação da avaliação por meio da frequência - distribuição de tamanho de partícula. O tamanho é o principal aspecto considerado nas definições de nanomaterial, provavelmente pela intrínseca relação que o pré-fixo “nano” tem com este conceito. Assim o tamanho é um elemento universal que está presente em todas as diretrizes (100%) embora às vezes com limites bem definidos e outras com indicação de valores aproximados incluindo considerações a respeito da frequência na distribuição por tamanho das partículas.

A faixa de tamanho frequentemente utilizada é a de 1 a 100 nm – presente nas diretrizes de praticamente todas as organizações avaliadas. O limite inferior de 1nm surge da necessidade de separar os nanomateriais de átomos ou moléculas. É claro que este limite é capaz de excluir pequenas moléculas, entretanto, moléculas grandes e complexas como proteínas globulares podem atingir tamanho próximo a 5nm. No estudo realizado por SCENIHR (EUROPEAN UNION, 2010b) estes limites, em especial o limite superior, surgem por consenso geral, visto que não há dados científicos que corroborem a adequação destes valores. A nanoescala, segundo o sistema métrico, compreenderia qualquer valor entre 1 micrômetro (μm) e 999 picnômetro (pm), ou seja, de 1 a 999 nanômetros (nm). Então surge a questão: se o principal objetivo de regulamentar os nanomateriais estaria no fato de serem interessantes por apresentarem fenômenos diferenciados, como definir uma faixa em que os fenômenos relacionados à nanoescala aparecem e/ou desaparecem? Não há valores exatos em que os fenômenos ocorrem até porque as partículas não possuem todas o mesmo tamanho e variam significativamente quanto à constituição.

A mera definição de limites inferior e superior não é suficiente visto que as partículas, em geral, apresentam-se distribuídas segundo o tamanho. Além disso, a utilização de um único valor limite seria demasiado restritivo na classificação de nanomateriais, cabendo assim algum tipo de abordagem diferenciada. Em algumas abordagens esta afirmação reflete na definição regulatória que deveria considerar a frequência (partículas não possuem todos o mesmo tamanho), utilizando a média de tamanhos e o desvio-padrão do tamanho para afinar definições. A distribuição de um

material por tamanho deve ser definida como o número de partículas numa dada gama de tamanhos, dividido pelo número total de partículas (EUROPEAN UNION, 2010b).

Se levarmos em conta que os nanomateriais podem apresentar-se com amplas faixas de tamanho, é importante considerar os materiais de tamanho compatível com toda a escala nano, compreendendo de 1 a 999nm, para se decidir em qual caminho seguir em uma avaliação de riscos. Com isso, é sugerido uma avaliação estratificada classificando os nanomateriais em 3 grupos principais (EUROPEAN UNION, 2010b):

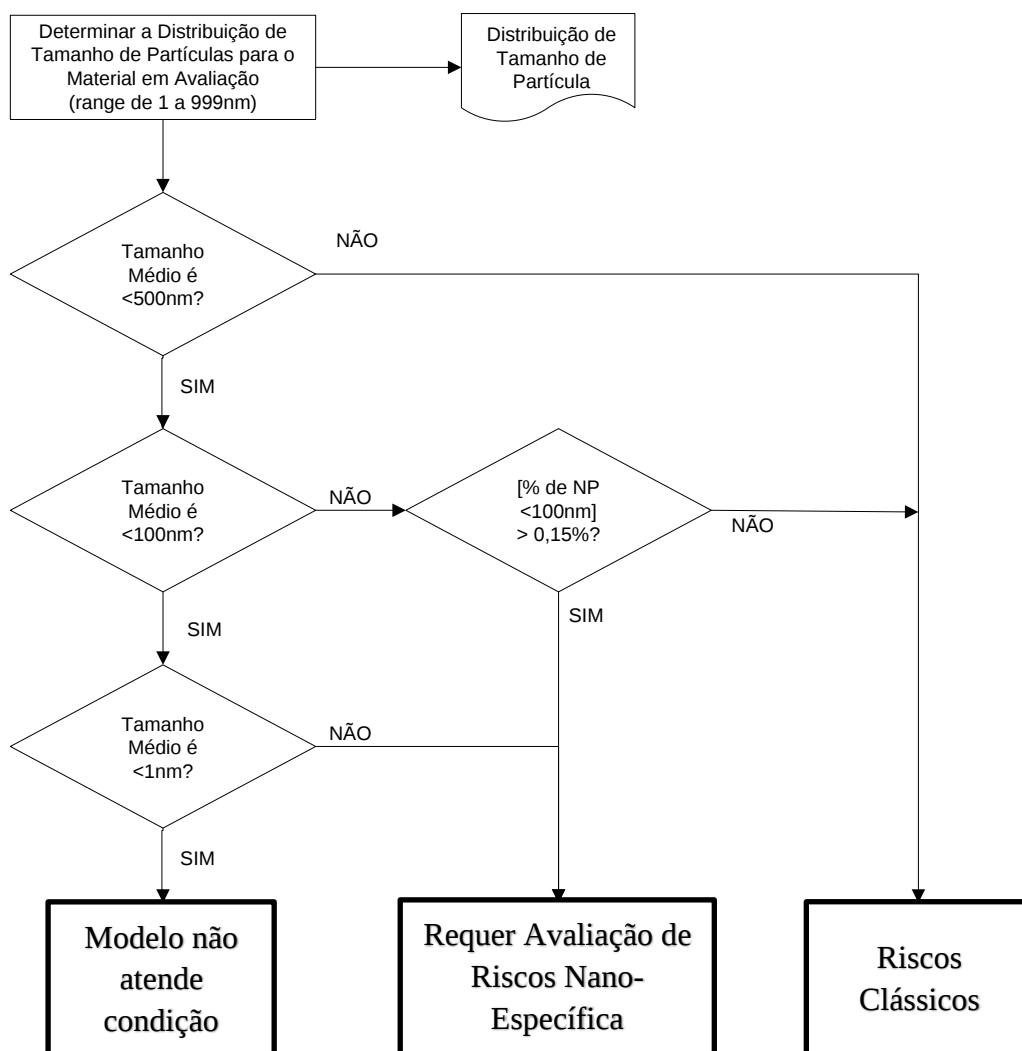
Grupo I: apresentam um tamanho de partícula médio maior que 500nm - considera-se que estes materiais apresentam uma baixa probabilidade de apresentar propriedades específicas da nanoescala e com isso avaliações de risco devem seguir abordagens tradicionais;

Grupo II: apresentam um tamanho de partícula médio entre 100 e 500nm - estes materiais devem ser classificados como nanomateriais se, baseado na distribuição de tamanho de partícula e no desvio padrão apresentado, for possível prever que mais de 0,15% (ou outra porcentagem especificada) do total de partículas apresentam-se com tamanho inferior a 100nm. Sendo um nanomaterial, deve-se realizar uma avaliação de risco específica, não cabendo realizar apenas abordagens tradicionais de riscos.

Grupo III: apresentam um tamanho de partícula médio entre 1 e 100nm – este é um nanomaterial e avaliações de risco específicos da nanoescala devem ser realizadas.

Esta abordagem de avaliar os nanomateriais segundo grupos é também apresentada na Figura 3. Com ela os nanomateriais avaliados por toda a nanoescala (de 1 a 999nm) são divididos em 3 grupos para um aprofundamento de avaliação segundo o possível grau de risco.

Figura 3 - Estratificação de nanomateriais segundo abordagem sugerida pelo *Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR)*



%NP: Porcentagem do Número de Partículas. Fonte: Adaptado de European Union, 2010b.

Este entendimento também é compartilhado pela *State Secretariat for Economic Affair, Chemical and Occupational Health* da Suíça (2012), que entende que qualquer material com um tamanho de partícula médio inferior a 500nm deve ser classificado como um nanomaterial. Isso porque quando os materiais possuem tamanho médio de 500nm, a distribuição de tamanho de partícula aponta uma grande quantidade de partículas que alcançariam o limite inferior (provavelmente de 1 a 100nm). Além disso, o potencial de interação com células já ocorre com tamanhos próximos de 300nm.

Desta ideia de que as partículas em uma amostra não possuem todas o mesmo tamanho e que uma pequena porcentagem do material em tamanho reduzido representa uma significativa quantidade de partículas, surgem os limites recomendados pela

Comissão Europeia: 1 a 50% em Número das Partículas de 1 a 100nm seria caracterizado como um nanomaterial, ou menos, caso o princípio da precaução justifique.

Ponderar a variabilidade no tamanho das partículas parece aproximar da realidade e neste sentido estabelecer critérios considerando que o tamanho reduzido contribui significativamente para o número de partículas passíveis de interação, efeitos ou ação, parece ainda mais real. Com a distribuição de tamanho de partícula, nas faixas de tamanho reduzido há uma diminuta contribuição para a massa, entretanto o número de partículas nesta faixa é relevante no contexto do total de partículas (BLEEKER et al., 2013).

De maneira oposta, o *International Council of Chemical Associations* (ICCA) defende fortemente o uso da definição de limites baseando em peso e não em número de partículas. Segundo o ICCA, a maioria dos modos de ação identificados para respostas biológicas aos nanomateriais sugere que a relação dose / respostas baseia-se na massa e não no número de partículas. Para o SCENIHR, avaliações por massa seriam inadequadas visto que uma mínima fração da massa pode conter um grande número de partículas de diminuto tamanho, enquanto que um pequeno número de partículas de maior tamanho pode representar a maior parte da massa. Além disso, em efeitos associados a uma dose-reposta, o risco está mais relacionado com o número de partículas ou à área superficial total do que à massa (EUROPEAN UNION, 2010b). Sendo assim, a avaliação baseada em superfície parece mais adequada.

Qual seria o impacto na avaliação de distribuição de tamanho de partícula se o material se apresenta altamente agregado ou aglomerado? Provavelmente o tamanho dos agregados e aglomerados influenciaria nos resultados e estruturas internas poderiam não ser consistentemente consideradas. Com isso, surge outro aspecto físico também considerado em algumas diretrizes, especialmente aquelas vinculadas à recomendação da União Europeia, a avaliação de área superficial específica por volume (ASEV).

A verificação da ASEV é uma característica avaliada no material que pode facilitar a identificação de nanoestruturas em materiais altamente aglomerados, agregados ou ainda em materiais porosos (EUROPEAN UNION, 2010b), sendo um parâmetro às vezes até mais significativo que do a distribuição de tamanho de partículas em si, visto que um material poderia exibir uma significativa área superficial mesmo com uma fração do material com dimensões externas (como aglomerados e agregados) com tamanho muito superior a 100nm.

Kreyling, Behnke e Chaudhry (2010) sugerem o uso da ASEV com um parâmetro adicional que considera as áreas externas e/ou internas do material. Para se estabelecer

um limite de área que fosse capaz de diferenciar um material “nano” de um material “micro” surge o limite de uma ASEV mínima a ser atendida. Para se definir este limite foi considerada a ASEV para uma esfera perfeita com diâmetro de 100nm e o limite estabelecido é que a ASEV deve ser maior ou igual a $60\text{m}^2/\text{cm}^3$. ASEV pode ser facilmente calculada a partir de dois parâmetros determináveis na especificação do material: a densidade do *bulk* (ρ) em g/cm^3 e a área superficial específica por massa (ASEM) em m^2/g com a seguinte relação entre os parâmetros:

$$\text{ASEV} (\text{m}^2/\text{cm}^3) = \text{ASEM} (\text{m}^2/\text{g}) * \rho (\text{g}/\text{cm}^3) \quad \text{Equação 1}$$

ASEV é considerada um critério adicional a ser utilizado para categorizar um pó seco como um nanomaterial, uma vez atingido o limite especificado. Entretanto, há suas limitações, visto que mesmo um material com uma ASEV abaixo de $60\text{m}^2/\text{cm}^3$ pode ainda ser um nanomaterial se considerarmos que uma fração pode ultrapassar o limite especificado. Além disso, nem todos os materiais são passíveis dessa determinação, como dispersões ou nanocarreadores complexos com componentes internos. Estes são casos com dificuldade nas medições, o que limita a aplicação (EUROPEAN UNION, 2010b).

➤ Insolubilidade e Biopersistência

Outros fatores de relevância quando se trata de nanomateriais são as mudanças que podem ocorrer durante o ciclo de vida do material. Este é um fator complicador visto que materiais agregados ou aglomerados podem se desintegrar, alterações estruturais podem ocorrer, revestimentos e superfícies podem sofrer alterações como oxidações, alterações na composição e estrutura do material, o que poderia impactar na classificação quanto a nanomateriais. Um material não classificado como nanomaterial poderia sofrer alterações durante o uso do produto, passando a ser classificado como um nanomaterial (BLEEKER et al., 2013). Por outro lado, um nanomaterial que se solubiliza em etapas iniciais do ciclo de vida (por exemplo durante a administração), descaracteriza a perfil particulado e, na maioria das vezes, avaliações específicas vinculadas à nanoescala não são relevantes.

Dessa forma não fica claro como classificar um material sem identificar e considerar as alterações que podem ocorrer durante o ciclo de vida do material (desde a

criação até a disposição final). Um material que se solubiliza durante uma determinada etapa torna os riscos relacionados significativamente reduzidos, por outro lado, nanomateriais formados durante etapas tardias que não foram submetidos às avaliações de risco aplicáveis desde as etapas iniciais, podem incluir riscos.

Dentre as recomendações avaliadas, os critérios de se manter insolúvel, estável e persistente suficientemente para permitir o potencial de interação com os meios biológicos está presente entre as características relevantes apresentadas pela ICCR e pela ECPR.

➤ **Fenômenos e Efeitos**

A razão das perspectivas e usos dos nanomateriais baseia-se primordialmente nas alternativas tecnológicas que os nanomateriais oferecem a partir de fenômenos e efeitos típicos dos materiais quando nesta escala. Assim um critério de definição de um nanomaterial poderia ser o aparecimento destes fenômenos e efeitos que não estariam presentes no material em escala ainda menor (nível atômico / molecular) ou maior (*bulk*).

Este critério, inclusive se sobrepondo aos outros já discutidos, aparece entre as características consideradas de sete organizações (38%). Para a FDA e a *Heath Canada*, a existência destes efeitos seriam tão relevantes que se poderia desconsiderar o tamanho do material para caracterizá-lo como um nanomaterial, desde que esteja na escala nanométrica (1 a 999nm). Apesar de esta diretriz aparecer de maneira bem explícita em apenas 38% das organizações avaliadas, não podemos concluir que as outras organizações (62%) não caracterizam como relevante o aparecimento de fenômenos ou efeitos, afinal esta é a característica primordial que justifica a categorização de um nanomaterial.

Para a FDA, além de desenvolver novos fenômenos e efeitos quando tratamos de nanomateriais, o mais importante no estudo de estruturas em nanoescala é entender como são as interações biológicas. A compreensão das interações dos nanomateriais com sistemas biológicos requer análises caso a caso de tipos específicos de nanomateriais. Modificações na carga ou na superfície de nanomateriais são relevantes e podem gerar um grande impacto para o efeito desejado e/ou tóxicos dos produtos. Com isso há uma grande dificuldade de prever os efeitos sem testá-los. Algumas vezes pode-se relacionar diretamente ao tamanho e prever que os deslocamentos no organismo e as interações podem ser maiores ou menores de acordo com o tamanho da partícula, mas quando

começa a haver outras variáveis, como as alterações de superfície, ainda não existem modelos totalmente seguros que possam prever os resultados, o que fortalece a ideia que para se chegar ao resultado é preciso avaliar e testar, caso a caso (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2007a).

As considerações sobre fenômenos e efeitos dos nanomateriais é um assunto extremamente complexo. A manipulação de propriedades de nanomateriais por meio da inclusão de entidades de superfície está se tornando cada vez mais comum e sofisticado na pesquisa científica. Estas estratégias podem estar presentes para modificar a dimensão ou a forma de partículas, para conferir a estabilização estérica ou eletrostática ou ainda para conferir uma funcionalidade específica para a superfície alvo (PETTITT e LEAD, 2013) como, por exemplo, quando a nanotecnologia é aplicada para a vetorização de fármacos para órgãos ou tumores, com potencial para o aumento de sua eficácia e redução de seus efeitos adversos (ROSSI-BERGMANN, 2008). A natureza da modificação pode alterar profundamente o comportamento das partículas em matrizes fisiológicas e ambientais (ROMER et al., 2011⁹ apud PETTITT e LEAD, 2013).

Existe um grande número de possibilidades da aplicação de revestimentos aos nanomateriais, propositalmente aplicados para gerar efeitos e fenômenos biológicos sendo que cada combinação de nanopartículas com sistemas de alteração de superfície representam um novo material que exige uma avaliação quanto aos aspectos de segurança específicos para sua utilização (EUROPEAN UNION, 2010b).

Para complementar este estudo conceitual, os principais nanomateriais já desenvolvidos nos produtos sujeitos à regulação sanitária (conforme listas apresentadas nas Tabelas 1 a 3) foram agrupados e, para cada grupo, foram considerados os conceitos, técnicas de obtenção, usos e critérios de qualidade relacionados – formando o Apêndice A. Este compilado reforça a grande diversidade tecnológica e de composição que cerca os N&N e demonstra claramente como, através da manipulação da matéria na escala nanométrica, são obtidos fenômenos e efeitos diferenciados capazes de representar alternativas tecnológicas.

⁹ Romer, I. et al. Aggregation and dispersion of silver nanoparticles in exposure media for aquatic toxicity tests. *Journal of Chromatography*, v. 1218, p. 4226-4233, 2011.

4.4 A Construção de um conceito

Fica evidente dentre as várias agências e institutos avaliados, a necessidade de se definir estratégias para trabalhos em parceria, a fim de gerar e difundir conhecimento, padronizar técnicas e discutir resultados. O envolvimento do setor regulado com as agências reguladoras deve ocorrer desde etapas iniciais dos projetos de desenvolvimento de produtos de base nanotecnológica, para discussões, caracterização e avaliação de aspectos de segurança e eficácia. As agências devem incentivar e facilitar o envolvimento com o setor regulado por meios de canais que promovam a difusão e integração do conhecimento (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2007a, 2014a, 2014b; EUROPEAN COMMUNITIES, 2009; EUROPEAN UNION, 2010a, 2010b, 2014; HEALTH CANADA, 2011).

O conhecimento pode evoluir e haver modelos que sejam capazes de prever interações biológicas, mas para isso inúmeras pesquisas convergentes deverão ser desenvolvidas com abordagens interdisciplinares, envolvendo profissionais com profundo conhecimento de toxicologia, ciência dos materiais, medicina, biologia molecular, bioinformática e tecnologia farmacêutica. Existem diferenças fundamentais entre a produção em nanoescala e a que utiliza materiais em tamanho convencional. Estas diferenças são de difícil previsão e as incertezas reforçam a necessidade de profundo conhecimento sob os diversos aspectos, para a garantia da segurança e eficácia dos produtos regulamentados (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2007a).

Esta pesquisa regulatória, embora não esgote o tema, é capaz de confirmar que a nanotecnologia ultrapassa as fronteiras limitantes das disciplinas e requerem, para sua evolução, a formação de conhecimentos múltiplos, transdisciplinares e holísticos. Os levantamentos realizados confirmam que não há um consenso internacional a respeito dos conceitos e diretrizes técnicas relacionados aos nanomateriais. Entretanto pode-se afirmar que há duas vertentes principais:

- i) Aquela que considera a verificação de nanomateriais baseados em uma faixa de referência de 1 a 100nm, mas com sobreposição da avaliação de fenômenos e efeitos destes materiais, desde que atendida a escala nanométrica (1 a 999nm).
- ii) Aquela que considera a verificação de nanomateriais baseados na faixa de referência de 1 a 100nm, mas considerando que as partículas não atendem

a um único tamanho e a distribuição de tamanho de partícula e a relação área superficial específica por volume deve ser considerada. Nesta ótica, mesmo com uma baixa porcentagem de partículas na faixa de 1 a 100nm, este pode representar um grande número de partículas e ainda é necessário considerar a existência de partículas primárias e secundárias (aglomerados e agregados).

Outras diretrizes agregam considerações como a insolubilidade do material e biopersistência suficientes para a interação no meio biológico alvo.

Embora a necessidade de fenômenos e efeitos diferenciados vinculados à nanoescala não estejam claros em todas as definições, trata-se de uma característica que justifica o uso do nanomaterial tornando-se algo *sine qua non*. Se a presença do nanomaterial não gerar qualquer efeito diferenciado, não há justificativa para o uso da tecnologia.

Algumas questões importantes: “quando um material deve ser classificado como um nanomaterial? Quais características devem ser consideradas? A distinção entre um nanomaterial ou outro material deve-se basear na forma, na origem ou na aplicação? Embora não estejam claros os limites de tamanho em que o material passa a apresentar alterações em propriedades, como estabelecer limites? A adoção de critérios específicos não seria importante para adaptar os conceitos às necessidades de cada área? Este cenário de incertezas levaria a uma insegurança jurídica? Sob a ótica técnica, teríamos questões como: quanto à dimensão, seria indicado um valor aproximado de tamanho (na ordem de 100 nm ou menos) ou a adoção de uma faixa específica de tamanho (por exemplo, entre 1 e 100nm)? Os fenômenos obtidos com variações no tamanho seriam avaliados como critério independente ou seriam consideradas como critério adicional para a definição de nanomaterial? Seria aplicável desenvolver limitações na definição de nanomateriais a certas propriedades (insolúveis ou persistentes, por exemplo)?” (EUROPEAN PARLIAMENT, 2009; EUROPEAN UNION, 2010a, 2010b) não foram plenamente respondidas. Entretanto uma definição restritiva, com as lacunas do conhecimento existente, parece ser tão arriscada quanto o próprio desconhecimento que temos sobre nanomateriais, frente às complexidades e a multidisciplinaridade que os cerca.

No que diz respeito à regulação de medicamentos de base nanotecnológica, o arcabouço deve surgir a partir de uma definição inicial, não restritiva, e que se apresente como uma alternativa para todas as definições hoje defendidas, até que a evolução

técnica-científica justifique uma revisão. Assim sugere-se que a seguinte definição seja adotada:

Entende-se por um nanomaterial aquele intencionalmente produzido, com solubilidade e biopersistência suficiente para que o(s) efeito(s) biológico(s) pretendido(s) seja(m) alcançado(s) e que:

- i) Possua tamanho médio na escala nanométrica (1 a 999nm) e que contenha partículas individualizadas, agregadas ou aglomeradas, cuja uma porção mínima tenha uma ou mais dimensões interna, externa ou de superfície com tamanho compreendido entre 1 e 100nm, ou;
- ii) É projetado para exibir propriedades ou fenômenos, incluindo propriedades físicas, químicas ou efeitos biológicos atribuíveis à dimensão na escala nanométrica.

Notas:

- a) Materiais não intencionalmente produzidos, mas com intenções de explorar propriedades ou fenômenos atribuíveis ao material por meio de alternativas tecnológicas, devem ser considerados intencionalmente produzidos.
- b) Partículas indicadas no item i) que possuam área superficial específica por volume superior a $60\text{m}^2/\text{cm}^3$ caracterizam-se como nanomaterial.
- c) A solubilidade, a biopersistência e a distribuição de tamanho de partículas, quando o conhecimento técnico permitir, devem ser avaliadas em todos os possíveis meios biológicos considerando o ciclo de vida do material;
- d) A porção mínima a que se refere o item i) deve considerar a precaução requerida e os possíveis riscos.

Esta definição compila aspectos técnicos justificados pelas diversas agências avaliadas, representando assim um consenso tecnicamente justificado. Entretanto, este tipo de abordagem pode gerar impactos político-econômico e, sob esta ótica, cabe avaliações específicas que não estão no escopo deste trabalho, reservando às questões técnicas.

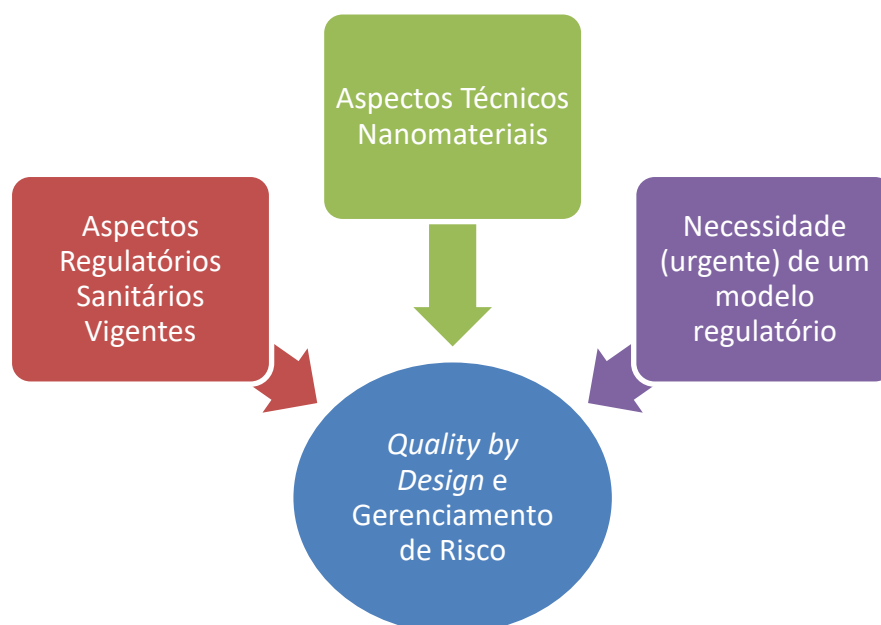
A complexidade que cerca os nanomateriais e as muitas lacunas de conhecimento requerem ações conjuntas, integradas, multidisciplinares e realizadas por multicentros de pesquisa para profunda e completa compreensão.

O cenário atual relacionado aos nanomateriais indica (Figura 4):

- i) Aspectos regulatórios sanitários vigentes, ausentes ou sem consenso, considerando aspectos físicos (como tamanho) e/ou considerando efeito e com claro reforço da necessidade de se avaliar caso-a-caso;
- ii) Aspectos técnicos relacionados ao desenvolvimento e produção de nanomateriais e produtos de base nanotecnológica: complexos, sofisticados, com ampla faixa de aplicação às mais diversas áreas e requerendo alto grau de especialização para avaliação (aspectos técnicos não triviais);
- iii) Necessidade de um modelo regulatório: urgente e prático para regulamentar as milhares de unidades de produtos sujeitos à regulação sanitária disponibilizados para o mercado.

Nos capítulos seguintes são apresentadas as diretrizes *Quality by Design* (ICH, 2009) e Gerenciamento de Risco (ICH, 2005) como alternativas para o desenvolvimento de estratégias de regulação para atender as necessidades de um modelo regulatório, conforme representado na Figura 4.

Figura 4 - *Quality by Design* e Gestão de Risco apresentam-se como alternativas para atender necessidades de um modelo regulatório, considerando aspectos regulatórios sanitários e técnicos



Fonte: Próprio autor.

5 CAPÍTULO III: CONCEITO QUALITY BY DESIGN COMO UMA ESTRATÉGIA PARA REGULAÇÃO DE MEDICAMENTOS DE BASE NANOTECNOLÓGICA

Considerando a necessidade de avaliações caso a caso, a complexidade e a especificidade que cerca os nanomateriais, foi realizado estudo das diretrizes de desenvolvimento farmacêutico, com o conceito de QbD, direcionado pelo ICH através do guia Q-8. Também foram avaliadas publicações científicas relacionadas para promover discussões a respeito de como estas diretrizes podem ser aplicadas no desenvolvimento de tecnologias, formulações e processos aplicáveis ao desenvolvimento de medicamentos de base nanotecnológica. Por fim, através de um formulário é proposto um modelo para aplicação dos conceitos QbD para favorecer o desenvolvimento de um ambiente regulatório.

O desenvolvimento de produtos farmacêuticos é uma oportunidade de adquirir conhecimento pela aplicação de uma abordagem científica e baseada no gerenciamento de risco no desenvolvimento da formulação e do processo produtivo (ICH, 2009). Para a construção de um ambiente regulatório é importante considerar que a qualidade não pode ser apenas testada nos produtos farmacêuticos, mas construída desde as etapas iniciais do desenvolvimento. As alterações nas formulações e nos processos durante o desenvolvimento dos produtos representam importantes oportunidades de agregar conhecimento e aperfeiçoar o entendimento (ICH, 2009; KORAKIANITI; REKKAS, 2010). Os questionamentos desde etapas iniciais, o delineamento das idéias e o direcionamento de esforços contribuem significativamente para que os objetivos sejam atingidos (DIAS, 2013).

Juran foi o primeiro a introduzir o conceito *Quality by Design* (KORAKIANITI; REKKAS, 2010) cujas definições podem ser encontradas no livro “*Juran on Quality by Design – The New Steps for Planning Quality into Goods and Services*” (JURAN, 2011). *Quality by Design* (QbD) pode ser entendido como “uma abordagem sistemática para o desenvolvimento que parte de objetivos pré-definidos e enfatiza o entendimento do produto, do processo e o controle em processo, baseando-se em fundamentação científica e gestão de riscos” (ICH, 2009).

QbD requer o entendimento de como os componentes da formulação e parâmetros de processo influenciam a qualidade do produto, através de uma avaliação integrada (JIANG e YU, 2009). Isso não significa simplesmente aumentar o número de testes, mas

reconhecer que a qualidade é uma função conjunta do insumo farmacêutico ativo (IFA), excipientes, processo, embalagem e a interação entre estes itens (LIONBERGER et al., 2008). Dessa forma, QbD representa uma ferramenta importante para indústria e órgãos reguladores de como a qualidade pode ser construída nos produtos (RATHORE; WINKLE, 2009).

Na tentativa de se colocar em prática estes conceitos, o ICH recomenda um caminho. Independente da estratégia, para que a implementação do conceito QbD ocorra com sucesso, é importante a formação de equipes multidisciplinares (RATHORE; WINKLE, 2009), para que a visão sob diferentes óticas estejam presente desde as fases iniciais do projeto. No caminho proposto pelo ICH, a definição de um perfil de qualidade alvo e a avaliação de atributos críticos para a qualidade deve ocorrer desde etapas iniciais.

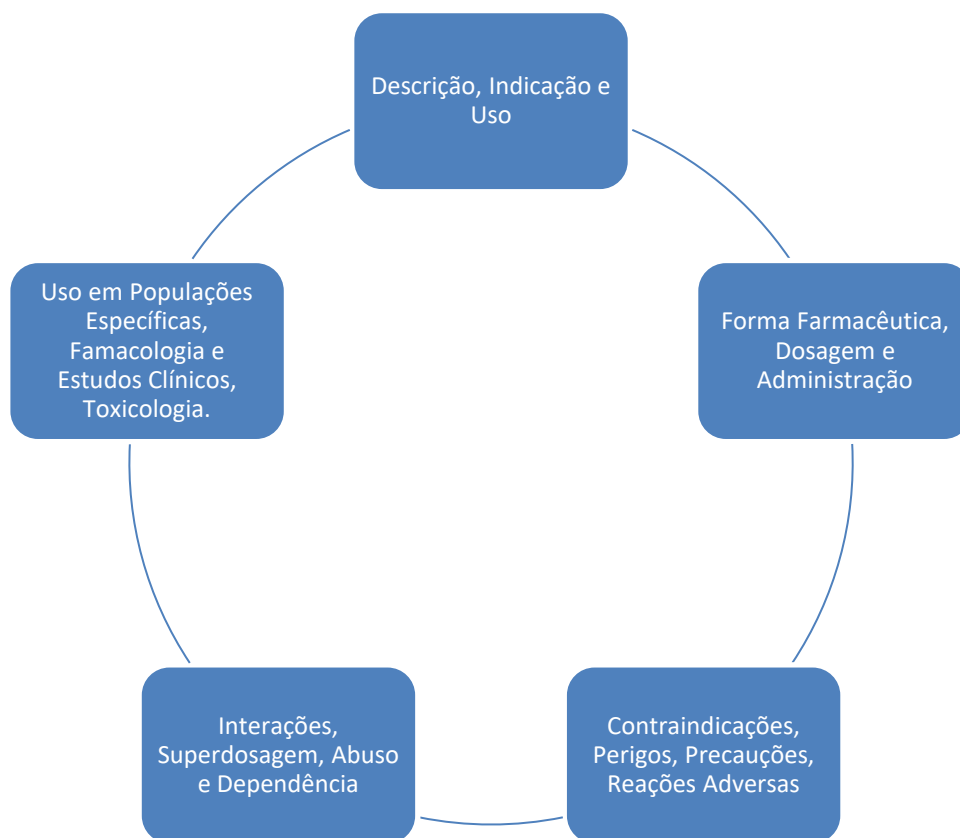
5.1 Definição do Perfil (de Qualidade) Alvo do Produto

O Perfil Alvo do Produto define a base para o desenvolvimento do produto e está relacionado a questões de qualidade, segurança e eficácia. A FDA considera a definição de um Perfil Alvo do Produto uma ferramenta estratégica do processo de desenvolvimento, funcionando como uma ferramenta de diálogo entre os desenvolvedores e a agência, minimizando assim riscos de falhas em estágios mais tardios do processo de desenvolvimento de produtos. Este processo também visa aumentar a probabilidade de otimização da segurança e eficácia, visto o envolvimento de equipes multidisciplinares, inclusive as agências regulatórias, nos projetos de desenvolvimento, em especial quando se trata de produtos complexos (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2007b).

Com a definição do Perfil Alvo do Produto tem-se amplamente difundido entre os envolvidos a noção de “*beginning with the goal in mind*”, ou seja, inicia-se o projeto com clareza dos objetivos e metas. O Perfil Alvo pode ser organizado segundo tópicos usuais sobre informações de medicamentos (em geral bulas): descrição, indicação e uso; forma farmacêutica, dosagem e administração; contraindicações; perigos e precauções; reações adversas; interações; uso em populações específicas; abuso e dependência; superdosagem; farmacologia e estudos clínicos; toxicologia; referências; estocagem e manuseio (Figura 5). Entretanto, todos estes aspectos não são tratados desde as etapas iniciais, direcionando assim a essência de um perfil de qualidade alvo do produto –

eficácia, segurança e qualidade – em grau de profundidade compatível com o conhecimento já sedimentado.

Figura 5 - Organização dos itens requeridos para a definição do Perfil de Qualidade Alvo do Produto



Fonte: Elaboração própria, adaptado de Food and Drug Administration (2007b).

Na revisão 01 (2005) do guia do ICH Q8 havia o termo Perfil Alvo do Produto contemplando questões como a forma farmacêutica, via de administração, dosagens, fração liberada para desempenho terapêutico, características farmacocinéticas, embalagens e outras características mais específicas para cada produto como, por exemplo, esterilidade, pureza e estabilidade. Na revisão 02 (2009) do ICH Q8 o termo Perfil Alvo do Produto é substituído pelo Perfil de Qualidade Alvo do Produto (PQAP), com as mesmas características previstas.

O PQAP representa um *template* que vincula, desde etapas iniciais de desenvolvimento, os aspectos relevantes para a formação do conhecimento relacionado a

segurança, eficácia e qualidade. Como o desenvolvimento de produtos deve ser visto como uma oportunidade de adquirir conhecimento através da aplicação de abordagens científicas e baseadas no gerenciamento de risco, a definição deste PQAP facilita a implementação dessas abordagens, como um primeiro passo.

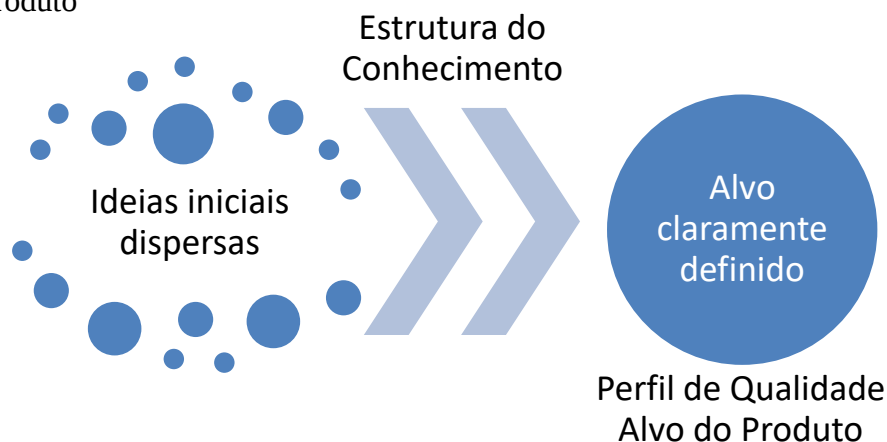
Para medicamentos genéricos, o PQAP baseia-se nas características do medicamento de referência e em requisitos de equivalência farmacêutica e bioequivalência (LIONBERGER et al., 2008; YU, 2008). Em trabalho publicado em nosso grupo há indicação do uso dessas diretrizes no desenvolvimento de um medicamento genérico, aplicado através de um estudo de caso de desenvolvimento de um comprimido de liberação imediata, considerando o PQAP formado a partir do estudo do medicamento de referência associado às demandas regulatórias aplicáveis aos medicamentos genéricos (DIAS, 2013).

Por outro lado, quando se trabalha com projetos de desenvolvimento de produtos inovadores, com pesquisas básicas e com a construção do conhecimento, a definição do PQAP não é fácil e representa a situação em que o PAQP é elaborado juntamente com a evolução do conhecimento e com a construção do produto. Em um processo de desenvolvimento de produtos farmacêuticos, em geral, as ideias iniciais sobre eficácia, segurança e qualidade podem se apresentar caóticas e dispersas. Há aspectos relacionados com o objeto da pesquisa, mas podem não estar efetivamente estruturados e em determinados momentos do desenvolvimento, trata-se do conhecimento a ser construído. A medida que o conhecimento é estruturado, tem-se claramente definido os objetivos relacionados à eficácia, segurança e qualidade, representado assim o PQAP.

Este processo de evolução e aperfeiçoamento (geração, organização, sustentação e/ou divulgação) do conhecimento favorece a ligação entre as idéias dispersas e desagregadas em torno do objetivo, do alvo, do que se deseja com o desenvolvimento (Figura 6).

A partir de uma ideia inicial, são desenvolvidos estudos adicionais e o conhecimento sedimentado favorece o amadurecimento do PQAP. Isso acontece, pois, no processo de desenvolvimento de produtos e tecnologias inovadores não é possível trabalhar com todos os aspectos relacionados aos produtos desde o início do projeto. A depender do estágio de desenvolvimento do produto e do grau de maturidade, os itens vão sendo incluídos junto ao processo de desenvolvimento.

Figura 6 - Representação da Etapa Inicial de Aplicação da Ferramenta *Quality by Design* – Aglutinar ideias dispersas em torno de uma estrutura clara – Perfil de Qualidade Alvo do Produto



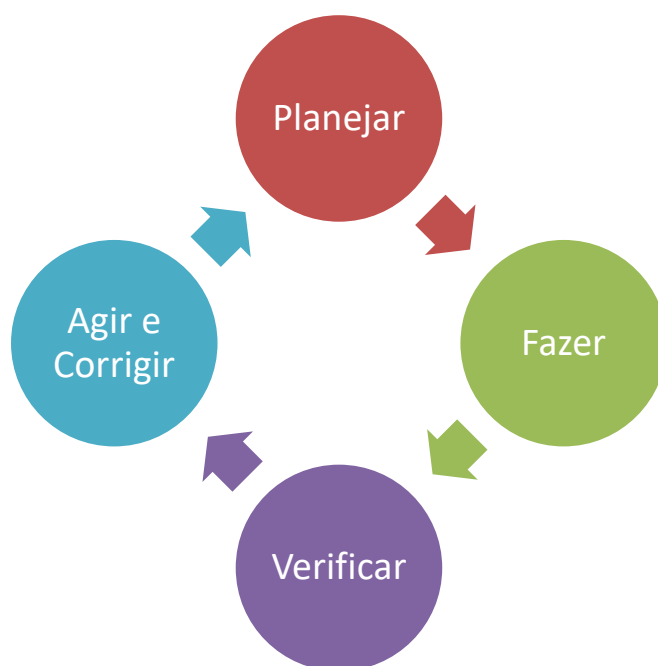
Fonte: Próprio autor.

Relacionado a estes processos de geração do conhecimento, temos algumas ferramentas amplamente utilizadas – os conhecidos ciclos PDCA - Planejar, Fazer, Verificar e Agir (ciclos estes conhecidos como Ciclo de Shewart, de Deming ou ciclos PDCA – do inglês *Plan, Do, Check, Act*). Este ciclo representa uma metodologia de gestão que consiste em quatro passos para melhorar processos e produtos de forma contínua. É uma importante ferramenta da qualidade, amplamente utilizada desde os anos de 1950. No meio industrial, a filosofia PDCA existe para acelerar e aperfeiçoar os processos industriais, por meio da identificação de problemas, causas e soluções (ENDEAVOR BRASIL, 2015).

Os ciclos PDCA respeitam a ordem proposta pela sigla (Figura 7), ou seja, iniciam-se com o “P” (*Plan* – Planejar), com elaboração do plano, segundo diretrizes e objetivos a serem alcançados, seguindo do “D” (*Do* – Fazer) que, considerando o planejado, coloca em prática ações que visam atender o plano e evidenciar os objetivos a serem alcançados. Depois inicia-se o “C” (*Check* – Verificar) que consiste na análise ou verificação dos resultados alcançados e dos dados coletados. Esta etapa visa evidenciar se os objetivos foram ou não alcançados e assim, detectar falhas ou erros a serem considerados. Por fim, tem-se a última fase do ciclo com o “A” (*Act* ou *Adjust* – Agir ou Corrigir) com as tomadas de ações corretivas com base no que foi verificado. Ou seja, nesta última etapa são investigadas as causas para as falhas ou desvios encontrados no passo anterior e, após agir ou ajustar, novos ciclos PDCA podem ser executados,

continuamente, para que os processos e práticas se aprimorem continuamente (ENDEAVOR BRASIL, 2015).

Figura 7 - Ciclo PDCA – *Plan, Do, Check, Act* ou *Adjust* – Planejar, Fazer, Verificar, Agir e Corrigir. Metodologia de melhoria contínua aplicável ao Aperfeiçoamento do PQAP.



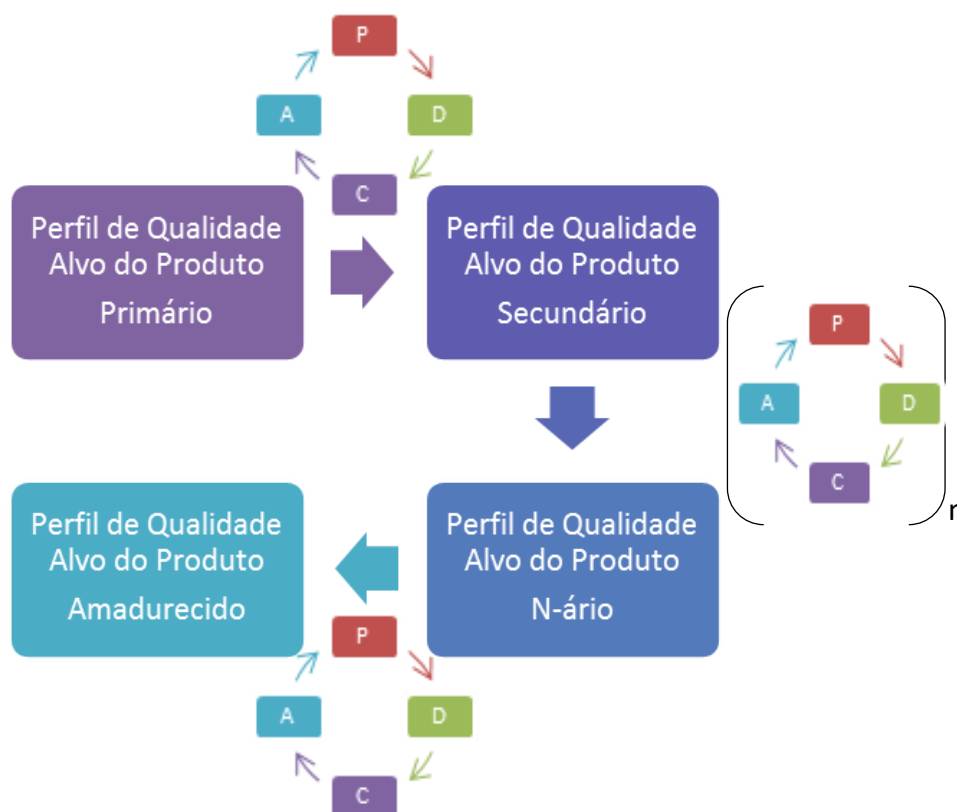
Fonte: Próprio autor.

Ao trazer esta metodologia para o processo de desenvolvimento de produtos, tem-se que à medida que ocorre um determinado planejamento e execução, pode-se evidenciar que os resultados inicialmente previstos não foram obtidos ou novos conhecimentos gerados podem resultar em ações para entender as causas e na adoção de medidas de correção, favorecendo o amadurecimento do PQAP.

Inúmeros ciclos PDCA podem ocorrer até que o conhecimento esteja suficientemente consolidado para cumprir os requisitos de eficácia, segurança e qualidade, cumprindo assim aspectos regulatórios, e levando à obtenção da liberação inicial para a disponibilização de produtos no mercado. As idéias iniciais podem ser estruturadas em PQAP imaturos que, com o desenvolvimento do produto, são amadurecidos / consolidados para formar um conjunto de informações que favorecem o aprimoramento do PQAP e a indicação de Atributos Críticos à Qualidade (ACQ) (Figura

8) – parte do processo de implementação do conceito QbD que está diretamente relacionado ao aperfeiçoamento do PQAP.

Figura 8 - As etapas para o amadurecimento para a definição de um Perfil de Qualidade Alvo do Produto inovadores. N-estágios de ciclos de PDCA favorecem o amadurecimento do Perfil de Qualidade Alvo



Fonte: Próprio autor

5.2 Identificação de Potenciais Atributos Críticos para a Qualidade (ACQ)

Atributos Críticos para a Qualidade são:

Propriedades físicas, químicas, biológicas ou microbiológicas ou características que devem apresentar adequados limites, intervalos ou distribuídas para assegurar a qualidade desejada. Geralmente estão associados ao insumo farmacêutico ativo, aos excipientes, aos intermediários (produtos intermediários) e ao produto terminado (ICH, 2009).

Lionberger e colaboradores (2008) esclarecem que os ACQ são elementos do PQAP que são mantidos dentro de faixas para o desempenho do produto ou ainda, são fatores como, por exemplo, tamanho de partícula, funcionalização ou outras características que podem estar diretamente vinculados com o desempenho do produto.

ACQ de comprimidos, por exemplo, são os aspectos que afetam a pureza, teor, características da liberação e estabilidade. Já lipossomas, por exemplo, para a produção do efeito desejado precisam ser controlados quanto à distribuição de tamanho de partícula, quantidade de fármaco encapsulado, morfologia do lipossoma, características de superfície e taxa de liberação do fármaco (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2015). Outras formas farmacêuticas podem apresentar atributos mais específicos como propriedades aerodinâmicas, no caso de produtos administrados por via pulmonar, adesão para adesivos transdérmicos ou esterilidade para produtos parenterais (ICH, 2009).

Os potenciais ACQ do Produto derivam do PQAP ou de conhecimentos prévios e são utilizados durante todo o processo de desenvolvimento da formulação e desenvolvimento do processo. Eles podem ser alterados ou reavaliados à medida que definições e conhecimentos da formulação e processos são estabelecidos (ICH, 2009). Entretanto, Rathore e Winkle (2009) reforçam que a empresa deve garantir que tudo ocorra de maneira que os ACQ, previamente definidos, sejam atendidos. A partir de uma lista significativa de potenciais Atributos Críticos, devem-se identificar quais Atributos são realmente críticos, por meio de uma avaliação do grau de impacto à qualidade do produto quando aquele atributo não é atingido (ICH, 2009).

Rathore e Winkle (2009) apontam que o conhecimento do produto, experiências no desenvolvimento de produtos similares, dados de literatura e outras fontes de informação formam o compilado técnico para a correlação racional que caracteriza um atributo como crítico ou não crítico. E reforça que, nesta avaliação de criticidade, deve-se levar sempre em consideração “os impactos na segurança e eficácia do produto”.

5.3 Determinação de ACQ do Fármaco e outros componentes da Formulação, Seleção do Processo e Avaliação de Parâmetros.

Os Potenciais ACQ relacionados ao fármaco, aos excipientes ou a produtos intermediários são, em geral, também classificados como críticos ou não críticos de acordo com a possibilidade de afetarem diretamente os ACQ do Produto (ICH, 2009) e indiretamente no PQAP.

Para os nanomateriais, em função da grande diversidade de tipos e características, muitos dos atributos considerados críticos para a qualidade exigem avaliações caso-a-caso. Entretanto, alguns aspectos relevantes e, geralmente, aplicáveis a diversos tipos de nanomateriais são realçados neste trabalho. Dentre os diversos aspectos, ganham

relevância a avaliação morfológica, distribuição de tamanho de partícula, propriedades dos agentes formadores das nanopartículas (lipídeos, polímeros, tensoativos e outros), potencial zeta, taxa e eficiência e perfil de liberação *in vitro* (SCHAFFAZICK et al., 2003; LEE, SHENOY e SHEEL, 2010; TIAN et al., 2011; FANGUEIRO, et al., 2012; GEORGE; GHOSH, 2013; FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2015).

Os diferentes componentes devem estar muito bem caracterizados: i) fármaco, ii) componentes formadores das nanoestruturas como lipídios, polímeros e outros, iii) demais componentes presentes como, por exemplo, estabilizantes, crioprotetores, sais ou outros componentes relevantes. Estes itens principais são discutidos a seguir e no Apêndice A é apresentada uma discussão a respeito da caracterização de Nanomateriais.

➤ O Insumo Farmacêutico Ativo (IFA) ou Fármaco

O IFA é entendido como qualquer substância introduzida na formulação de uma forma farmacêutica que, quando administrada em um paciente, atua desempenhando a atividade farmacológica. Tais substâncias podem exercer atividade farmacológica ou outro efeito direto no diagnóstico, cura, tratamento ou prevenção de uma doença, podendo ainda afetar a estrutura e funcionamento do organismo humano (BRASIL, 2010).

A avaliação do IFA durante o desenvolvimento do produto constitui uma importante ferramenta para a construção da qualidade do produto farmacêutico (ADEYEYE, 2008; BUENO; RECH, 2009; ALMEIDA, 2009; SINDUSFARMA, 2009), ocupando assim um lugar estratégico, sendo um elemento essencial da cadeia de produção farmacêutica para assegurar a qualidade dos produtos desenvolvidos.

A necessidade desta avaliação está amplamente descrita em legislações e há muito tempo é uma preocupação das agências reguladoras (BUENO; RECH, 2009). Um arcabouço regulatório (BRASIL, 2004; 2006; 2008; 2014a) sustenta ações a serem adotadas pelas empresas e pelos órgãos reguladores, no que diz respeito aos IFAs. Estes aspectos regulatórios pautam-se na complexa e intrínseca relação entre a qualidade destes insumos e o consequente impacto na qualidade dos medicamentos produzidos (BUENO; RECH, 2009).

Em geral, os dados dos IFA são apresentados em documentos chamados de *Drug Master File* (DMF) ou *Active Substance Master File* (ASMF) – nomenclaturas previstas

nas regulamentações do FDA e EMA¹⁰, respectivamente. Estes documentos promovem, com detalhes, o entendimento de utilidades, processos e materiais utilizados para a produção, processamento, embalagem e estoque de um ou mais IFA (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 1989) cujo objetivo principal é permitir uma avaliação de informações que demonstram a capacidade do fabricante em agregar qualidade ao material produzido e, ainda, tornar o fabricante do Insumo Farmacêutico Ativo também responsável pela qualidade do medicamento (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2012).

Tabela 7 - Itens preconizados no Drug Master File.

Código Padrão	Descrição
3.2.S.1	Informações Gerais
3.2.S.1.1	Nomenclatura
3.2.S.1.2	Estrutura
3.2.S.1.3	Propriedades Gerais
3.2.S.2	Fabricação
3.2.S.2.1	Fabricante
3.2.S.2.2	Descrição do Processo de Fabricação e Controles em Processo ¹
3.2.S.2.3	Controle de Qualidade dos Materiais
3.2.S.2.4	Controle de Etapas Críticas e Intermediários ²
3.2.S.2.5	Validação de Processo de Fabricação
3.2.S.2.6	Desenvolvimento de Processo de Fabricação ³
3.2.S.3	Caracterização
3.2.S.3.1	Elucidação Estrutural e outras características
3.2.S.3.2	Impurezas ⁴
3.2.S.4	Controle de Qualidade do IFA
3.2.S.4.1	Especificações
3.2.S.4.2	Métodos Analíticos
3.2.S.4.3	Validação dos Métodos Analíticos
3.2.S.4.4	Lotes Analisados
3.2.S.4.5	Justificativa para Especificações ⁵
3.2.S.5	Materiais e Padrões de Referência
3.2.S.6	Materiais de Embalagem
3.2.S.7	Estabilidade
3.2.S.7.1	Sumário do Estudo e Conclusão
3.2.S.7.2	Protocolos de Estabilidade de Acompanhamento
3.2.S.7.3	Dados de Estabilidade

Notas:

- 1) Fluxogramas deve incluir a narrativa do processo com indicação de pontos críticos, inclusive dados de esterilização, se aplicável.
- 2) Informações a um nível de detalhe relevante para o fabricante do medicamento.
- 3) Informações a um nível de detalhe que descreve completamente do processo.
- 4) Informações um nível de detalhe que correlacione com o processo produtivo e seja capaz de justificar a presença/ausência de controles na avaliação final do IFA.
- 5) Informação um nível de detalhe que correlacione com o processo produtivo, com os controles de qualidade dos materiais e validação de processo de fabricação.

Fonte: Adaptado do *Guideline on Active Pharmaceutical Ingredient Master File (APIMF) Procedure* da World Health Organization (WHO), 2007.

¹⁰ A nomenclatura *Drug Master File*, ou DMF, será a indicada neste texto já que é a forma mais amplamente conhecida no setor farmacêutico mundial (BUENO e RECH, 2009).

O compilado de informações detalhadas e científicas que formam estes dossiês é disponibilizado às empresas para registro dos medicamentos junto aos órgãos sanitários, servindo de suporte para as solicitações de registro de medicamentos (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 1989). Nestes documentos estão previstos itens que visam assegurar a suficiência de informações necessárias para garantir a contextualização científica necessária para o entendimento do material, além de gerar a responsabilidade compartilhada, entre fabricante do IFA e o fabricante do medicamento, e promover o entendimento dos envolvidos (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2012). Na Tabela 7 estão, resumidamente, apresentados os itens previstos em um DMF.

A construção do DMF estabelece um canal de comunicação com o fabricante do IFA e representa a oportunidade para um efetivo planejamento e avaliação da preparação em desenvolvimento (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2012). As características do fármaco devem ser criteriosamente avaliadas, em especial, para se levantar itens importantes que podem interferir direta ou indiretamente no processo de desenvolvimento do nanomaterial e nas características relevantes do produto final.

A quantidade do fármaco utilizada na formulação deve estar estabelecida. Recomenda-se a expressão da quantidade de fármaco por mililitro (ou miligrama) do produto base, nos casos de preparações líquidas. Para pós secos, deve-se indicar a quantidade total de fármaco por unidade. Faixas especificadas para as quantificações do fármaco devem ser justificadas (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2015).

➤ **Componentes formadores das nanoestruturas: Lipídeos e Polímeros**

Para um processo de desenvolvimento robusto, deve-se dar atenção especial ao fármaco e aos excipientes. Nas preparações nanotecnológicas, os componentes usualmente caracterizados como “inertes”, ou seja, aqueles não diretamente vinculados ao efeito farmacológico, devem receber igual ou superior valor no planejamento e desenvolvimento das formulações. Componentes não diretamente vinculados ao efeito farmacológico podem exercer funções tão importantes quanto aqueles, em especial em preparações nanotecnológicas em que a formação do sistema pode desempenhar um papel de extrema relevância. Possivelmente, a visão de que os excipientes são “inertes” que já vem sendo desconstruída em produtos tradicionais, recebem reforços importantes com o desenvolvimento de medicamentos de base nanotecnológica.

Apesar de ser amplamente conhecido que os excipientes podem alterar a estabilidade e a biodisponibilidade dos medicamentos, os princípios para a seleção dos excipientes, muitas vezes, não são bem definidos e a compatibilidade fármaco-excipiente às vezes não é clara (YU, 2008). Para formulações complexas como, por exemplo, lipossomas, os fármacos e os lipídios envolvidos apresentam relevância significativa. A proporção de lipídio/fármaco e as faixas de utilização de cada componente devem ser cuidadosamente definidas. Excipientes estratégicos devem ser definidos e claramente identificados quanto a sua influência na qualidade, segurança e eficácia do produto final (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2015).

A definição inicial da formulação é um passo de extrema importância e pode impactar em todas as etapas subsequentes do desenvolvimento do produto. O desenvolvimento e a correta formulação requerem conhecimento das características físicas, químicas e biológicas de todas as substâncias, incluindo a verificação do fármaco e os excipientes (ALLEN JUNIOR.; POPOVICH; ANSEL, 2007; BUENO; RECH, 2009).

Para os lipossomas, por exemplo, os lipídeos exercem um papel fundamental para o efetivo desempenho da preparação. Para tanto, devem ser criteriosamente avaliados e definidos. Os lipídeos utilizados, bem como as quantidades, devem ser definidos. Recomenda-se que para cada lipídio esteja definida a quantidade utilizada, expresso por razão molar e a quantidade em peso-por-peso em relação ao fármaco. Caso sejam adotadas faixas, deve-se justificar, com atenção especial para aqueles componentes diretamente vinculados ao desempenho do sistema. Essas quantidades devem ser justificadas baseando-se em estudos direcionados e deve haver clareza de como os limites estabelecidos para os excipientes estratégicos impactam diretamente no efeito e desempenho (segurança, eficácia e qualidade) da formulação final (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2015). Este mesmo raciocínio deve ser aplicado aos polímeros utilizados.

Conforme indicado para o fármaco, os lipídeos e polímeros devem ser avaliados quanto a critérios de controle e qualidade. A qualidade dos componentes deve estar evidente. Para os lipídeos, esta avaliação deve considerar sua descrição e caracterização com indicação de prova de estrutura, incluindo composição de ácidos graxos, especificidades de posição de cadeias específicas (radicais) e grau de instauração (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2015). Para os polímeros deve haver evidências da estrutura e organização, pureza de síntese e presença de radicais.

Os processos de obtenção e a fonte (natural, sintético ou semissintético) devem estar evidentes. Os processos de obtenção dos polímeros devem ser considerados, bem como os riscos envolvidos no produto final, levando em consideração o método de preparação (SCHAFFAZICK, et al., 2003). No caso daqueles sintéticos ou semissintéticos recomenda-se que esteja clara a descrição dos processos de síntese e purificação, se aplicável, especificações dos materiais de partida, matérias primas, solventes e reagentes; inclusão dos controles aplicáveis das etapas críticas e intermediários, incluindo o posicionamento das cadeias laterais específicas (radicais). Para lipídeos de fonte natural deve-se evidenciar a fonte biológica (por exemplo, ovos), país de origem para fontes animais, fornecedor e, se aplicável, descrição dos processos de extração e purificação. Para os casos de misturas lipídicas de fonte natural (por exemplo, lecitina de ovo) deve ser evidenciada a composição lipídica em faixas de cada componente (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2015).

Para todos os componentes de fonte natural, deve-se evidenciar que estão seguros da eliminação, controle ou inativação de proteínas, vírus ou agentes infecciosos. Os processos devem garantir o controle e eliminação de agentes pirogênicos ou endotoxinas bacterianas (em especial para os casos de formulações finais estéreis) (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2015). A legislação nacional para registro de produtos farmacêuticos já prevê essa necessidade através da solicitação de informações adicionais para o controle da encefalopatia espongiforme transmissível (BRASIL, 2014b).

Determinar os mecanismos (ativos e/ou passivos) de carregamento do fármaco às nanopartículas e definir os mecanismos da interação são importantes para acompanhar variáveis críticas para serem monitoradas durante os processos de obtenção das nanopartículas carregadas. Tão importante quanto a interação e/ou carregamento do fármaco pelas nanopartículas é a etapa de liberação. Procedimento disponível e validado para a avaliação *in vitro* da liberação do fármaco a partir do sistema nanoestruturado. FDA (2015) recomenda que a avaliação da liberação ocorra em meio apropriado – preferencialmente em meio fisiológico simulado ou plasma humano com adequada agitação. Caso o nanomaterial seja extremamente estável no meio fisiológico, o teste pode ser realizado sob condições não fisiológicas para acelerar a liberação do fármaco, entretanto esta relação deve estar clara. Correlações entre as análises *in vitro* de controle de qualidade e desempenho farmacocinético *in vivo* podem facilitar as justificativas de parâmetros de controle adotados (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2015). Em

alguns casos, testes utilizando cultura de célula ou modelos animais podem ser apropriados.

Diferentes perfis de liberação podem ser obtidos. Para exemplificar, Li e colaboradores¹¹ (*apud* Schaffazick, 2003) verificaram que a liberação de proteínas associadas a nanopartículas de PLGA apresentou uma rápida liberação inicial, provavelmente associada a uma fração de proteína adsorvida à superfície da partícula, seguido por uma liberação sustentada atribuída à difusão da proteína através da matriz polimérica e relacionada à erosão. Assim, a definição do perfil de liberação do fármaco deve estar evidente e, preferencialmente, deve haver correlação do perfil de liberação com o perfil fármaco-toxicológico desejado. Os lipossomas, como outro exemplo, devem ser avaliados sob condições simuladas *in vitro*: condição para avaliar a estabilidade do lipossoma quando na circulação, simulação de condições de pH em tecido normal, na região tumoral e intracelular; alterações de condições (por exemplo, temperatura) para verificar a integridade das vesículas, conforme condições recomendadas pela FDA para lipossomas contendo cloridrato de doxorrubicina (**Erro! Fonte de referência não encontrada.8**).

¹¹ Li, Y. P. et al. PEGylated PLGA nanoparticles as protein carriers: synthesis, preparation and biodistribution in rats. J. Controlled Release, v. 71, p. 203-211, 2001.

Tabela 8 - Exemplos de condições simuladas para avaliação do perfil de liberação in vitro de doxorubicina a partir de lipossomas peguilados.

Condição <i>In Vitro</i>	Propósito	Racional
37°C 50% Plasma Humano 24 horas	Avaliar a estabilidade do lipossoma na circulação sanguínea.	Plasma mimetiza condições sanguíneas
37°C pH = 5,5; 6,5 e 7,5 24 horas	Avaliar liberação em meios mimetizados: tecido normal, região tumoral e dentro meio intracelular.	Tecido normal: pH 7,3 Região tumoral: pH 6,6 Intracelular (endosomas e lisossomas): pH 5-6
Variação de temperatura: 43°C, 47°C, 52°C, 57°C pH de 6,5 12 horas ou até liberação total	Avaliar a integridade da bicamada lipídica.	A temperatura de fase de transição T _m é determinada de acordo com características da bicamada lipídica como rigidez, maleabilidade e composição química. Diferenças na liberação em função da temperatura podem indicar pequenas alterações estruturais.
37°C Ultrassom a baixa frequência (20Hz) 2 horas ou até liberação total	Avaliar a morfologia do fármaco encapsulado no lipossoma.	Ultrassom a baixa frequência (20Hz) modifica a estrutura da bicamada formando poros (como defeitos) transitórios na bicamada, permitindo a liberação de fármaco dissolvido dentro do lipossoma (não há liberação de material precipitado).

Fonte: Food and Drug Administration, 2015.

As especificações de controle de qualidade devem estar disponíveis com métodos capazes de diferenciar os materiais desejados de outros similares, capazes de indicar estabilidade e devem ser validados. As impurezas devem ser consideradas. As informações sobre preparação, quantificação e condições de estocagem de cada padrão ou material de referência devem ser indicadas (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2015). Estas considerações devem ser expandidas aos polímeros, sempre que aplicável.

Os materiais devem ser estáveis ou ter suas limitações elucidadas de acordo com os requisitos: temperatura (em condições altas como, por exemplo, 50°C ou baixas em condições de congelamento), luz, pH e oxigênio. O perfil de degradação deve estar claro e deve facilitar o desenvolvimento de métodos indicativos de estabilidade (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2015).

➤ **Outros componentes**

A definição de uma formulação que esteja de acordo com características de desempenho do produto farmacêutico, como atendimento a todos os requisitos terapêuticos, estabilidade e ainda questões de manufaturabilidade, constitui importante fase para a aplicação da abordagem QbD (ADEYEYE, 2008).

Os componentes não lipídicos ou poliméricos presentes para a formação dos nanomateriais (por exemplo, componentes não lipídicos da bicamada, estabilizantes e outros) ou presentes para ajustes das condições ambientais como, por exemplo, crioprotetores ou componentes para ajuste de pH ou mesmo aqueles vinculados a determinadas propriedades (por exemplo, sais utilizados para o carregamento ativo de lipossomas) devem ser caracterizados e quantificados. As faixas de uso também devem ser estabelecidas, sempre com avaliação no impacto aos requisitos de segurança, eficácia e qualidade da preparação.

Deve-se considerar, além das características do produto, as interfaces com a capacidade produtiva (ICH, 2009). Fatores importantes para a produção como avaliação de equipamentos, utilidades disponíveis e processos de transferência do produto no escalonamento devem ser considerados desde as fases iniciais do desenvolvimento (YU, 2008). Em especial para produtos complexos, a avaliação do escalonamento deve ser criteriosa e justificada. Os lipossomas, por exemplo, são sensíveis às mínimas alterações nas condições operacionais, incluindo alterações de escala. Assim devem ser

estabelecidos controles que claramente evidenciem o possível impacto nos atributos críticos na qualidade do produto (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2015).

As operações unitárias devem ser listadas com indicação de fatores considerados para a seleção do processo, indicando propriedades do IFA e principais excipientes, características desejadas do produto, complexidade e robustez do processo, além do conhecimento interno na empresa (JIANG; YU, 2009). Uma descrição detalhada do processo, com indicação de um fluxograma, descrição de cada operação unitária, inclusão de parâmetros com indicação do que é crítico e não crítico para a obtenção do produto final é altamente recomendado (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2015).

Para lipossomas, por exemplo, há parâmetros de processo potencialmente críticos: pressão, temperatura, tempos de espera entre etapas, parâmetros de liofilização, forças de cisalhamento, parâmetros e processos de esterilização e outros. Considerações a respeito de escalonamento devem ser ponderadas e também podem ser críticas. No geral a obtenção de nanopartículas é susceptível a variações no processo e, portanto, deve haver clareza na definição do processo com inclusão de parâmetros críticos. Deve-se estabelecer controles em processo suficientes para acompanhamento e manutenção do processo definido, sempre considerando o conhecimento gerado e o potencial de risco de impacto nos critérios de qualidade do produto acabado (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2015).

Estudos de estabilidade devem ser realizados para o produto acabado para comprovar o atendimento de especificações físicas, químicas e microbiológicas. Tamanho de partícula, potencial zeta, distribuição da massa molar do polímero, teor de fármaco, pH e viscosidade são testes típicos para monitoramento da estabilidade de suspensões coloidais poliméricas (SCHAFFAZICK, et al., 2003; FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2015). No caso de lipossomas também deve ser inserido a verificação de integridade das vesículas, distribuição de tamanho das vesículas, agregação e taxa de liberação do material previamente carregado. A estabilidade química deve ser evidenciada através da verificação de possíveis degradações lipídicas (oxidação de insaturações ou hidrólise lipídica). As condições de uso devem ser desafiadas durante os estudos de estabilidade (por exemplo reconstituições, estocagens, preparações para uso) (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2015). Condições de estresse (térmico, ácido, básico, oxidativo, foto-exposição) são importantes na determinação de mecanismos de degradação e no desenvolvimento e validação de métodos analíticos

indicadores de estabilidade, conforme tradicionalmente é utilizado para avaliação de estabilidade de produtos farmacêuticos.

Não é possível avaliar e estudar todas as características de uma formulação ou parâmetros de um processo, reservando-se àqueles caracterizados como críticos. Mas o que seria um parâmetro crítico? Este questionamento é respondido por Lionberger e colaboradores (2008), que relatam que “é considerado um parâmetro crítico aquele que, se alterado, pode causar falhas no PQAP”. Entretanto, muitas vezes esta correlação de causa e efeito não é tão direta, impactando indiretamente no PQAP.

Uma vez definidos os ACQ do produto, indicação de materiais críticos e levantamento de parâmetros críticos, tem-se o conhecimento do produto em desenvolvimento cada vez mais sedimentado. O conhecimento gerado favorece ações de controle e otimização das condições. Deste conhecimento surge o Controle Estratégico, o próximo passo para uma efetiva implementação das diretrizes QbD.

5.4 Definição do Controle Estratégico

Entende-se Controle Estratégico como o:

Planejamento de controles, derivado do entendimento do produto e processo, que asseguram o desempenho do processo e a qualidade do produto. Estes controles podem incluir parâmetros e características relacionadas ao IFA, a materiais e componentes, a condições operacionais de equipamentos e utilidades, a controles em processo, as especificações de produto acabado e ainda relacionado a métodos e frequências de monitoramento e controle (ICH, 2009).

O Controle Estratégico tem a finalidade de assegurar que a qualidade desejada seja consistentemente obtida durante os processos produtivos. No Controle Estratégico deve-se descrever e justificar controles em processo e controles de materiais de entrada (IFA e excipientes), intermediários (materiais em processo), materiais de embalagem e produto terminado, que contribuam para a obtenção da qualidade previamente definida para o produto. Estes controles baseiam-se no entendimento do produto, formulação e processo e devem incluir, pelo menos, características dos materiais e parâmetros de processo caracterizados como críticos (ICH, 2009).

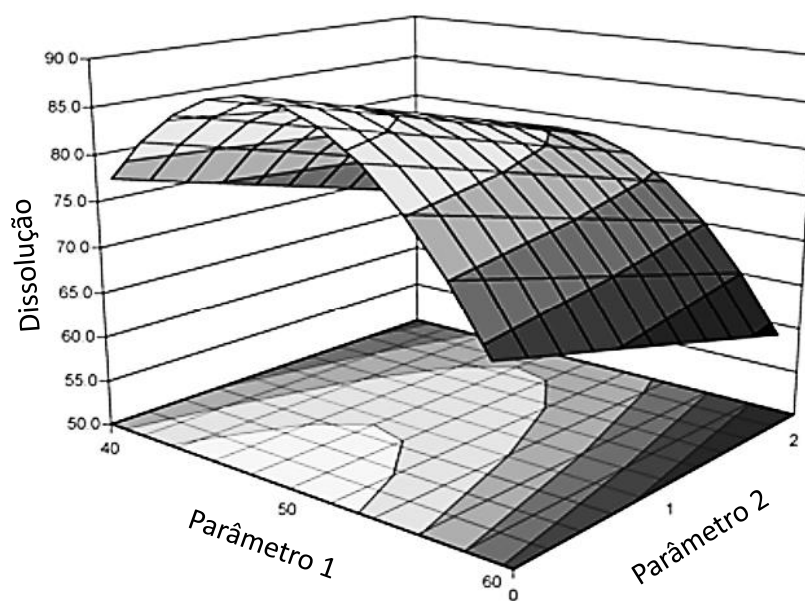
O foco do Controle Estratégico é desenvolver estratégias de controle e conhecimento dos atributos dos materiais, parâmetros de processo ou quaisquer outras

características consideradas, resultado do aprimoramento no entendimento e controle do produto em desenvolvimento.

Os estudos devem ser executados para os atributos críticos dos materiais ou em parâmetros críticos de processos, isolados ou em conjunto, de maneira a evidenciar claramente quais são os limites, intervalos ou distribuição relacionados a cada característica ou parâmetro para assegurar a qualidade desejada. Uma vez definidos os limites seguros e otimizados, os riscos relacionados são reduzidos e tem-se a condição sob controle, visto que os conhecimentos gerados tornam as características otimizadas, indicam a melhor situação do produto em desenvolvimento e podem fornecer embasamento científico para a definição de testes em materiais, controles em processo e especificações.

O uso de planejamentos experimentais facilita a identificação da interação entre as variáveis e o impacto destas nos ACQ. Para fins de exemplificação, considere que avaliações de risco indicaram que dois parâmetros (pode-se considerar, por exemplo, características de excipientes, umidade, tamanho de partícula, parâmetros de compressão) podem afetar diretamente um ACQ de um comprimido (por exemplo, a dissolução). Estes dois parâmetros podem ser testados, em conjunto e isolados, e os impactos na dissolução pode ser indicado, conforme Figura 9.

Figura 9 - Gráfico de superfície para indicar o impacto dos parâmetros 1 e 2 na Dissolução



Fonte: Adaptado de ICH, 2009.

Assim, especificações para matérias-primas, controles em processo e análises de produto acabado são estabelecidas considerando o entendimento de como a formulação e os parâmetros de processo impactam na qualidade do produto. Muitas vezes, controles em processo podem também promover *feedbacks* ao sistema para que a qualidade seja assegurada em tempo real (JIANG; YU, 2009) e podem também ser utilizados consistentemente durante os processos de escalonamento (LIONBERGER et al., 2008).

Outros critérios técnicos podem ser considerados na caracterização do nanomaterial, no delineamento dos atributos críticos e na definição do controle estratégico, conforme indicado no Apêndice A.

5.5 Benefícios e Desafios para a Implementação de QbD

Os processos relacionados à implementação dos conceitos QbD iniciaram-se em diversas partes do mundo e merecem, portanto, espaço para discussões mais aprofundadas dentro das empresas, nas agências reguladoras e nas universidades. Na FDA, as ações foram direcionadas para um novo sistema de avaliação dos medicamentos inovadores. O novo sistema enfatiza a avaliação de aspectos críticos para a qualidade do produto, com forte foco na produção baseada em conhecimento, com integração de processos e o uso de modernas metodologias estatísticas.

Os benefícios com a implementação do QbD ocorrem tanto para os órgãos reguladores como para o setor regulado. Para os reguladores tem-se os seguintes benefícios (RATHORE; WINKLE, 2009; ICH, 2009; FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2009b, 2015):

- a) estruturação do conhecimento para regulação baseado em risco;
- b) maior fundamentação científica para o processo de revisão regulatória;
- c) alinhamento do processo de revisão dentro dos órgãos reguladores;
- d) maior facilidade de avaliação de conformidade e melhoria nas informações submetidas;
- e) avaliação baseada em risco.

Já para o setor regulado são identificados como benefícios (RATHORE; WINKLE, 2009; JIANG; YU, 2009; FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2009b):

- a) estruturação do conhecimento para que o desenvolvimento, em especial de espécies complexas, mantenha-se firme nos perfil alvo e este torne-se um ponto chave para a estruturação e geração do conhecimento relacionado;
- b) maior segurança no desenvolvimento de produtos com redução no número de desvios de fabricação;
- c) redução no número de alterações pós-registro;
- d) maior confiabilidade pelo maior entendimento e redução de riscos envolvidos;
- e) implementação de novas tecnologias com redução de supervisão regulatória;
- f) redução de deficiências e abertura à melhoria contínua.

A implementação de QbD desde etapas iniciais do desenvolvimento é relevante para todas as formas farmacêuticas, mas torna-se ainda mais importante para o desenvolvimento de formas complexas (ICH, 2009, RATHORE; WINKLE, 2009) como é o caso do desenvolvimento de produtos de base nanotecnológica que exigem avaliações aprofundadas e muito bem planejadas.

Korakiantini e Rekkas (2010) consideram que, com a implementação QbD, torna-se mais evidente o conhecimento relacionado e é certa a maior flexibilidade dos processos de transferência de produção entre plantas de fábricas produtivas, requisito imprescindível para tornar as empresas mais competitivas no mundo globalizado e que contribui para o cumprimento de requisitos regulatórios. Os lipossomas, por exemplo, são forma complexas que podem responder às alterações pós-registro de maneira imprevisível (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2015). Assim, o delineamento do conhecimento com indicação de atributos críticos e delineamento de controles estratégicos, facilitam avaliar os impactos e reduzir a necessidade de estudos clínicos frente a ajustes pontuais do processo.

Os benefícios são claros, porém para isso é necessário o investimento de tempo e recursos desde as fases iniciais até o término do projeto de desenvolvimento do produto (RATHORE; WINKLE, 2009). Muitos são os desafios a serem superados para a efetiva

implementação QbD, começando com questões da terminologia adotada, treinamento dentro dos órgãos reguladores e nas empresas, o efetivo trabalho conjunto entre empresas, setor regulador e as universidades (RATHORE; WINKLE, 2009). Outro questionamento é como seria a aplicação deste conceito para produtos já desenvolvidos e disponíveis no mercado conforme indagado por Potter (2009).

Para facilitar esta implementação tem-se adotado a elaboração e divulgação de guias que facilitam o entendimento dos conceitos e aplicações. Este material pode ser utilizado em discussões e treinamentos entre todos os envolvidos na criação do conhecimento relacionado (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2009b, 2012a, 2012b).

5.6 *Quality by Design* e Gestão de Riscos como ferramentas para o Ciclo de Vida de Produtos

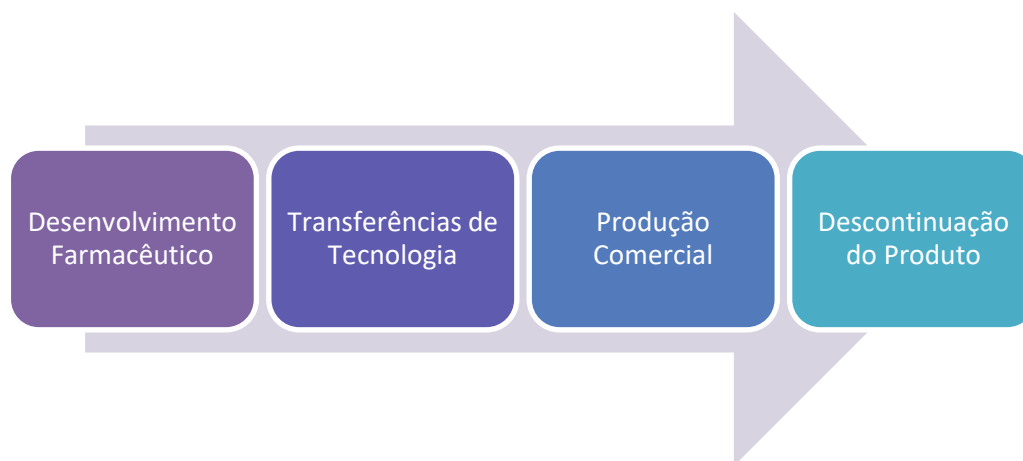
A importância das ferramentas QbD e Gestão de Risco (discutido em detalhe no próximo capítulo), com a construção do PQAP, ACQ do produto e dos materiais, parâmetros críticos e, por fim, a definição de um controle estratégico, não se encerra com o processo de desenvolvimento do produto. As ferramentas de QbD e Gestão de Risco facilitam os processos de supervisão regulatória.

No que diz respeito ao ambiente de supervisão regulatória, o conhecimento gerado facilita a interpretação regulatória no momento do registro e em petições adicionais, em especial para aqueles casos que são solicitadas alterações pós-registro. Alterações em materiais, parâmetros, processos ou outras características que impactem diretamente no PQAP, ACQ e no controle estratégico tornam-se críticas e exigem maiores comprovações por parte dos fabricantes para que sejam aprovadas pelo órgão regulador.

QbD e Gestão de Riscos tornam-se importantes em todo o ciclo de vida do produto que vai desde a ideia inicial até a descontinuação deste produto no mercado. De maneira mais detalhada podemos dizer que o ciclo de vida do produto inicia-se com o desenvolvimento farmacêutico (desenvolvimento de formulações – incluindo embalagens, desenvolvimento do processo, de métodos analíticos e escalonamento), passa pela transferência de tecnologia (transferência de novos produtos durante o desenvolvimento até a fabricação em escala industrial, inclusive entre plantas fabris) e pela produção comercial (aquisição de materiais, instalações, controle e garantia da qualidade, liberação, armazenamento e distribuição) até a descontinuação do produto –

finalização de produção e acompanhamento de reclamações de mercado, inclusive acompanhamento de farmacovigilância (ICH, 2008) – Figura 10.

Figura 10 - Etapas do Ciclo de Vida de Produtos Farmacêuticos



Fonte: Próprio autor.

O conhecimento do produto farmacêutico, desde as etapas iniciais e com o desenrolar da construção da qualidade, é imprescindível para, efetivamente, atender todos os critérios estabelecidos para o sistema da qualidade: alcançar a realização do produto; estabelecer e manter o estado de controle e facilitar a melhoria contínua.

A realização do produto considerando as diretrizes *Quality by Design* fornece conhecimentos para a compreensão do produto e do processo. Neste sentido, estas ferramentas contribuem também para a Gestão do Conhecimento¹², relacionado ao produto e processo, e facilitam todas as etapas posteriores para o efetivo controle e oportunidade de melhoria contínua. Todas as etapas posteriores ao desenvolvimento farmacêutico são afetadas positivamente pela qualidade construída e pelo conhecimento gerado durante o desenvolvimento do produto com as diretrizes *Quality by Design*. O desenvolvimento robusto, cientificamente embasado e com critérios de risco torna mais eficiente os processos de controle e melhoria contínua a que este produto será submetido durante as, prováveis, décadas posteriores de fabricação e disponibilidade no mercado,

¹² Gestão do Conhecimento é uma abordagem sistemática para a aquisição, análise, armazenamento e disseminação de informações relacionadas a produtos, processos de fabricação e componentes. As fontes de conhecimento incluem, mas não estão limitados ao conhecimento prévio (domínio público e documentação interna), estudos de desenvolvimento farmacêutico, atividades de transferência de tecnologia, estudos de validação de processo, experiência de fabricação, inovação, melhoria contínua e atividades de gerenciamento de mudanças (ICH, 2008).

em especial quando se considera produtos complexos como os medicamentos de base nanotecnológica.

5.7 Formulário para incluir *Quality by Design* como uma estratégia de regulação de medicamentos de base nanotecnológica.

Para sedimentar os diferentes aspectos considerados na metodologia QbD, foi elaborado o formulário indicado no Apêndice B. Este formulário representa uma alternativa para implementar a metodologia QbD no desenvolvimento e regulação de medicamentos sujeitos à regulação sanitária. As informações devem ser preenchidas a cada etapa do desenvolvimento e este compilado representa o processo de sedimentação (geração, organização, sustentação e/ou divulgação) do conhecimento.

6 CAPÍTULO IV: UM ENFOQUE DE RISCOS EM NANOMATERIAIS E NANOTECNOLOGIA PARA REGULAÇÃO DE MEDICAMENTOS DE BASE NANOTECNOLÓGICA

As possibilidades obtidas com a nanotecnologia têm trazido uma mudança de paradigma para as agências reguladoras que terá de ser acompanhada de políticas e ações regulatórias. Estas necessidades que já estão sendo discutidas pela FDA (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2007a, 2014a, 2014b) e EMA (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2006), reforçam a necessidade de avaliações caso a caso, com abordagens de avaliação de riscos.

Uma proposta de estrutura regulatória deve basear-se, principalmente, em aspectos técnicos e no gerenciamento de novos riscos associados aos diferentes tipos de nanomateriais e tecnologias presentes em medicamentos de base nanotecnológica. Para tanto, foi realizado estudo das diretrizes de gerenciamento de riscos, direcionado pelo ICH através do guia Q-9. Também foram avaliadas publicações científicas relacionadas ao conceito de risco e aspectos técnico-científicos que poderiam ser utilizados para categorizar os diferentes tipos de nanomateriais e tecnologias. Assim foram detalhados e discutidos dois modelos de riscos já publicados e em seguida foram remodelados e complementados para a elaboração de um algoritmo capaz de responder à necessidade de categorizar os nanomateriais e tecnologias usualmente utilizados no desenvolvimento de medicamentos de base nanotecnológica. Assim, propõe-se uma categorização segundo graus de risco e o fortalecimento técnico para a construção de um ambiente regulatório.

A regulação necessária pode variar de acordo com a cadeia produtiva. Possivelmente existirão cadeias de produção em que a regulação pode não ser ampla e aprofundada, e assim outros fatores de controle podem ser requeridos. Entretanto, na cadeia de produção de medicamentos e cosméticos, provavelmente, os requisitos regulatórios vigentes são capazes de absorver as nanotecnologias (GUTERRES; POHLMANN, 2013), porém devem estar evidentes possíveis riscos adicionais, a partir de categorizações das tecnologias. Neste caminho, segue uma breve apresentação sobre riscos, seguido de discussões sobre a categorização e avaliação de riscos no contexto requerido.

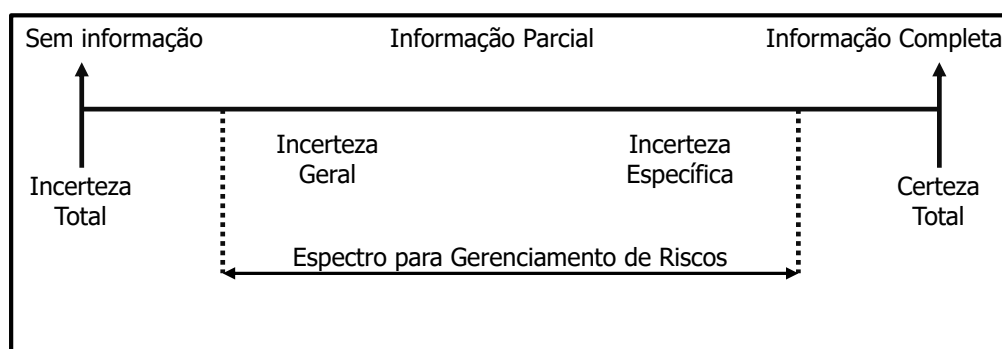
6.1 Gestão de Risco

O termo “risco” tem sua origem em *risicare*, termo do italiano antigo que indica ousar (BERNESTEIN, 1997). No latim as palavras *risicu* e *riscu* indicam incerteza. Neste sentido, o termo risco deve ser interpretado como um conjunto de incertezas, algo intrínseco quando se deseja fazer ou desenvolver qualquer atividade (SALLES JÚNIOR et al., 2007). Risco pode ser entendido como “um evento ou condição de incerteza que, se ocorrer, provocará efeito em pelo menos um objetivo do projeto” (PROJECT MANAGEMENT INSTITUTE, 2008) ou “uma combinação de probabilidade de ocorrência de um dano e a severidade do dano” (ICH, 2005).

A administração do risco apareceu a partir das atividades de previsão e pela necessidade de controlar o futuro, de modo a assegurar a entrega dos resultados da maneira esperada em qualquer projeto (SALLES JÚNIOR et al., 2007). Para atividades de previsão necessitamos de informações em quantidade, qualidade e extensão suficiente para permitirem a avaliação dos riscos.

Em uma situação em que todas as informações necessárias estão disponíveis e há certezas claras, pode-se dizer que não há riscos, uma vez que há conhecimento pleno da situação. Por outro lado, quando não há absolutamente qualquer informação e a incerteza é total, inclusive considerando questões de “não saber que não se sabe”, a avaliação de riscos torna-se difícil. A avaliação de riscos concentra-se na lacuna entre os limites da incerteza geral e específica, em que a informação é parcial e existem dúvidas, um estado de incerteza e com probabilidade de ocorrer riscos (Figura 11) (SALLES JÚNIOR et al., 2007).

Figura 11 - Espectro para Avaliação do Risco



Fonte: Adaptado de Salles Júnior e colaboradores, 2007.

Gerenciar riscos é um processo de identificação, análise, desenvolvimento de respostas e monitoramento dos riscos, cujo objetivo é diminuir a probabilidade e o impacto de eventos negativos e de aumentar a probabilidade e o impacto de eventos positivos ao projeto (PROJECT MANAGEMENT INSTITUTE, 2008). O ICH considera o Gerenciamento de Riscos para a Qualidade como um “processo sistemático para a avaliação, controle, comunicação e revisão de riscos para a qualidade do produto farmacêutico ao longo do ciclo de vida do produto”, que deve ser realizado sempre com profundo conhecimento científico e fundamentalmente ligado com a proteção do paciente (ICH, 2005).

O gerenciamento de riscos é utilizado em muitas áreas de negócios incluindo finanças, segurança no trabalho, seguros, saúde pública, farmacovigilância e mais recentemente nas agências regulatórias. Atividades como o desenvolvimento de produtos devem incorporar os conceitos de Gerenciamento de Riscos para melhor definir e acompanhar as rotinas. As práticas adotadas na área farmacêutica, seja no que diz respeito às agências ou às indústrias, devem sempre primar pela proteção do paciente, ou seja, todo o processo deve ser delineado para que o paciente esteja protegido e os riscos devem ser levantados considerando o impacto do produto no paciente.

A questão: “o que poderia dar errado?”, incluindo a identificação das consequências, torna-se muito útil. Sempre devem ser consideradas experiências, dados históricos, análises teóricas e opiniões dos integrantes envolvidos na avaliação dos riscos (ICH, 2005). A avaliação do risco pode ser vista como um procedimento a ser desenvolvido em três etapas distintas e complementares: identificação, análise e avaliação dos riscos propriamente dito.

O objetivo do processo de identificação dos riscos é gerar uma lista refinada daqueles itens que podem ameaçar ou gerar oportunidades com relação aos objetivos identificados no contexto (SALLES JÚNIOR et al., 2007). A etapa de identificação de riscos deve ser sistemática e bem estruturada, pois alguns riscos são identificados desde as etapas iniciais do projeto (PONTE, 2005), mas novos riscos podem surgir ou se tornar conhecidos com o desenvolvimento do projeto (PROJECT MANAGEMENT INSTITUTE, 2008).

Existem diversas ferramentas para Gerenciamento de Riscos. De maneira geral, associados a uma situação de risco, pelo menos outros dois componentes estão presentes: causa(s) raiz(es) ou fonte(s) do risco, bem como os efeitos (ou danos) gerados pelo risco. Considerando estes componentes, pode-se perceber que a probabilidade do risco está

diretamente associada à(s) causa(s), assim como o impacto está associado ao efeito do risco. Isto significa que as tentativas de gerenciamento de risco visam diminuir ou controlar a probabilidade do risco (ações preventivas) e/ou agir para diminuir o seu impacto (ações de detecção e corretivas) (SALLES JÚNIOR et al., 2007).

A análise envolve o entendimento do risco, produzindo as informações que alimentarão o processo de decisão quanto à estratégia de tratamento mais apropriada. Nesta etapa, devem ser consideradas as fontes do risco (causas), suas consequências positivas ou negativas (efeito) e as expectativas de que os eventos ocorram (probabilidade) (PONTE, 2005). Realizar uma efetiva avaliação de riscos exige robustez de dados. Incertezas são combinações de conhecimento incompleto e variabilidades. Dessa forma, as fontes de incerteza representam lacunas no perfeito entendimento da ciência ou do processo (ICH, 2005).

A avaliação dos riscos utiliza os resultados da análise de riscos para a tomada de decisões sobre ações futuras. Em geral três classes de riscos são formadas:

- I) Riscos aceitáveis: em que riscos são negligenciáveis ou tão pequenos que medidas de tratamento são desnecessárias ou é improvável o emprego de recursos adicionais.
- II) Riscos avaliáveis: neste grupo avaliações de custo-benefício são levados em consideração, e as oportunidades são comparadas com consequências adversas potenciais.
- III) Riscos inaceitáveis: em que os riscos adversos são intoleráveis e medidas para sua redução são essenciais, qualquer que seja o custo para se atingir o nível adequado.

Comparações entre os dados de cada risco potencial com as faixas de riscos previamente definidos formam as saídas do processo de avaliação dos riscos, que pode ser qualitativa ou quantitativa. Os riscos podem ser indicados em alto, médio ou baixo, formando assim a avaliação qualitativa. De modo alternativo, quando expressa quantitativamente, a avaliação dos riscos forma valores que são comparados com faixas previamente definidas. Uma análise quantitativa de riscos é o processo de analisar numericamente os diferentes componentes dos riscos e os valores finais são utilizados para formar um *ranking* para a tomada de ações (ICH, 2005). As duas metodologias, seja qualitativa ou quantitativa, são válidas e agregam alto valor para o processo de Gerenciamento de Riscos. Quando comparadas, a avaliação qualitativa permite maior estratificação, importante em áreas financeiras e seguradoras, e nestes casos, as avaliações

qualitativas podem não responder com a precisão requerida a tomada de decisão. Áreas em que esta estratificação é menos requerida ou quando a gestão de risco está sendo iniciada, o uso de ferramentas qualitativas pode ser mais acertado (DIAS, 2013).

O Controle dos Riscos inclui a decisão de reduzir os riscos identificados inicialmente como altos, bem como compilar as análises de risco-benefício ou ainda aceitar os riscos detectados. O propósito de toda avaliação de riscos é a tomada de ação para reduzir todos os riscos a níveis aceitáveis. O nível dos esforços utilizados para reduzir os riscos deve ser proporcional ao nível de significância do mesmo. As ações para redução de riscos podem ser direcionadas para a probabilidade, com redução ou eliminação de prováveis causas ou podem ser direcionadas para redução do impacto do efeito (ICH, 2005).

Na impossibilidade de se reduzir o nível de risco, pode-se seguir adiante no projeto, mas os cuidados e avaliações nas próximas etapas deve ser compatível com o nível de risco detectado em etapas anteriores. Para estes casos, por mais que se estabeleça o melhor sistema de controle, o risco não é eliminado. Estas situações exigem uma avaliação criteriosa, caso a caso.

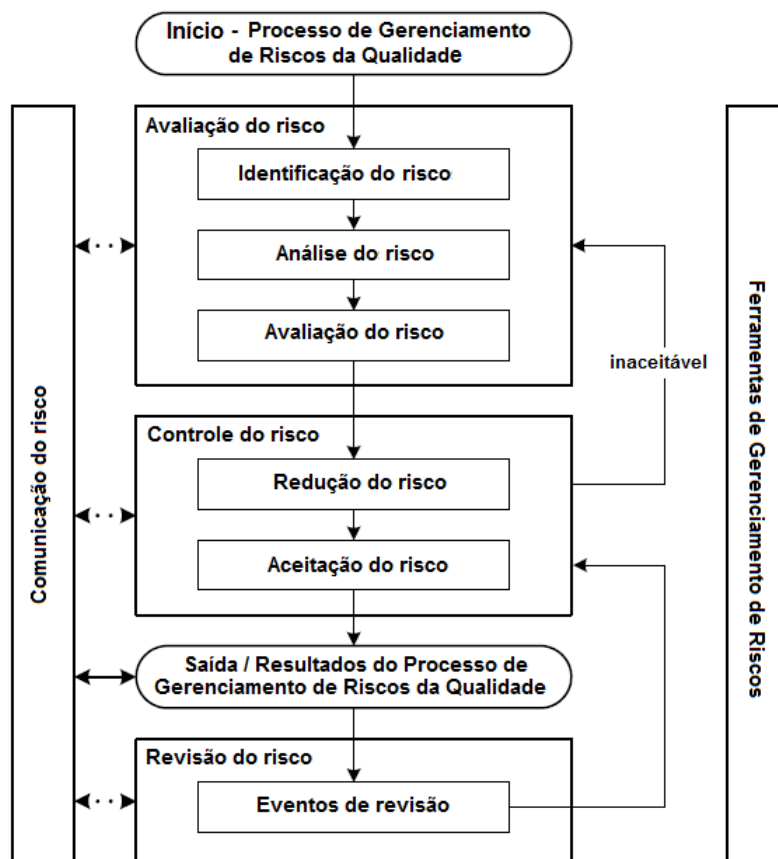
Os documentos e conclusões gerados a partir do gerenciamento de riscos não só oficializam e registram todas as avaliações realizadas, como também funcionam como um meio de comunicação entre os envolvidos e os demais interessados (DIAS, 2013). A comunicação do risco é o compartilhamento de informações sobre os riscos e sobre o gerenciamento dos riscos entre os gestores e os diferentes envolvidos no processo de Gerenciamento de Riscos. As partes envolvidas devem manter comunicação entre si durante qualquer estágio do processo de gerenciamento de riscos (ICH, 2005).

Esta comunicação entre os envolvidos em diferentes estágios do processo é de extrema importância na consolidação de informações referentes aos itens avaliados, aos possíveis riscos discutidos, à criticidade atribuída a cada risco e aos documentos gerados ao final do processo. Dessa forma, a comunicação compreende questões relacionadas ao risco propriamente dito e ao processo para gerenciá-lo. A comunicação relativa a decisões de gerenciamento de riscos também deve ser efetuada através de canais existentes entre setores regulado e regulador.

Todo este processo de Gerenciamento de Riscos é sintetizado na Figura 12, que integra a avaliação, o controle e a constante revisão dos riscos, a cada etapa do projeto. Este conjunto de informações facilitam a intensa comunicação entre os diferentes atores

relacionados aos projetos, internos na empresa (diferentes áreas) ou externos, e a comunicação entre os setores regulado e regulador.

Figura 12 - Processo Gerenciamento de Riscos



Fonte: ICH, 2005.

6.2 O Gerenciamento de Riscos como estratégia regulatória para medicamentos de base nanotecnológica

Frente à diversidade e a complexidade que cerca os nanomateriais, bem como as lacunas de conhecimento, diversos autores iniciaram tentativas de categorizar os nanomateriais em grupos de risco.

O Ministério de Desenvolvimento Industrial e Comércio Exterior promoveu o Fórum de Competitividade em Nanotecnologia, em 2009, que através de um grupo de trabalho propôs uma categorização/classificação qualitativa dos nanomateriais em 7 grupos, organizados em 3 níveis de risco: alto, médio e baixo.

Para esta categorização propõe-se responder às seguintes perguntas:

1. Apresenta propriedades diferentes das que o material tem nas suas formas atômica, molecular ou *bulk*?
2. Contém nanoestruturas menores que 1.000nm?
3. Os nano-objetos são fibrosos ou tem uma dimensão preponderante?
4. Contém nanopartículas insolúveis (biopersistentes) menores que 100nm?
5. Contém nanopartículas solúveis ou lábeis?
6. Os dados existentes comprovam a segurança do uso de nanopartículas solúveis ou lábeis?
7. Contém nanopartículas solúveis ou lábeis menores que 100nm?
8. Os dados existentes comprovam a segurança das substâncias solubilizadas a partir das nanopartículas solúveis ou lábeis?

De acordo com as respostas obtidas tem-se a classificação, segundo definido na Tabela 9:

Tabela 9 - Matriz de Classificação dos Nanomateriais baseado nos 8 questionamentos.

Perguntas:	1	2	3	4	5	6	7	8	Classificação
Respostas:	N	-	-	-	-	-	-	-	Não é nanomaterial.
	S	N	-	-	-	-	-	-	Não é nanomaterial.
	S	S	S	-	-	-	-	-	Nanomaterial I
	S	S	N	S	-	-	-	-	Nanomaterial II
	S	S	N	N	N	-	-	-	Nanomaterial III
	S	S	N	N	S	S	-	-	Nanomaterial IV
	S	S	N	N	S	N	S	-	Nanomaterial V
	S	S	N	N	S	N	N	S	Nanomaterial VI
	S	S	N	N	S	N	N	N	Nanomaterial VII

Legenda: Perguntas anteriores identificadas de 1 a 8. Resposta: N – Não / S – Sim. Fonte: Próprio autor – conceitos adaptados de Guterres e Pohlmann, 2013.

Este grupo de trabalho, a partir dos questionamentos e respostas, propõe um algoritmo que categoriza os nanomateriais I, II e V como de risco potencialmente alto; III e VII como de risco potencialmente moderado e IV e VI como de risco potencialmente baixo, podendo cada um seguir legislação compatível com seu nível de risco (GUTERRES; POHLMANN, 2013).

De acordo com as respostas a cada questionamento formam-se os grupos que são caracterizados na Tabela 10. O compilado apresentado indica que os parâmetros solubilidade/labilidade, tamanho e informações sobre segurança do uso e segurança do material obtido são utilizados para categorizar o risco potencial daquele nanomaterial.

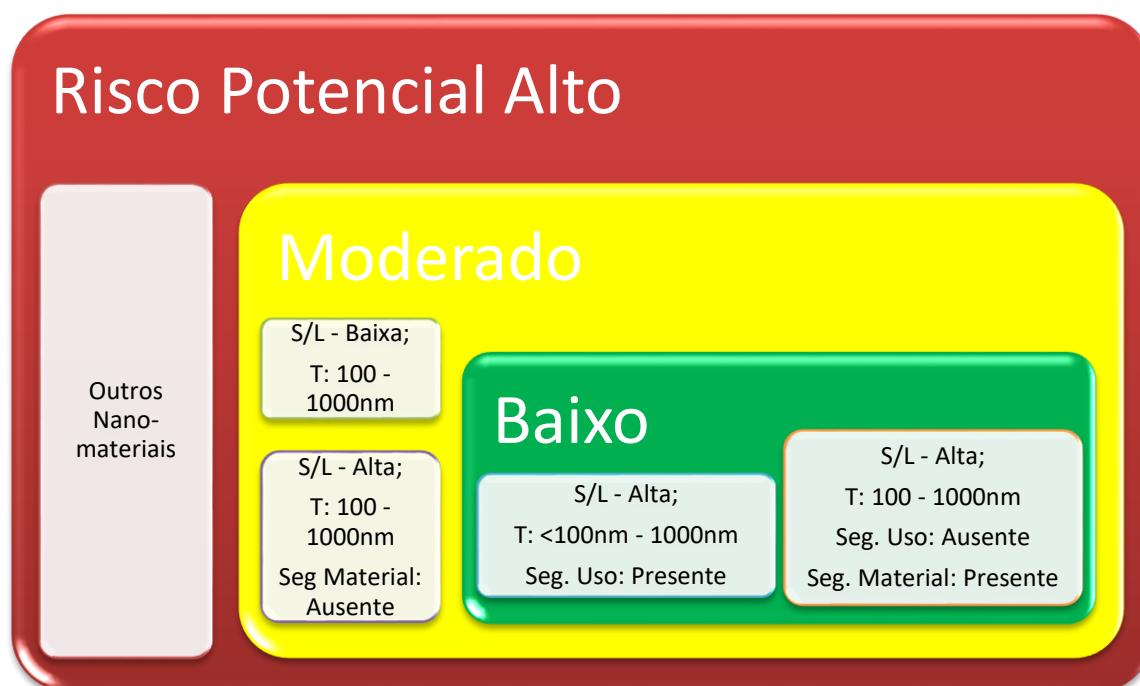
Tabela 10 - Características dos grupos dos nanomateriais e risco potencial definido.

Grupo	Características	Risco Potencial Definido
I	Material é fibroso ou com uma dimensão preponderante: Nanofibra, nanotubo ou nanolâmina	Alto
II	Nanopartícula insolúvel menor que 100nm	Alto
III	Nanopartícula insolúvel ou não lábil entre 100 e 1000nm	Moderado
IV	Nanopartícula solúvel ou lábil e com dados de segurança que comprovam o uso.	Baixo
V	Nanopartícula solúvel ou lábil, menor que 100nm e sem dados de segurança que comprovam o uso	Alto
VI	Nanopartículas solúvel ou lábil, entre 100 e 1000nm, sem dados de segurança que comprovam o uso e com dados de segurança das substâncias obtidas a partir da solubilização.	Baixo
VII	Nanopartículas solúvel ou lábil, entre 100 e 1000nm, sem dados de segurança que comprovam o uso ou sobre as substâncias obtidas a partir da solubilização.	Moderado

Fonte: Próprio autor, baseado nos conceitos utilizados no modelo apresentado por Guterres e Pohlmann, 2013.

O modelo apresentado por Guterres e Pohlmann (2013) apresenta-se como uma boa alternativa para o desenvolvimento de um modelo de análise de riscos. Para uma melhor visualização, esta proposta foi remodelada, para maior ênfase das diretrizes definidas (Figura 13). Verifica-se que todos os nanomateriais são considerados, *a priori*, como de alto risco potencial. Evoluirão para risco potencial baixo aqueles com alta solubilidade/labilidade, em ampla faixa de tamanho (<100nm até 1000nm) com dados de segurança para uso. Aceita-se para mesma classificação a ausência de dados de segurança para uso, desde que esteja na faixa de 100-1000nm e haja dados de segurança do material formado com a solubilização. Neste sentido, a solubilidade/labilidade, com dados de segurança, são fatores primordiais para a definição do potencial de risco reduzido.

Figura 13 - Risco Potencial dos nanomateriais de acordo com suas propriedades



S/L – Solubilidade e Labilidade classificadas como Alta ou Baixa; T: tamanho indicado em faixas; Seg. – Dados de Segurança para Uso ou Dados de Segurança do material obtido a partir da solubilização dos nanomateriais. Fonte: Próprio autor, baseado nos conceitos apresentados por Guterres e Pohlmann, 2013.

Outros autores trabalham com diferentes conceitos. O conceito de nanomateriais “soft” ou “macio” foi inicialmente definido por Pierre-Gilles de Gennes, que recebeu o Prêmio Nobel de Física em 1991, quando realizou estudos de comportamento termodinâmico de cristais líquidos. Para ele, são exemplos de nanomateriais *soft*: cristais líquidos, materiais biológicos (ácidos nucleicos), géis, colóides, espumas, polímeros, agentes tensoativos, micelas, membranas, filmes finos, emulsões e outros. Estes materiais, quando na escala nanométrica, são utilizados em diversas áreas, inclusive na fabricação de medicamentos e cosméticos (NALWA, 2009).

Na área de medicamentos e cosméticos, a maioria dos nanomateriais utilizados enquadram-se neste grupo de nanomateriais “soft” e apresentam alta solubilidade e/ ou alta labilidade. Um lipossoma, por exemplo, mimetiza membranas celulares e é submetido a vias de degradação biológicas, oferecendo menor potencial de risco. Polímeros, em maior ou menor grau, podem ser degradados a partir de mecanismos específicos pelo organismo e, portanto, podem oferecer menor potencial de risco. Entretanto em outras tecnologias, por exemplo aquelas que utilizam metais, ou “hard

nanomaterial”, pode haver dificuldade de eliminação / degradação e, portanto, avaliações a respeito devem ser criteriosas, pois pode haver um potencial de risco alto.

Um sistema de classificação nanotoxicológico (toxicidade de nanopartículas) pode ser utilizado para se definir o nível de risco e assim dar direcionamentos regulatórios. Keck e Müller (2013) propõem uma discussão a respeito do potencial nanotoxicológico de diferentes nanomateriais, com a obtenção de quatro classes variando de risco baixo a alto. Para estes autores, as quatro classes surgem a partir do tamanho das partículas, divididas em dois grupos, com cerca de 100nm e menores de 100nm, e quanto à biodegradação, biodegradáveis ou não biodegradáveis.

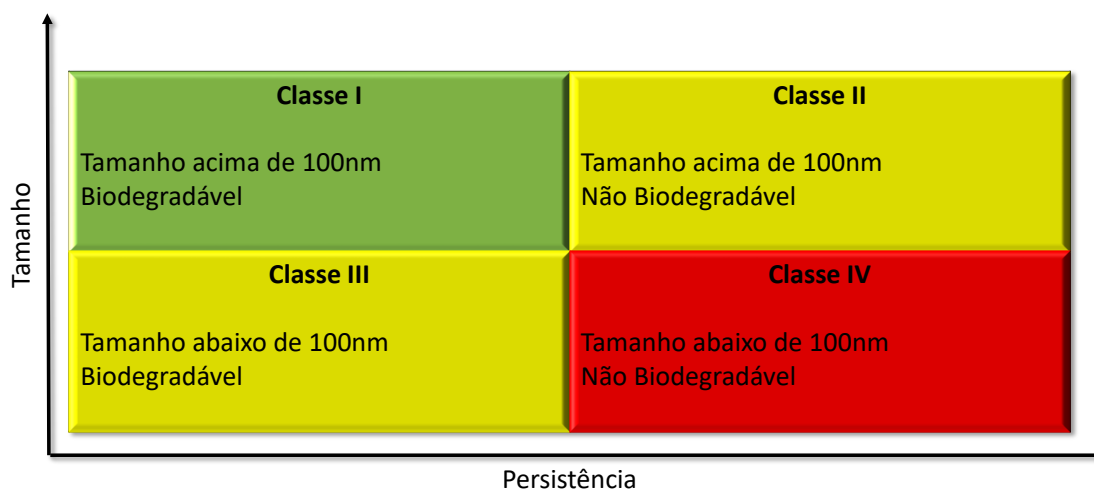
A divisão por tamanho baseia-se em discussões anteriormente apresentadas (Capítulo II), considerando assim a avaliação física das partículas para uma possível classificação do nanomaterial. Reforçando apenas as questões mais relevantes e pertinentes, o termo nanopartículas reflete, por questões conceituais, a uma partícula na escala nanométrica, que pode variar de alguns nanômetros até um pouco abaixo de 1000nm. Entretanto, o limite de 100nm surge a partir do momento que partículas de 100nm ou menores podem ser internalizadas por qualquer célula por processos de endocitose, enquanto que partículas maiores seriam internalizadas apenas por processo de fagocitose reservados, principalmente, para os macrófagos, limitando assim o acesso às células. As partículas de até 100nm podem se distribuir mais facilmente, tornando-se de maior risco. A classificação impositiva de tamanho e como há casos de partículas maiores que podem ser absorvidas por processos de endocitose, tem-se uma fragilidade do modelo (KECK; MÜLLER, 2013).

Outra característica primordial é a biodegradação. No caso dos produtos farmacêuticos, aqueles materiais facilmente degradáveis em situações biológicas podem ser eliminados mais facilmente, tornando-os de menor risco. Materiais não biodegradáveis possuem um risco mais elevado de acúmulo e/ou toxicidade. Os critérios para essa definição de biodegradação, bem como a avaliação do que é formado pela biodegradação, é algo sujeito a questionamentos e deve ser debatido para a consolidação do modelo (KECK; MÜLLER, 2013).

Na proposta defendida por Keck e Müller (2013), as características de tamanho e biodegradação permitem a formação de quatro grupos, conforme indicado na Figura 14. O menor risco é representado pela cor verde, o moderado como amarelo e o maior risco como vermelho. Na Classe I estão aqueles nanomateriais com tamanho entre 100 e 1000 nm e biodegradáveis – de maneira geral estão neste grupo os lipossomas, as

nanopartículas lipídicas e as nanoemulsões. Nas Classes II e III o risco aumenta pela dificuldade de biodegradação (Classe II) ou pela diminuição do tamanho das partículas (Classe III), e os exemplos indicados como de Classe I podem ser reclassificados para estes grupos, caso seja de tamanho reduzido ou com persistência relevante. No grupo de maior risco (Classe IV) estão aquelas partículas reduzidas (menor que 100nm) e não biodegradáveis como, por exemplo, as partículas de dióxido de titânio ou nanopartículas de ouro radioativo.

Figura 14 - Sistema de Classificação Nanotoxicológico



Fonte: Adaptado de Keck e Müller (2013).

Estes critérios devem ser complementados para uma efetiva classificação. Por exemplo, dióxido de titânio tem sido muito utilizado na área cosmética. O nível de risco para este material como um insumo cosmético é significativamente diferente de quando utilizado em medicamentos, em especial, pelo nível de acesso que este nanomaterial terá no organismo. Por exemplo, o nível de risco seria diferente se considerarmos este mesmo nanomaterial em uma preparação para aplicação sobre a pele sadia (por exemplo, como um protetor solar) ou em uma preparação parenteral. Assim para refinar este modelo, Keck e Müller (2013) indicam que avaliações do nível de invasão, representada pela via de administração, devem ser consideradas para esta avaliação de risco. Um material inicialmente classificado como Classe I ainda permanece nesta classificação mas deve receber uma caracterização (indicada por *) para realçar que se trata de um nanomaterial ainda pertencente a Classe I, mas que, por questões de “acessibilidade”, deve receber uma atenção diferenciada.

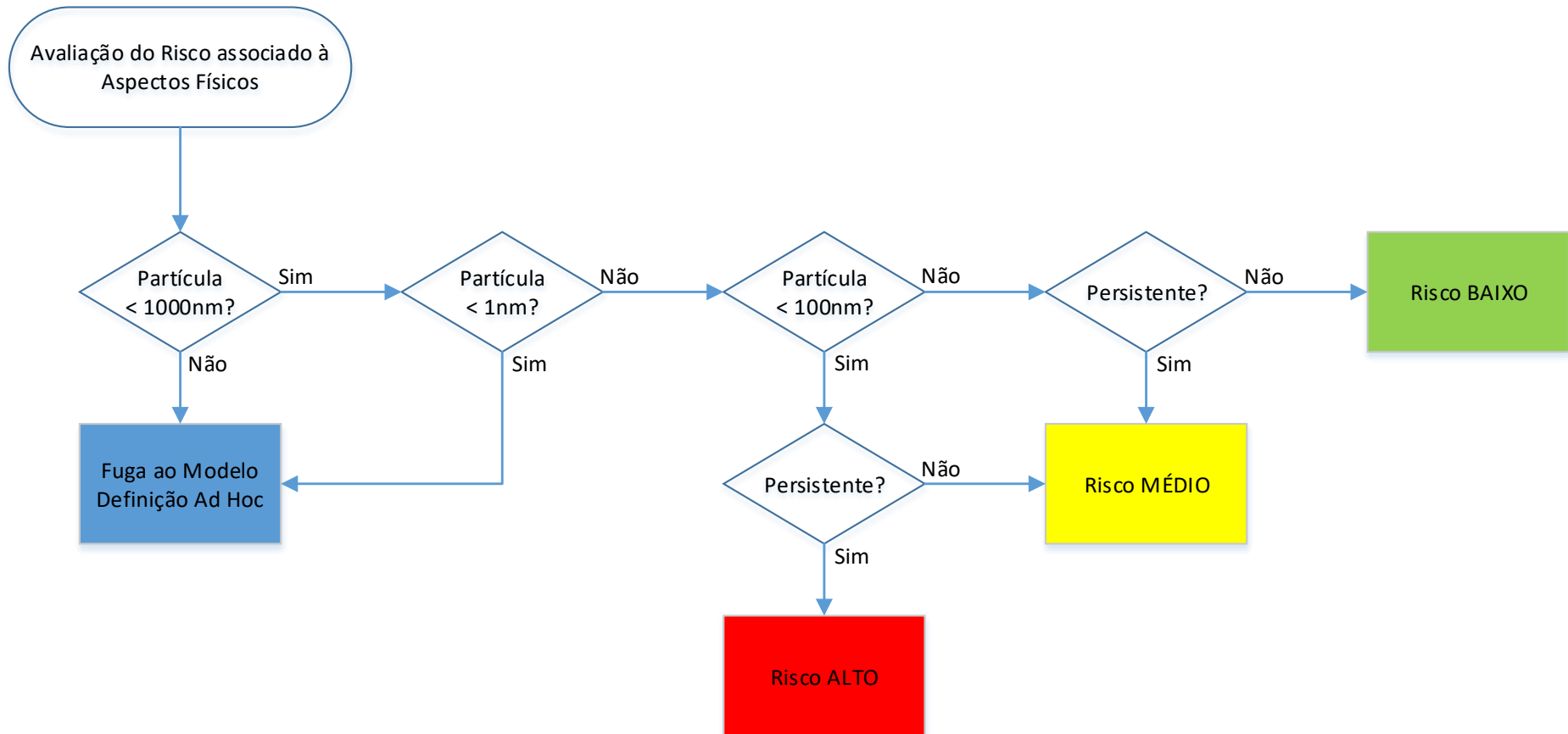
Assim como o nível de acesso é um fator de diferenciação, a biocompatibilidade também deve ser considerada. A biocompatibilidade está relacionada com a capacidade do material de desencadear respostas imunológicas indesejadas. Espera-se que o material desenvolva sua função sem gerar respostas indesejáveis ou negativas para o organismo. Muitas vezes é por características de superfície dos nanomateriais (menos por questões de tamanho) que se desencadeiam respostas indesejáveis, tornando o material não biocompatível. Assim os materiais categorizados como Classe I podem ser subdivididos em dois grupos: Classe I-Biocompatível e Classe I-Não Biocompatível.

Este modelo resulta em oito grupos (cada classe com indicação biocompatível ou não biocompatível), com a possibilidade de inclusão de marcações (*) para os casos que são utilizadas as vias de administração invasivas. Este modelo apresenta características importantes para uma possível intervenção regulatória: é simples, considera diferentes aspectos amplamente reconhecidos como importantes e é facilmente interpretável por especialistas ou não.

Entretanto graficamente, somente as duas primeiras características (tamanho de partícula e biopersistência) foram realçadas para a classificação, embora as outras características (biodisponibilidade e biocompatibilidade) também sejam importantes.

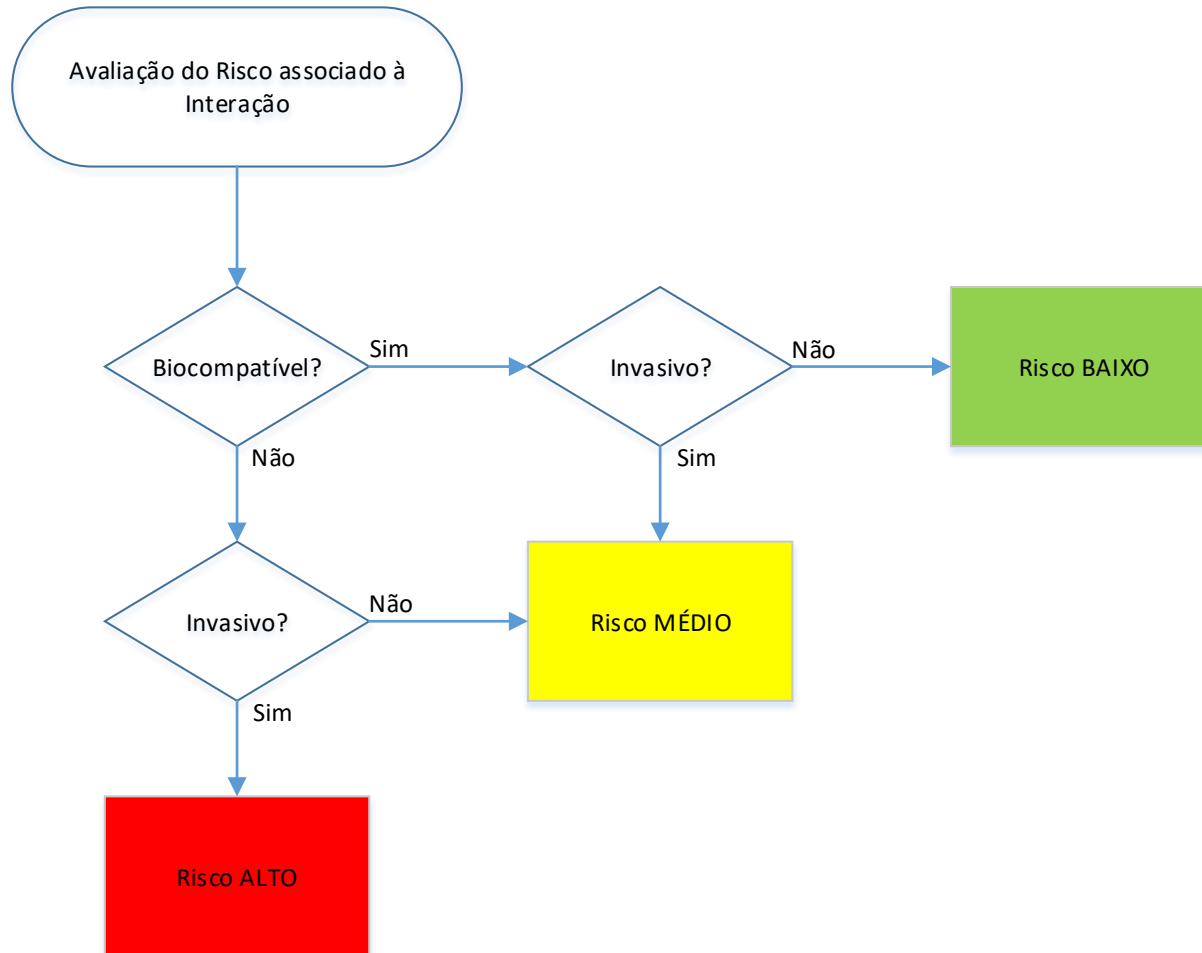
Como releitura do modelo, a avaliação do risco do nanomaterial pode, inicialmente, ser definida pela avaliação física do material, representada por questionamentos a respeito do tamanho das partículas e sobre a biopersistência. Sob a ótica física, os nanomateriais podem ser classificados em três grupos: risco baixo, médio ou alto (Figura 15). Posteriormente, esta avaliação de risco pode ser complementada com uma avaliação da interação com o meio biológico por meio de questionamentos a respeito da biocompatibilidade e do quão invasiva é a via de administração proposta (Figura 16), gerando a classificação também em três grupos: risco baixo, médio ou alto.

Figura 15 - Sistemática de avaliação de risco de nanomateriais e nanotecnologias: avaliação do risco associado aos aspectos físicos



Fonte: Próprio autor.

Figura 16 - Sistemática de avaliação de risco de nanomateriais e nanotecnologias: avaliação do risco associado a interação biológica.



Fonte: Próprio autor

Figura 17 - Sistema de avaliação de risco de nanomateriais e nanotecnologia considerando o uso.

NÍVEL DE RISCO CONSIDERANDO O USO					Aspectos Físicos			
Aspectos de Interação	Riscos Avaliados:	BAIXO	MÉDIO	ALTO				
	BAIXO	Grupo I	Grupo II	Grupo III				
	MÉDIO	Grupo II	Grupo III	Grupo IV				
	ALTO	Grupo III	Grupo IV	Grupo V				

Classificação dos nanomateriais/ nanotecnologias em cinco grupos, representados de I a V, com o nível de risco associado ao uso baixíssimo para Grupo I e altíssimo para Grupo V, formados a partir da integração de riscos associados à aspectos físicos e de interação biológica. Fonte: Próprio autor.

Para a formação de uma avaliação completa, estas avaliações inicialmente realizadas separadamente, devem ser compiladas em conjunto (Figura 17), resultando no Nível de Risco do N&N considerando o Uso – uma avaliação conjunta, que considera aspectos físicos e aspectos relacionados com a interação com o meio biológico. Neste sistema integrado, considerando aspectos físicos e biológicos, foram obtidos 5 grupos (Figura 18):

- Grupo I é resultado de riscos baixos em ambos os aspectos (físico e de interação biológica), gerando um nível de risco caracterizado como “Baixíssimo”.
- Grupo II é resultado de risco baixo para um dos aspectos e médio para o outro, gerando um nível de risco caracterizado como “Baixo”.
- Grupo III é resultado de riscos baixos e altos ou médios para ambos, nas avaliações de aspectos físicos e de interação, gerando um nível de risco caracterizado como “Moderado”.
- Grupo IV estão presentes N&N com riscos médios e altos, para ambas os aspectos (físico e de interação), gerando nível de risco final “Alto”.
- Grupo V concentra N&N com altos riscos nas avaliações de aspectos físicos e de interação, resultando em nível de risco final “Altíssimo”.

Nesta proposta, os N&N do Grupo I não apresentam riscos diferenciados em relação àqueles macromateriais e tecnologias usuais, não requerendo investigações específicas. A medida que os grupos II, III e IV são avaliados, o nível de risco aumenta e aplica-se a investigação específica dos N&N, visto o maior risco envolvido (o maior risco exige avaliações mais criteriosas e direcionadas mas não, necessariamente, inviabilizam o uso do nanomaterial ou da tecnologia envolvida). Já o Grupo V representa o maior risco associado ao uso, em que os N&N resultam em condições mais severas e com maior risco ao paciente (tamanho menor que 100nm, biopersistente, bioincompatível e utiliza de vias invasivas). Esta condição exige uma rigorosa avaliação e todos os riscos devem ser criteriosamente avaliados e mitigados para que o produto disponível esteja compatível com a preservação da segurança do paciente (Figura 18).

Figura 18 - Sistema de Avaliação de Risco de Nanomateriais e Nanotecnologias, com ações a serem adotadas para mitigação e demonstração de segurança, eficácia e qualidade.

Grupos	Nível de Risco associado ao Uso	Ações para demonstrar Segurança, Eficácia e Qualidade
I	Baixíssimo	Não identificados riscos potenciais
II	Baixo	Recomenda-se ações para mitigar riscos potenciais identificados
III	Moderado	Adotar ações para mitigar riscos potenciais identificados, compatível nível de risco indicado
IV	Alto	
V	Altíssimo	

Classificação dos nanomateriais/ nanotecnologias em cinco grupos, representados de I a V, com o nível de risco associado ao uso de baixíssimo (Grupo I) a altíssimo (Grupo V). Fonte: Próprio autor.

Este modelo não nasce pronto e está sujeito a maior consolidação para suprir limitações técnicas que precisam ser extensamente debatidas: “o limite 100nm para definir maior ou menor risco é realmente relevante? Há dados na literatura que indicam que partículas maiores também podem sofrer endocitose. O que é considerado

biopersistente? Manutenção por uma semana, meses ou anos? Não se considera o produto da biodegradação? No que diz respeito aos aspectos de interação, o que é considerado biocompatível? Qual o nível aceitável? Consideradas a curto e/ ou longo prazo? Em tratamento contínuo? Qual o limiar para julgar o nível de invasão da via?”. Estes questionamentos não desabonam o modelo proposto, mas indicam que pontos devem ser aperfeiçoados. Por mais que os fatores sejam claramente definidos, cabe ao setor regulado apresentar o nível de risco percebido, a partir do desenvolvimento do produto e apresentar os argumentos relevantes para caracterizar o nível de risco indicado.

O fator subjetividade não é exclusivo deste modelo proposto, mas está presente nas diversas ferramentas de Gerenciamento de Risco, até aquelas mundialmente já consolidadas. Cabe ao setor regulado definir claramente os critérios utilizados para essa definição e ao setor regulador o bom senso aplicado às boas práticas regulatórias para a avaliação do risco apresentado, sempre centrado nos pilares da segurança do paciente, do embasamento científico e no princípio da precaução.

Os princípios QbD e de Gerenciamento de Riscos, em conjunto, são apresentados como alternativas para a construção de um ambiente para regulação de medicamentos de base nanotecnológica.

7 CAPÍTULO V: APLICAÇÃO DOS MODELOS QbD E GERENCIAMENTO DE RISCOS NO DESENVOLVIMENTO DE UM MEDICAMENTO DE BASE NANOTECNOLÓGICA – ESTUDO DE CASO DOXIL®

As diretrizes técnicas e metodológicas que foram discutidas anteriormente são utilizadas na aplicação de um estudo de caso. Para tanto, foi escolhido um importante medicamento de base nanotecnológica – o Doxil® (doxorubicina lipossomal peguilada), representando o primeiro e, possivelmente, um dos principais medicamentos de base nanotecnológica disponibilizados no mercado e que utiliza uma importante tecnologia: os lipossomas. Para esta avaliação, além dos aspectos discutidos nos capítulos anteriores, foi realizada uma pesquisa direcionada para buscar os principais aspectos técnicos publicados relacionados à qualidade, segurança e eficácia do fármaco (cloridrato de doxorubicina), da tecnologia (lipossomas – vide Apêndice A) e para este produto, já no mercado há longa e objeto de intensa discussão frente às demandas atuais de desenvolvimento de produtos genéricos. Também foram consideradas diretrizes e guias regulatórios relacionados publicados pelas principais agências regulatórias.

Doxil® é um antineoplásico mundialmente estudado que se tornou referência da aplicação da nanotecnologia no desenvolvimento e otimização de produtos farmacêuticos. O conhecimento aprendido com o Doxil®, conforme informações divulgadas pelo principal pesquisador envolvido Dr. Barenholz (2012), serviram de base para o desenvolvimento deste modelo de aplicação de gestão da qualidade e riscos, contribuindo assim para o desenvolvimento de uma ótica inédita utilizando como modelo um produto já desenvolvido com etapas de sucessos e insucessos.

A chegada de lipossomas ao mercado ocorreu nos anos de 1990 e a partir deles foram desenvolvidos uma série de produtos de base nanotecnológica, muitos utilizados para o tratamento do câncer. Na **Erro! Fonte de referência não encontrada.**¹¹ estão indicados alguns dos produtos desenvolvidos que utilizam lipossomas como estratégias para o tratamento de diversos tipos de câncer, todos com o uso de doxorubicina.

Tabela 11 - Produtos lipossomais disponíveis no mercado.

Produto (Fabricante)	Fármaco	Indicação	Ano de Aprovação	Referência
Doxil [®] /Caelyx [®] (Johnson & Johnson)	doxorubicina	Sarcoma de Kaposi Câncer de ovário Câncer de mama	1995 1999 2003	JAMES et al., 1994; MUGGIA et al., 1996; BLADÉ et al., 2011; BARENHOLZ, 2012.
Myocet (Cephalon)	doxorubicina	Câncer de mama (com ciclofosfamida)	2000	BATIST et al., 2001.

Fonte: Adaptado de Allen e Cullis (2013).

Para iniciar este estudo de caso é importante uma contextualização sobre o antineoplásicos com enfoque especial para a doxorrubicina.

7.1 Antineoplásicos e doxorrubicina

Nas últimas décadas os tratamentos relacionados aos cânceres têm ganhado cada vez mais enfoque, visto que este é um problema de saúde pública mundial. Atualmente a definição científica de câncer refere-se ao termo neoplasia, especificamente aos tumores malignos, como sendo uma doença caracterizada pelo crescimento descontrolado de células transformadas. Existem quase 200 tipos de cânceres que correspondem aos vários sistemas de células do corpo, aos quais se diferenciam pela capacidade de invadir tecidos e órgãos, vizinhos ou distantes (ALMEIDA et al., 2005).

Os métodos atuais de tratamento baseiam-se, via de regra, em medidas locais por meio de intervenções cirúrgicas ou radioterapias que, em geral, são eficazes quando o tumor não sofreu metástase. Neste caso, o diagnóstico precoce pode resultar em maior taxa de cura dos pacientes. Entretanto, nas situações em que se iniciaram processos precoces de micrometástase, indica-se a necessidade de uma abordagem sistêmica, como a quimioterapia (quase sempre associada à cirurgia e radiação), para um tratamento eficaz (MURAD; KATZ, 1996; SALMON; SARTORELLI, 2003).

Há grandes esforços no sentido de desenvolver medicamentos e sistemas capazes de combater as células cancerosas. Fármacos e sistemas antineoplásicos ideais devem erradicar as células cancerosas sem prejudicar os tecidos normais. Assim, os agentes disponíveis para uso clínico exigem que os benefícios sejam confrontados com a toxicidade, na procura de um índice terapêutico favorável (SALMON; SARTORELLI, 2003).

Os antineoplásicos são fármacos quase tão heterogêneos, considerando as características químicas e mecanismos farmacológicos, quanto os tumores. Muitos dos agentes eficazes exercem sua função sobre as células que se encontram no ciclo celular¹³, formando o grupo dos fármacos ciclo-específicos (CCS – *cells cycle-specific*). No geral são agentes antimetabólitos (citarabina, fluorouracil, mercaptopurina, metotrexato,

¹³ Entende-se por ciclo celular um conjunto de processos que se passam numa célula viva entre duas divisões celulares. O ciclo celular consiste na intérfase (corresponde ao período entre o final de uma divisão celular e o início da outra - geralmente a célula encontra-se nesta fase durante a maior parte da sua vida) e na fase mitótica (inclui a mitose e a divisão celular) (SALMON; SARTORELLI, 2003).

tioguanina), antibióticos peptídicos, alcaloides de podofilina e alcalóides vegetais (vincristina, vimblastina, paclitaxel). Um segundo grupo de agentes, denominados fármacos ciclo-não-específicos (CCNS – *cells cycle-nonspecific*), tem a capacidade de agir nas células tumorais, independente de estarem atravessando o ciclo ou de estarem em fase de repouso. No geral são agentes alquilantes, antibióticos (daunorrubicina, doxorrubicina, plicamicina, mitomicina), cisplatina e nitrosouréias. Em geral fármacos CCS (específicos) exibem maior eficácia nas neoplasias malignas hematológicas ou outros tumores nos quais há uma proporção relativamente grande de células em proliferação. Já os fármacos CCNS (não específicos), os quais muitos se ligam e lesam o DNA, mostram-se úteis contra tumores sólidos com baixa fração de crescimento (SALMON; SARTORELLI, 2003).

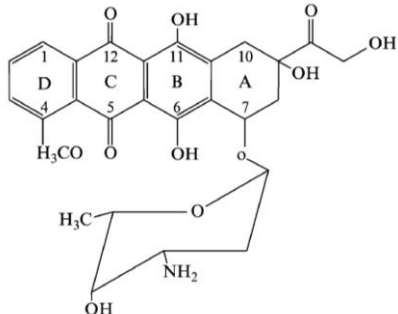
A triagem dos produtos microbianos levou à descoberta de diversos inibidores do crescimento que apresentaram utilidade clínica na quimioterapia do câncer. A doxorrubicina é um dos fármacos mais representativos do grupo das antraciclinas e foi isolada de *Streptomyces peucetius* var. *caesius* (SALMON; SARTORELLI, 2003; ABRAHAM et al., 2005).

Doxorrubicina foi introduzida nos anos de 1970 e desde então está entre os fármacos mais utilizados para o tratamento de vários tipos de câncer (ABRAHAM et al., 2005). O fármaco doxorrubicina na forma de cloridrato (DOX) é indicado no tratamento das neoplasias como carcinoma da mama, pulmão, bexiga, tireoide e também carcinoma ovariano, sarcomas ósseos e dos tecidos moles, linfomas, neuroblastoma, leucemia linfoblástica aguda e leucemia mieloblástica aguda. DOX tem proporcionado resultados positivos nos tumores superficiais da bexiga por administração intravesical após ressecção transuretral. Outros tumores sólidos têm respondido também, mas o estudo destes, até o presente momento, é muito limitado para justificar indicações específicas (GLENMARK, 2016).

DOX (Tabela 12) apresenta-se como pó cristalino higroscópico, na forma de finas agulhas de cor laranja a vermelho. É uma molécula anfipática e possui uma aglicona, insolúvel em água ($C_{21}H_{18}O_9$) e um radical amino-açúcar solúvel em água ($C_6H_{13}NO_3$). Apresenta três valores de pKa que estão associados a: (1) grupo amino do radical açúcar

$pK_1 = 8,15$); (2) grupo fenólico do C_{11} ($pK_2 = 10,16$) e (3) um grupo fenólico do C_6 ($pK_3 = 13,2$) (BOUNA et al., 1986¹⁴; FIALLO et al., 1998¹⁵ *apud* ABRAHAM et al., 2005).

Tabela 12 - Dados técnicos – cloridrato de doxorrubicina

Fórmula estrutural	
Fórmula molecular	$C_{27}H_{29}NO_{11}.HCl$
Peso molecular	579,99
Número CAS	25316-40-9

Fonte: Adaptado de United States Pharmacopeia, 2009.

DOX está disponível no mercado na forma de pó liófilo nas concentrações de 10 e 50mg/frasco ampola (GLENMARK, 2016). O mecanismo de ação da DOX ainda não está totalmente elucidado. Sabe-se que as moléculas se intercalam entre pares de bases de DNA resultando na inibição da síntese de DNA e RNA (DNA dependente) promovendo uma desordem e obstrução estérica. A intercalação leva a ruptura de filamentos individuais e duplos do DNA, bem como troca de cromátides irmãs (ABRAHAM et al., 2005). As propriedades citotóxicas parecem estar relacionadas com a intercalação nas bases nucleotídicas e à capacidade da DOX em se ligar à membrana celular lipídica e afetar uma variedade de funções celulares. A interação com a topoisomerase-II para formar complexos de DNA passíveis de clivagem parece ser um importante mecanismo da atividade citocida do fármaco. A reação enzimática envolvendo uma série de oxidases, redutases e desidrogenases dá origem a espécies altamente reativas do radical livre

¹⁴ Bouma, J., Beijnen, J. H., Bult, A., and Underberg, W. J. (1986). Anthracycline antitumour agents. A review of physicochemical, analytical and stability properties. *Pharm. Weekbl. Sci.* 8, 109.

¹⁵ Fiallo, M. M., Tayeb, H., Suarato, A., and Garnier-Suillerot, A. (1998). Circular dichroism studies on anthracycline antitumor compounds. Relationship between the molecular structure and the spectroscopic data. *J. Pharm. Sci.* 87, 967–975.

hidroxila. As células tratadas com DOX manifestaram alterações nas características morfológicas associadas à apoptose ou morte celular programada. A apoptose induzida pode ser mais um componente no mecanismo de ação celular relacionado ao efeito terapêutico, mas também relacionado à toxicidade para este agente farmacológico (HORTOBAGYI, 1997; ABRAHAM et al., 2005; GLENMARK, 2016).

Sobre a toxicidade, vários mecanismos têm sido sugeridos para explicar a fisiopatologia da cardiotoxicidade induzida, embora não estejam claramente identificados os motivos de afetar, especialmente, cardiomiócitos. Os principais processos propostos incluem a peroxidação lipídica e o *stress* oxidativo. Razões estas vinculadas aos próprios mecanismos de ação propostos para esta classe de fármacos, que envolvem o comprometimento de síntese de DNA, RNA, proteínas e interação com membranas. A formação de radicais livres implica na cardiotoxicidade da DOX, devido à redução do Cobre II e do Ferro III na célula. A cardiotoxicidade é um risco do tratamento com antraciclinas que pode se manifestar por eventos agudos ou tardios (retardados). A cardiotoxicidade presente nos eventos agudos é constituída, principalmente, por taquicardia sinusal e/ou anormalidades eletrocardiográficas, como alterações não-específicas de ondas ST-T. Taquiarritmias, incluindo contrações ventriculares prematuras, taquicardia ventricular e bradicardia, assim como bloqueios atrioventriculares e de ramo também foram relatados. Geralmente, esses efeitos não predizem desenvolvimento subsequente de cardiotoxicidade tardia, e são raramente de importância clínica, não devendo ser, geralmente, considerados para a interrupção do tratamento com DOX. Já nos eventos retardados, no curso da terapia ou dentro de dois ou três meses, ou mesmo anos após o término do tratamento, desenvolve-se a cardiomiopatia tardia que se manifesta pela redução da fração de ejeção do ventrículo esquerdo e/ou por sinais e sintomas de insuficiência cardíaca congestiva (ICC), tais como dispneia, edema pulmonar, edema de membros inferiores, cardiomegalia, hepatomegalia, oligúria, ascite, efusão pleural e ritmo de galope. Efeitos subagudos como pericardite e miocardite também foram relatados (ALBINI et al., 2010; RASCHI; VASINA; URSINO, 2010; GLENMARK, 2016). Dados clínicos e experimentais sugerem indução à morte nas células cardíacas por apoptose ou necrose após exposição às antraciclinas. Dada a capacidade limitada de regeneração do músculo cardíaco, a redução cumulativa promove uma remodelagem ventricular (SAWYER et al., 2010; ADÃO et al., 2013).

Foi definido que ICC com risco de morte é a forma mais grave de cardiomiopatia induzida por antraciclina e representa a toxicidade cumulativa limitante da dose do

fármaco. A função cardíaca deve ser avaliada antes do paciente ser submetido ao tratamento com DOX e deve ser monitorada durante a terapia para minimizar o risco de insuficiência cardíaca grave. A probabilidade de ocorrência de ICC, estimada por volta de 1 a 2% em doses cumulativas de 300 mg/m², aumenta lentamente até a dose cumulativa total de 450 a 550 mg/m². A partir desse ponto, o risco de ocorrência de ICC aumenta agudamente, sendo recomendado que não se exceda uma dose cumulativa máxima de 550 mg/m² (GLENMARK, 2016).

A preocupação gerada na comunidade médica em torno da cardiotoxicidade ainda limita a utilização da DOX. A progressão e o grau de cardiotoxicidade inerente ao uso dos antraciclina são variáveis entre os indivíduos, provavelmente pela presença de diversos fatores de risco que estão descritos na **Erro! Fonte de referência não encontrada**.¹³, bem como pela predisposição genética (RASCHI; VASINA; URSINO, 2010; ADÃO et al., 2013).

Tabela 13 - Fatores de Risco associados à cardiotoxicidade das antraciclina

Fatores de Risco	Risco Aumentado
Idade	Menor idade
Gênero	Feminino
Administração	Intravenosa rápida
Dose cumulativa	Excedendo a dose de 400-550mg/m ²
Doenças cardiovasculares	Hipertensão arterial, doença coronária.
Distúrbios eletrolíticos	Hipocalcemia, hipomagnesemia.

Fonte: Adaptado de Raschi, Vasina e Ursino (2010); Adão e colaboradores (2013).

7.2 Doxorubicina lipossomal peguilada – conceitos QbD

O foco inicial no desenvolvimento deste produto farmacêutico era de se usufruir dos benefícios farmacológicos conhecidos da DOX com redução de efeitos toxicológicos, em especial, cardiotóxicos típicos das antraciclina. Isso poderia ser obtido pela inclusão em lipossomas, resultando em aprimoramento terapêutico pela proteção de moléculas de DOX. Este processo de desenvolvimento resultou na doxorubicina lipossomal peguilada que recebeu o nome comercial Doxil[®] no registro junto a FDA, nos Estados Unidos, e o nome de Caelyx[®] nos registros junto às agências europeias e do Canadá. Doxil[®] foi o primeiro medicamento claramente classificado como nanotecnológico disponibilizado no mercado norte americano, com a aprovação pela FDA em 1995. Este produto foi

desenvolvido a partir de pesquisas, com sucessos e insucessos, o que levou à consolidação do conhecimento gerado a cada etapa.

Neste sentido, a aplicação da ferramenta QbD deve ocorrer desde as etapas iniciais do desenvolvimento. Assim, o desenvolvimento de um produto farmacêutico representa uma importante oportunidade de se adquirir, organizar, sustentar e divulgar o conhecimento, em especial por meio de abordagens científicas e de risco para projetos de alta complexidade (DIAS, 2013). Na primeira etapa da aplicação de QbD, o PQAP deve ser definido. Conforme as diretrizes, o PQAP deve ser elaborado considerando o conhecimento existente segundo os critérios de eficácia, segurança e qualidade.

Como eficácia, entende-se o conhecimento sedimentado que de DOX livre apresenta ações antineoplásicas, com evidências de interação na síntese de DNA, RNA, interação com membranas e estresse oxidativo (com formação de radicais livres) como mecanismos de ação.

Em relação à segurança, DOX livre distribui-se livremente no organismo e assim, apresenta significativa cardiotoxicidade, cuja fisiopatologia sugerida inclui a peroxidação lipídica e o estresse oxidativo, com morte induzida por apoptose ou necrose, com atenção especial para o músculo cardíaco que apresenta limitada regeneração, gerando redução cumulativa, remodelagem ventricular e insuficiência cardíaca congestiva. Compartmentalizar DOX apresenta-se como uma estratégia para aumentar segurança (redução da toxicidade) e possibilidade de uso doses maiores na terapêutica (com consequente aumento de eficácia).

Quanto à qualidade, procura-se desenvolver um produto estável, em conformidade com demandas regulatórias vigentes, seguro e escalonável e que atenda aos critérios de qualidade relacionados à produção de medicamentos injetáveis.

Assim, com estas diretrizes iniciais, pode ser traçado o seguinte PQAP:

- i) Descrição: DOX lipossomal – moléculas de DOX protegidas em lipossomas para atingirem regiões tumorais.
- ii) Indicação e Uso: antineoplásico (instruções de uso típicas da DOX).
- iii) Toxicidade: reduzida em comparação com DOX livre – proteção das moléculas de DOX em lipossomas – redução da toxicidade, redução da ampla distribuição (inclusive tecidos saudáveis) e possibilidade de uso de doses mais elevadas para tratamento.
- iv) Eficácia: possibilidade de uso de doses mais elevadas na terapêutica.

v) Tecnologia: Obtenção de lipossomas contendo DOX.

Considerando estes aspectos, foram desenvolvidos lipossomas oligolamelares médios, por meio da hidratação de fosfolípides, fosfatidilcolina de ovo, fosfatidilglicerol carregado negativamente e colesterol, com carregamento/ incorporação passivo do fármaco, em conformidade com este PQAP ora definido. Para evidenciar se os objetivos inicialmente traçados no PQAP foram atingidos, o material obtido foi submetido a estudos clínicos. Esta primeira geração de lipossomas gerou resultados um tanto desanimadores, visto que os resultados demonstravam claramente que o *clearance*, era significativo e baseado em dois processos principais (BARENHOLZ, 2012):

- i) Lipossomas eram reconhecidos pelo sistema fagocitário mononuclear e, assim, rapidamente removidos de circulação (predominantemente no fígado e baço), ou seja, a tecnologia não favoreceu o acúmulo em regiões tumorais quando não localizadas no fígado e baço;
- ii) DOX era rapidamente liberada dos lipossomas no plasma. Os resultados de toxicidade foram semelhantes aos obtidos com administração de DOX livre, ou seja, os propósitos definidos não foram obtidos.

Este “insucesso” indicou pontos importantes para se considerar na construção da qualidade e do conhecimento para este produto. Ficou evidente que a preparação inicialmente proposta não era adequada para se seguir com o desenvolvimento e, a partir desses resultados, surgiram assim os primeiros Atributos Críticos à Qualidade deste produto em desenvolvimento, para amadurecimento do PQAP.

A rápida e precoce liberação da DOX, tão logo os lipossomas alcançaram o plasma, possivelmente, ocorreu devido à localização do fármaco nas duplas camadas lipídicas (GOREN, GABIZON e BARENHOLZ, 1990; GOREN, 1990¹⁶ *apud* BARENHOLZ, 2012). Além disso, a liberação rápida está também, possivelmente, associada a um maior volume de plasma a que estas estruturas foram submetidas no ensaio clínico em comparação com ensaios em animais. A preparação no estudo em humanos foi submetida a maior diluição (diluição de 3500 vezes quando considerado o volume da preparação e o volume de plasma humano), quando comparado com os estudos

¹⁶ Goren, D. Liposomes as doxorubicin carriers: a means to improve the therapeutic index of the drug, in: PhD Thesis, Hebrew University of Jerusalem, Israel, 1990.

em camundongos (diluição de apenas 5 vezes quando comparado o volume da preparação em comparação e o volume de plasma dos camundongos) (BARENHOLZ, 2001, 2003). Outra questão que, possivelmente, gerou impacto negativo nesta triagem inicial é o tamanho dos lipossomas, sendo maiores que os poros dos vasos próximos às regiões tumorais, estando em desacordo para se usufruir dos efeitos EPR (BARENHOLZ, 2012).

Embora hoje estejam evidentes os impactos e estratégias para se usufruir do efeito EPR, este foi relatado pela primeira vez por Matsumura e Maeda (1986), ou seja, na ocasião não estava tão evidente este conhecimento e era mais um ponto a ser construído.

A comunidade científica tornou-se desacreditada de que sistemas lipossomais poderiam resultar em uma aplicação clínica viável para a liberação de fármacos (POSTE, 1983). Em 1987, era evidente que aquela formulação não se tornaria um produto viável (BARENHOLZ, 2012).

Estes resultados iniciais mostraram claramente que na aplicação de *Quality by Design* para produtos inovadores, em especial quando se trabalha com produtos e tecnologias complexas, o PQAP não é algo evidente, mas algo que deve ser construído à medida que o conhecimento relacionado aos produtos e às tecnologias evoluem para além das fronteiras do conhecimento.

Características que posteriormente foram avaliadas como críticas não foram levadas em consideração na primeira etapa e os resultados clínicos indicaram que os sistemas não foram capazes de aprimorar a segurança e eficácia já obtida com a DOX livre. Entretanto, este insucesso contribuiu para amadurecer o PQAP com a inclusão de características relevantes ao desenvolvimento deste produto. Outros aspectos críticos, com impactos diretos à eficácia, segurança e qualidade do produto passaram então a integrar o PQAP, com a sedimentação do conhecimento. Este PQAP, por não utilizar de características amplamente conhecidas ou triviais, deve ser construído ao longo da pesquisa e do desenvolvimento do produto.

A partir do “insucesso” obtido com o desenvolvimento da primeira geração dos lipossomas contendo DOX, iniciou-se uma pesquisa com uma formulação alternativa (BARENHOLZ, 2012) mantendo o foco nos objetivos previamente definidos. Este conjunto de informações de insucesso serviram para trilhar as próximas etapas da pesquisa e aperfeiçoar o desenvolvimento do produto.

Esta nova formulação deveria apresentar-se em tamanho na nanoescala (preferencialmente em torno de 100 nm) para usufruir do efeito EPR. Os lipossomas carregados com DOX deveriam conter alta dose do fármaco, pois o tratamento de DOX

livre por via endovenosa, na rotina, é de 10 a 50mg/m² (FANG; NAKAMURA; MAEDA et al., 2011; BARENHOLZ, 2012; GLENMARK, 2016). Isto exigiria o emprego de vias de carregamento / incorporação ativo, visto que por meios passivos seria difícil e, mesmo ocorrendo, poderia causar acúmulo nas membranas, com consequente rápida liberação, comprometendo o PQAP. Vias ativas poderiam gerar o acúmulo no interior do lipossoma e assim, reduzir a liberação imediata do fármaco.

As propriedades farmacocinéticas e de biodistribuição deveriam ser direcionadas pela estrutura lipossomal e não diretamente pela DOX. Para isso, a taxa de liberação do fármaco no plasma deveria ser a menor possível, com lipossomas circulando por prolongado período e consequente acúmulo na região tumoral. Por fim, a DOX deveria estar disponível para as células tumorais, seja por liberação do fármaco na região tumoral, seja pela internalização das nanoestruturas pelas células tumorais (BARENHOLZ, 2007; 2012). Na Figura 19 são descritas as características que foram consideradas para a obtenção da DOX lipossomal. Estes atributos aperfeiçoam os PQAP e representam ACQ.

Figura 19 - Compilado das características a serem continuamente consideradas para a obtenção de DOX Lipossomal que responda aos insucessos clínicos primários

Quantidade de DOX carregada	Tempo de Circulação dos Lipossomas	Liberação do Fármaco na região tumoral
Quantidade suficiente, incorporada e mantida DOX no interior dos lipossomas para atingir a região tumoral com quantidade terapeuticamente viável do fármaco	Aumento do tempo de circulação plasmática da DOX lipossomal para que as nanoestruturas possam atingir a região tumoral	Liberação do fármaco no tecido tumoral (extravasamento e/ou internalização de nanoestruturas).

Fonte: Próprio autor.

Com isso, o PQAP passava por uma etapa de amadurecimento / consolidação, com a inclusão de características críticas relacionadas com o desempenho do produto:

- i) Descrição: DOX lipossomal peguilada – moléculas de DOX protegidas em estruturas lipossômicas furtivas, com tamanho adequado para atingirem regiões tumorais.

- ii) Indicação e uso: antineoplásico (instruções de uso típicas da DOX).
- iii) Toxicidade: reduzida em comparação com DOX livre – proteção das moléculas de DOX em estruturas lipossômicas furtivas, dificultando a ampla distribuição (inclusive para tecidos sadios e cardiomiócitos).
- iv) Eficácia: possibilidade de doses mais elevadas.
- v) Tecnologia: Obtenção de lipossomas peguilados contendo DOX ativamente carregada, em quantidade suficiente, incorporada e mantida, com liberação na região tumoral.

A quantidade requerida de DOX para ser incorporada (aproximadamente 50mg/m²) no diminuto volume dos lipossomas (vesículas de aproximadamente 100nm) tornaram-se um grande desafio. Barenholz (2012) indica que Deamer e colaboradores, em 1972, foram os primeiros a discutir o carregamento ativo de bases fracas anfifílicas por gradiente de pH. Posteriormente Cullins e colaboradores, em 1990, incorporaram anfotericina B em vesículas unilamelares. Trabalhos de carregamento/incorporação de DOX por gradiente de pH resultaram no desenvolvimento do Myocet[®] (BARENHOLZ, 2012), cuja composição é de fosfatidilcolina de ovo e colesterol, na proporção de 55:45 (ABRAHAM et al., 2005).

Para o Doxil[®] foi utilizada a incorporação por gradiente de sulfato de amônio, em que a concentração deste sal intralipossômico é maior que na parte externa, tornando a força propulsora / motriz para o eficiente e estável carregamento de DOX no lipossoma. O mecanismo deste carregamento baseia-se nesta diferença de concentração, já que o grau de ionização do sulfato de amônio é dependente do pH e a forma ionizada (íon amônio) apresenta coeficientes de permeabilidade e de partição óleo/tampão muito baixos, resultado em baixíssima capacidade de transpor a bicamada lipídica. Já a forma não ionizada (amônia) apresenta coeficientes de permeabilidade e de partição óleo/tampão altos, resultando em habilidade de circular pela bicamada com facilidade. A diferença no coeficiente de permeabilidade da amônia (10⁻¹cm/s) e do sulfato (>10⁻¹²cm/s) garante a saída da amônia do lipossoma e a permanência do sulfato, enquanto a diferença intra e extra lipossômica dos íons resulta em trocas com as bases anfifílicas fracas. Sendo a concentração de íons H⁺ intralipossômica muito maior que a extralipossômica, a presença de contra-íons específicos (sulfato) pode favorecer processos de precipitação das bases anfifílicas fracas internas, pela formação de sais insolúveis. Assim, a formação de sulfato de doxorubicina resulta em baixa solubilidade, gerando precipitação e redução de

pressão osmótica interna. Com a precipitação, tem-se uma assimetria em que as moléculas entram no lipossoma mais facilmente do que saem (BARENHOLZ, 2001; 2007).

Sob a ótica química, no meio interno, a alta concentração de sulfato de amônio resulta na dissociação do sal nos íons amônio e sulfato (Equação 2). O íon amônio apresenta baixa permeabilidade pela camada lipídica, mas ao se dissociar em amônia, esta apresenta alta permeabilidade (Equação 3) e pode facilmente sair do lipossoma.



No meio externo, a amônia se associa com duas moléculas de DOX (Equação 4). Após a formação, em pH adequado, a forma não iônica tem alta permeabilidade (Equação 5) e entra livremente para o lipossoma.



Novamente, avaliando a condição intra-lipossômica, a molécula formada liga-se ao sulfato (em alta concentração) formando um sal que precipita (Equação 6), dificultando a saída e favorecendo a entrada de mais moléculas. A livre circulação da amônia favorece a captura de moléculas de DOX que ao entrar no lipossoma precipita, gerando o acúmulo interno, base para o carregamento ativo (Figura 20). Barenholz (2012) afirma que o carregamento ocorre na ordem de 90%, obtendo a concentração requerida para o efetivo desempenho terapêutico.

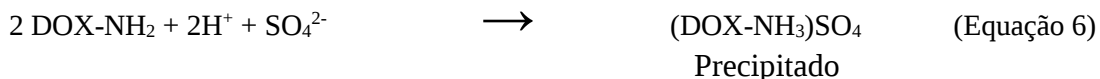
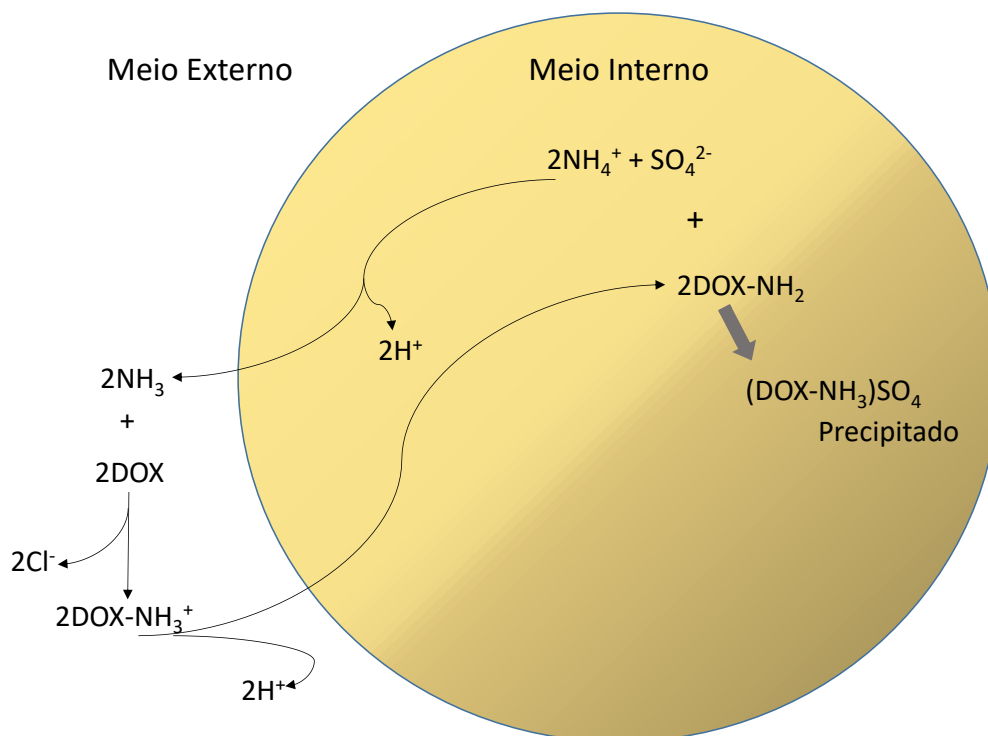


Figura 20 - Representação esquemática simplificada da movimentação para carregamento ativo de DOX nos lipossomas



Formação e movimento de NH_3 do meio interno aquoso para meio externo. Formação e movimento de DOX-NH_2 do meio externo para meio interno. Formação, precipitação e acúmulo de $(\text{DOX-NH}_3)\text{SO}_4$ representado pela região escura. Fonte: Próprio autor.

Definida a estratégia de carregamento, tornava-se importante aumentar o tempo de circulação dos lipossomas para garantir que estivessem disponíveis para alcançar a região tumoral (BARENHOLZ, 2012). Para aumentar o tempo de circulação dos lipossomas foram desenvolvidos lipossomas peguilados (inclusão do PEG à estrutura) para aumentar a meia-vida (BARENHOLZ, 2012), cuja composição é de fosfatidilcolina de ovo hidrogenada, colesterol e fosfatidiletanolamina PEG-modificado, na proporção de 55:40:5 (ABRAHAM et al., 2005), gerando assim a composição do Doxil®.

A peguilação favorece a segurança e eficácia e reduz a imunogenicidade em diversos tratamentos terapêuticos. Os polímeros PEG apresentam dois grupos hidroxila (um em cada ponta da molécula) e para prevenir ligações cruzadas, intra e entre moléculas, um dos grupos é metilado e assim as proteínas e lipídios da bicamada lipídica são peguilados com metoxi-PEG (mPEG) (VERONESE; PASUT, 2005).

Em estudos com camundongos foram comparados os parâmetros farmacocinéticos de lipossomas peguilados contendo DOX com DOX livre. Foi observado que a quantidade e o tempo de circulação aumentaram em 2000 vezes,

considerando-se o plasma, e em 200 vezes, considerando-se a região tumoral. Por outro lado, estes parâmetros foram reduzidos em aproximadamente 25 vezes nas regiões teciduais sadias (GABIZON et al., 2003). Já o perfil farmacocinético em humanos, para doses entre 10 e 80 mg/m², apresenta duas fases de distribuição: uma inicial com meia-vida de 1 a 3 horas e outra com meia-vida de 30 a 90 horas. O *clearance* e o volume de distribuição reduziram drasticamente em uma ordem de 250 e 60 vezes, respectivamente (GABIZON et al., 2003), ou seja, o expressivo aumento na concentração e tempo de circulação na corrente sanguínea, bem como a drástica redução de *clearance* e volume de distribuição, são parâmetros que podem ser diretamente relacionados com a maior permanência dos lipossomas em circulação estando disponíveis para acessar as regiões tumorais. Neste estudo, o perfil toxicológico foi avaliado e os resultados obtidos indicaram a redução na cardiotoxicidade, o que permitiu que doses maiores de DOX pudessem ser utilizadas (GABIZON et al., 2003), favorecendo a terapêutica pela possibilidade de aumento de dose ou pela redução de efeitos colaterais.

Com o Myocet[®], cuja composição é fosfatidilcolina de ovo e colesterol, na proporção de 55:45, ou seja, sem PEG na estrutura, também se tem um aumento do tempo de circulação de aproximadamente 3 vezes quando comparado à DOX livre. Ainda, esta formulação apresentou cardiotoxicidade reduzida, porém maior quando comparada com a preparação peguilada (ABRAHAM et al., 2005).

Entre 1991 e 1994 iniciaram-se as triagens clínicas do Doxil[®] (GABIZON et al., 1994). Nestes estudos ficaram evidentes as conclusões do efeito EPR e o acúmulo do Doxil[®] nas regiões tumorais dos humanos avaliados. Além disso, demonstrou-se claramente os níveis mais elevados de DOX, tanto em células tumorais quanto em fluidos intersticiais tumorais, após administração de Doxil[®] em comparação com DOX livre. A significativa diferença entre parâmetros farmacocinéticos (Tabela 14) comparados entre medicamento com DOX livre (Rubex[®]) e Doxil[®] refletem o grande impacto clínico da incorporação do fármaco em lipossomas.

Nos primeiros ensaios clínicos do Doxil[®], os resultados mais encorajadores foram aqueles que indicavam que os níveis de DOX nas regiões tumorais eram de 4 a 16 vezes maiores quando comparados ao padrão DOX livre. Além disso, os picos de concentração na região tumoral ocorriam entre 3 e 7 dias após a administração, indicando que as células tumorais estariam expostas ao fármaco por período mais longo e em níveis mais elevados (GABIZON et al., 1994; BARENHOLZ, 2012).

Tabela 14 - Comparação de parâmetros farmacocinéticos entre Rubex® (DOX livre) e Doxil® (DOX lipossomal peguilada).

Parâmetro	Rubex®	Doxil®
Volume de distribuição	700 – 100l/m ²	Redução em aproximadamente 60 vezes
Ligação às proteínas e distribuição	DOX encontrado em todos tecidos.	Ligação proteica não determinado. DOX aparece em maior concentração na região tumoral que em outros tecidos.
Meia-vida	Meia-vida de distribuição de 5 minutos sugerem o rápido sequestro tecidual. Lenta eliminação dos tecidos resulta em meia-vida de 20-48 horas.	Disposição ocorre em duas fases: fase mais breve (5 horas) e uma segunda fase mais prolongada de 55 horas.
Metabolismo/excreção	DOX é metabolizado principalmente no fígado. Principal metabólito é doxorubicinol. Clearance de 2435 l/h/m ² . Metabolizado e excreção biliar.	Metabolização similar à DOX livre, no fígado e com formação de doxorubicinol. Clearance de 0,0041 l/h/m ² . A lenta eliminação resulta em concentração e tempo da DOX lipossomal maior na corrente sanguínea, em uma ordem de magnitude de duas a três vezes maior para uma mesma dose de DOX.

Fonte: Adaptado de compilação realizado por Jiang, Lionberger e Yu (2011).

Barenholz (2012) descreve que graças ao efeito EPR e a processos de convecção, os lipossomas concentram-se na região tumoral pois possuem tamanho adequado para deixar a circulação nos locais com fenestrações / imperfeições vasculares, diferentemente da DOX livre que deixa o sistema circulatório distribuindo-se nas regiões tumorais e em tecidos saudáveis. Alguns autores reforçam que a situação é pior para a região tumoral visto que a hipertensão intersticial na região do tumor desfavorece o descolamento de moléculas de DOX livre neste local, favorecendo assim apenas o acúmulo em tecidos saudáveis.

Entretanto, a presença da DOX incorporada em lipossomas na região tumoral, não comprova que o fármaco foi disponibilizado para as células alvo. Para se evidenciar que houve liberação do fármaco e que o mesmo foi internalizado pelas células cancerígenas, realizou-se a quantificação de metabólitos que são produzidos intracelularmente, indicando assim a internalização. O mecanismo de liberação e a internalização nas células tumorais é desconhecido até o momento, mas dois mecanismos são sugeridos para a internalização, o primeiro seria que lipossomas são internalizados intactos e a liberação ocorre em seguida, já o segundo é que a DOX é liberada no fluído intersticial do tecido

tumoral e assim é internalizado como fármaco livre pelas células. Em geral, a segunda opção é a mais aceita, visto que lipossomas idênticos contendo cisplatina não conseguem internalizar o fármaco, ou seja, demonstram a fragilidade da primeira opção. Neste sentido, são considerados fatores da liberação na região intersticial, o colapso do gradiente de sulfato de amônio devido a interferentes no equilíbrio osmótico e as fosfolipases que gerariam hidrólises dos fosfolípides formadores da bicamada lipídica, favorecendo uma rápida liberação local. Visto que a presença do colesterol na camada lipídica reduz drasticamente a ação de fosfolipases, caso esta via ocorresse, possivelmente os lipossomas contendo cisplatina também seriam internalizados, o que não ocorre (MOURITSEN; JORGENSEN, 1998; BARENHOLZ, 2012). Isso fortalece a ideia do colapso do gradiente obtido com sulfato de amônio. Não há consenso sobre a internalização e estudos adicionais são requeridos.

Assim, o desenvolvimento se baseou em três princípios principais: i) obtenção de lipossomas furtivos por meio de pegulação; ii) carregamento ativo de significativa quantidade de fármaco nas unidades baseando em gradiente trans-membrana de sulfato de amônio e; iii) obtenção de bicamadas lipídicas fosfatidilcolina e colesterol (BARENHOLZ, 2012), cuja composição é de fosfatidilcolina de ovo hidrogenada, colesterol e fosfatidiletanolamina PEG-modificado, na proporção de 55:40:5 (ABRAHAM et al., 2005). Entretanto, o desenvolvimento deste medicamento não seguiu um caminho tão certo e a construção do conhecimento se deu por meio de sucessos e insucessos, muito bem descritos por Barenholz (2012), integrante do grupo de pesquisa em questão por mais de 30 anos.

Assim, o PQAP foi construído e amadurecido. Foram definidos ACQ, ou seja, propriedades físicas, químicas, biológicas ou microbiológicas que devem apresentar adequados limites, intervalos ou distribuídas para assegurar a qualidade desejada:

- i) O tamanho dos lipossomas, bem como a distribuição de tamanho de partícula – tamanho próximo de 100nm;
- ii) Caracterização estrutural dos lipossomas: morfologia e lamelaridade, características estas que influenciam diretamente as propriedades de carregamento, retenção e liberação do fármaco;
- iii) Estado e quantidade de fármaco carregado (incorporado). A incorporação deve ser de no mínimo 90%, permitindo no máximo 10% na forma livre;

- iv) pH da formulação e o balanço de sais, em especial, sulfato de amônio, de maneira a garantir o efetivo carregamento e manutenção do equilíbrio da formulação;
- v) Alterações de superfície – presença e caracterização do m-PEG e caracterização de potencial elétrico da superfície / carga;
- vi) Perfil de liberação *in vitro* sob diversas condições: simulação da estabilidade do lipossoma na circulação, em condições de pH em tecido normal, na região tumoral e intracelular; alterações de condições para verificar interferentes na integridade das vesículas.
- vii) Outras características mais usuais como aspecto, quantidade envasada por frasco (em peso ou volume), uniformidade de dose, produtos de degradação, relacionadas ao fármaco ou outros componentes críticos, solventes residuais. Características típicas de apresentações injetáveis como material particulado, esterilidade e endotoxinas também devem ser incluídas entre os ACQ.

Além dessas características, deve ser realizada avaliação dos componentes da formulação, incluindo o fármaco, lipídeos, sais e outros adjuvantes. Características dos materiais que influenciam direta ou indiretamente no ACQ do produto devem ser estudadas e controladas. A composição lipídica – tipo, concentração, fonte, relação fármaco/lipídeos e temperatura de transição – influencia diretamente na fluidez da bicamada lipídica, na quantidade dos sais (em especial aqueles diretamente vinculados ao carregamento ativo) e outros componentes como, por exemplo, tamponantes, antioxidantes e estabilizante devem ser incluídos na avaliação e identificados quanto à potenciais atributos críticos dos materiais (ACM).

A exemplos dos materiais, as etapas do processo devem ser avaliadas e caracterizadas quanto ao nível de risco à qualidade, segurança e eficácia do produto. Cada etapa que pode influenciar direta ou indiretamente nos ACQ do Produto deve ser estudada e controlada. Nesta avaliação devem ser identificados parâmetros críticos do processo (PCP).

A elucidação de ACM e PCP ocorre por meio de avaliações de risco de impacto à qualidade, eficácia e segurança do produto em desenvolvimento. Nas Tabelas 15 e 16 estão exemplificadas avaliação de riscos relacionada à, respectivamente, componentes da formulação e às operações unitárias para a elucidação de itens críticos.

Nesta proposta, os Potenciais ACM e PCP tornam-se críticos quando o risco de impacto nos ACQ do produto é “alto”, o que exige a avaliação de estudos direcionados e específicos para evidenciar os limites de controle ou a escolha de condições otimizadas. Nos casos em que o risco é identificado como “moderado” deve-se avaliar, caso a caso (custo-benefício), a necessidade de estudos adicionais. Nos casos de risco “baixo”, não é necessário traçar estudos adicionais específicos, bastando seguir com controles usuais.

Tabela 15 - Análise de risco: componentes da formulação.

Potencial Atributo Crítico	ACQ – Produto e Nível de Risco Identificado			Considerações da Avaliação e Justificativas
	Incorporação do Fármaco	Perfil de Liberação do Fármaco	Forma e Integridade dos lipossomas	
Características físicas do fármaco (tamanho de partícula, por exemplo)	Baixo	Baixo	Baixo	O tamanho de partícula do fármaco não influencia de maneira direta nos ACQ – Produto, visto que ocorre a solubilização do fármaco antes do processo de carregamento e há limites seguros para afirmar que a solubilização requerida não sofre interferências do tamanho das partículas dos fármacos. Nível de risco de impacto caracterizado como baixo.
Concentração de sulfato de amônio intralipossômico	Alto	Alto	Moderado	Sulfato de Amônio está diretamente vinculado aos mecanismos de carregamento ativo do fármaco, bem como na estrutura do material dentro dos lipossomas (formação de precipitado). A concentração do sal impacta em nível de risco Alto na eficiência de incorporação e no perfil de liberação (pode formar mais ou menos material precipitado). O impacto na forma e integridade dos lipossomas foi caracterizado como moderado, visto que as características de precipitação podem impactar na forma do lipossoma e na integridade de bicamada lipídica.
Composição lipídica (concentração de colesterol, por exemplo)	Baixo	Alto	Moderado	A presença de colesterol reduz drasticamente a ação de fosfolipases e o potencial impacto de variações na concentração de colesterol na bicamada lipídica foi considerada como Alto. A quantidade de colesterol na formação da bicamada pode, de maneira moderada, impactar na formação e estruturação da bicamada lipídica, devendo assim estar evidente a concentração ideal.
Antioxidantes	Baixo	Baixo	Moderado	Antioxidantes favorecem a manutenção da integridade dos lipídeos e assim, de maneira moderada, impactam na forma e integridade dos lipossomas. Não foram evidenciados impactos à incorporação e na liberação do fármaco a partir das vesículas consideradas íntegras – identificado baixo risco.

Fonte: Próprio autor.

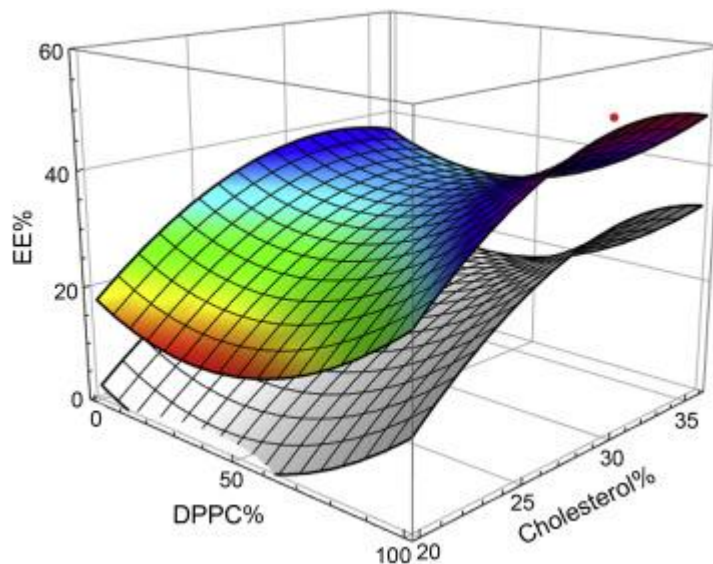
Tabela 16 - Análise de risco: operações unitárias.

Potencial Atributo Crítico	ACQ – Produto e Nível de Risco Identificado			Considerações da Avaliação e Justificativas
	Incorporação do Fármaco	Perfil de Liberação do Fármaco	Forma e Integridade dos lipossomas	
Hidratação do filme (temperatura, tempo e volume, por exemplo)	Moderado	Moderado	Alto	Parâmetros relacionados à hidratação do filme (temperatura, tempo e volume de solvente) podem impactar diretamente na composição, arranjo, forma e integridade dos lipossomas a serem formados. Estas alterações podem impactar de maneira moderada na incorporação do fármaco aos lipossomas formados, bem como no perfil de liberação do fármaco.
Extrusão (tamanho de poro da membrana, pressão e temperatura, por exemplo)	Moderado	Moderado	Alto	Parâmetros relacionado ao processo de extrusão (tamanho de poro da membrana, pressão e temperatura) impactam diretamente na forma e integridade dos lipossomas. Estas alterações podem impactar de maneira moderada na incorporação do fármaco aos lipossomas formados, bem como no perfil de liberação do fármaco.
Sonicação (tempo, temperatura e frequência – força, por exemplo)	Baixo	Baixo	Alto	Parâmetros relacionados à sonicação (tempo, temperatura e frequência) podem impactar no arranjo / estrutura dos lipossomas de maneira direta (alto impacto), mas não estão relacionados aos demais atributos (Incorporação e perfil de liberação do fármaco).
Esterilização (filtração esterilizante com envase asséptico, por exemplo)	Baixo	Baixo	Baixo	Parâmetros relacionados à esterilização (por radiação, por exemplo) não estão diretamente relacionados aos Atributos Críticos da Qualidade do produto, mas é um item relevante, visto a necessidade de esterilização da preparação. Não requer estudos específicos, embora seja requerido o desenvolvimento e validação do processo de esterilização.

Fonte: Próprio autor.

Os estudos a serem desenvolvidos para os ACM e PCP podem ser realizados em conjunto ou isolados. Para exemplificar uma aplicação no desenvolvimento de lipossomas, Xu (2012) realizou estudos de otimização de materiais (quantidade e/ou tipo) com avaliação de impactos na Eficiência de Encapsulação – um ACQ do produto. Neste estudo, dois parâmetros foram considerados para a avaliação de impacto de materiais, aqui representado pela concentração de 1,2-Dipalmitol-sn-glicero-3-fosfocolina (DPPC%) variando de 0 a 100% (compensado quantitativamente por 1,2-distearol-sn-glicero-3-fosfocolina) e a concentração de Colesterol (Cholesterol%) em ACQ do Produto – Eficiência de Encapsulação em porcentagem (EE%). Considerando que a Eficiência de Encapsulação (%EE) deve ser a maior possível, o estudo indica quais são as condições otimizadas para isso. Primeiramente verifica-se que o lipídeo na concentração de 110mM (representado pela curva em cores) resultou em maior eficiência de encapsulação, condição que é mais otimizada utilizando DPPC (100%) e colesterol na concentração entre 25 e 30% (Figura 21).

Figura 21- Exemplo de Delineamento Experimental – Superfícies de Resposta para prever EE% em relação à concentração de 1,2-Dipalmitol-sn-glicero-3-fosfocolina (DPPC%) – e a concentração de Colesterol (Cholesterol%)



A superfície superior (em cores) representa a concentração do lipídeo de 110mM, enquanto que a superfície inferior (em escala de cinza) representa a concentração de 30mM. Fonte: Figura gentilmente cedida por Xu (2012).

Estes estudos contribuem para a formação de um Controle Estratégico que deve descrever e justificar controles em processo e de materiais de entrada (IFA e excipientes), intermediários (materiais em processo), materiais de embalagem e produto terminado que contribuam para a obtenção da qualidade previamente definida para o produto. Estes controles baseiam-se no entendimento do produto, formulação e processo, e devem incluir, pelo menos, características dos materiais e parâmetros de processo caracterizados como críticos.

Este conjunto de informações formado com a construção do PQAP, definição de ACQ do produto e dos materiais, parâmetros críticos e, por fim, a definição de um controle estratégico, contribuem para a construção da qualidade do produto, favorecendo o entendimento do produto e facilitando os processos de avaliação e intervenção regulatória. A sistematização do conhecimento facilita a apresentação e comunicação do conhecimento gerado durante o desenvolvimento do produto, exercendo um papel diferenciado nos projetos complexos e, neste caso, para a regulamentação de medicamentos de base nanotecnológica, que exigem avaliações caso a caso.

Frente ao sucesso no desenvolvimento do Doxil[®], houve uma difusão de uso, o que levou à primeira aprovação, na FDA, em 1995 para Sarcoma de Kaposi relacionada à AIDS (do inglês *Acquired Immunodeficiency Syndrome* – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida), com eficácia superior à obtida no tratamento convencional. Em 1998, também foi aprovado para uso no tratamento de câncer ovariano recorrente com eficácia superior e melhor perfil de segurança quando comparado com topotecano, utilizado como tratamento de referência. Em 2000, frente à redução na cardiotoxicidade quando comparado à DOX livre, foi recomendado para outros usos. Em 2003, foi aprovado para uso no tratamento de câncer de mama metastático com eficácia equivalente e reduzida cardiotoxicidade em comparação com DOX livre. Em 2007, este produto foi recomendado para mieloma múltiplo com eficácia equivalente e melhor perfil de segurança quando comparado com DOX livre. Também foi recomendado para uso em combinação com bortezomib, com resultados de eficácia superior se comparado com os fármacos isolados (BARENHOLZ, 2012).

7.3 Doxorubicina lipossomal peguilada – Gerenciamento de Riscos

Além da aplicação das diretrizes QbD, também foram aplicadas as diretrizes de Gerenciamento de Riscos seguindo os critérios apresentados nas Figuras de 15 a 17. No que diz respeito à “aspectos físicos” como foram observadas partículas próximas de 100nm (considerado <100nm – maior risco) e não persistentes (segue vias usuais de degradação), identificou-se um risco médio. Já na “avaliação de risco associado a interação”, o nanomaterial biocompatível (sem evidências de bioincompatibilidade) e invasivo (preparação para uso parenteral), identificou-se novamente um risco médio.

Assim, a “Avaliação de Risco associado ao Uso” indica o grupo III: risco moderado que requer gerenciamento dos riscos associados com N&N, de maneira mitigar riscos identificados. Ações a serem adotadas devem ser compatíveis com nível de risco percebido, indicando não ser tão baixo a ponto de ser ignorado, nem tão alto a nível de suspender o desenvolvimento tecnológico. O grau de risco detectado também deve ser correlacionado com os benefícios obtidos com a tecnologia e, em conjunto, avalia-se os riscos/ benefícios envolvidos. A redução da toxicidade pela inclusão lipossomal, em comparação com o fármaco livre, e a possibilidade de melhores índices de eficácia devem ser considerados para avaliar se o nível de risco moderado da tecnologia é aceitável

7.4 QbD e Gerenciamento de Riscos no Doxil

Os conceitos QbD e Gerenciamento de Riscos foram aplicados no desenvolvimento do produto Doxil[®]. Este é um produto farmacêutico que, por ser estrategicamente produzido por indústrias farmacêuticas, não divulga todas as informações relevantes que facilitariam o maior aprofundamento da avaliação. Entretanto, o histórico apresentado por Barenholz (2012), bem como uma série de trabalhos correlacionados, facilitaram o acesso às principais informações e permitiu utilizar o Doxil[®] como um estudo de caso para a aplicação das metodologias anteriormente discutidas.

Para evidenciar a aplicação das diretrizes é apresentado, no Apêndice C, o formulário preenchido com as diferentes etapas previstas nas metodologias QbD e Gerenciamento de Riscos. Para aqueles itens em que há informações técnicas disponíveis, estas foram incluídas. Quando não havia informações disponíveis, permanece as diretrizes de compilar as informações.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No Brasil e no mundo existem produtos sujeitos à regulação sanitária de base nanotecnológica disponíveis para consumo e outros tantos estão em fase de desenvolvimento. Este cenário resulta em uma lacuna regulatória que agrava e torna mais urgente a implementação de modelos regulatórios para sistematizar os critérios de regulação destes produtos, em especial para medicamentos de base nanotecnológica.

Em cumprimento a esta demanda, este trabalho apresentou uma proposta de conceito para “nanomateriais”, visto que uma construção regulatória se inicia por conceitos. A pesquisa para a definição do termo “nanomaterial” indicou que é consenso entre as agências a presença de aspectos relacionados ao tamanho (na escala nanométrica) e o aparecimento de fenômenos característicos da escala para uma definição. Entretanto, outros aspectos técnicos e mais específicos como a faixa de tamanho a ser considerada, a forma de medição, considerações sobre a origem ou solubilidade e labilidade não são consensos. Assim, este trabalho propôs um conceito unificado que representa o consenso técnico frente às diversas diretrizes avaliadas. É importante destacar que aspectos político-econômicos não foram considerados para esta avaliação e considerações adicionais deverão ser realizadas sob esta ótica.

Além disso, duas metodologias – QbD e Gerenciamento de Riscos – foram discutidas e aplicadas com o objetivo de contribuir para a formação dos pilares necessários para a construção regulatória.

QbD, ou seja, a construção do produto a partir de diretrizes previamente definidas, atende às demandas de avaliação caso a caso requeridas para o desenvolvimento e regulação de medicamentos de base nanotecnológica. Ficou evidente que através da definição e consolidação do PQAP e dos ACQ teve-se a construção do produto e, paralelamente, a sedimentação (geração, organização, sustentação e/ou divulgação) do conhecimento. A estrutura prevista para a aplicação do QbD foi capaz de direcionar as avaliações caso a caso (conforme constatado através do estudo de caso) e, assim, constituiu um importante pilar para a construção de um arcabouço regulatório para a área.

O Gerenciamento de Riscos, em especial com a definição de critérios para a avaliação de riscos, atendeu a necessidade de evidenciar riscos potenciais e diferenciados que os medicamentos de base nanotecnológica podem oferecer. Para tanto foi desenvolvido um algoritmo para categorizar os diferentes nanomateriais segundo aspectos técnicos relevantes e já publicados na literatura. Este algoritmo propõe a

sistematização para a avaliação de aspectos físicos (tamanho e labilidade) e aspectos de interação (nível de invasão e biocompatibilidade da preparação) que resultam na formação de cinco grupos com diferentes níveis de riscos variando desde aqueles riscos usuais, não diferenciados e já presentes em produtos tradicionais, até riscos muito altos que exigem criteriosa avaliação da tecnologia, inclusive, com extensa supervisão regulatória para que o produto / tecnologia siga adiante e seja disponibilizado ao mercado.

O uso das metodologias de Gerenciamento de Riscos e QbD no estudo de caso, com a aplicação no produto Doxil® - doxorubicina lipossomal peguilada, permitiu a construção de uma visão inovadora de um produto já disponível no mercado e poderá facilitar o desenvolvimento de produtos genéricos, produtos semelhantes que utilizam a mesma tecnologia (lipossomas) ou ainda no desenvolvimento de produtos de base nanotecnológica que utilizam outras tecnologias.

Gerenciamento de Riscos e QbD são ferramentas que podem ajudar na construção da qualidade em medicamentos de base nanotecnológica e este trabalho representa uma avaliação inicial, conceitual e aplicada, para a utilização dessas metodologias no contexto da regulação de medicamentos de base nanotecnológica.

De agora em diante, é importante que as agências regulatórias incentivem o uso dessas metodologias para aprimorar a avaliação de riscos baseado no conhecimento científico, desde etapas iniciais dos projetos de desenvolvimento de produtos de base nanotecnológica. A criação de grupos de trabalho envolvendo os setores regulado e regulador pode fortalecer discussões sobre aspectos regulatórios para medicamentos de base nanotecnológica e favorecer o desenvolvimento de recursos humanos nas agências regulatórias, nas empresas e nas universidades. A construção de guias (diretrizes) e a apresentação de outros estudos de caso podem incentivar as empresas para o uso de Gerenciamento de Riscos e QbD.

QbD e Gerenciamento de Riscos representam importantes pilares para a construção de um arcabouço regulatório para medicamentos de base nanotecnológica. Além de contribuírem para a construção da qualidade nestes medicamentos, facilitam a consolidação de ambientes com maior segurança jurídica e favorecem o desenvolvimento da ciência através de produtos e tecnologias cada vez mais avançados, sofisticados e inovadores, na fronteira do conhecimento.

REFERÊNCIAS*

ABRAHAM, S. A. et al. The liposomal formulation of doxorubicin. **Methods in Enzymology**, v. 391, p. 71-97, 2005.

ADÃO, R. et al. Cardiotoxicidade associada à terapêutica oncológica: mecanismos fisiopatológicos e estratégias de prevenção (revisão). **Revista Portuguesa de Cardiologia**, v. 32, n. 5, p. 395-409, 2013.

ADEYEYE, M. C. Drug-Excipient Interaction Occurrences During Solid Dosage Form Development. In: ADEYEYE, M.; BRITAIN, H. G. (Eds). **Preformulation in Solid Dosage Form Development**. Nova York (EUA): Informa Health Care USA, Inc., 2008. Cap. 4.2, p. 357-436

AGÊNCIA BRASILEIRA DE DESENVOLVIMENTO INDUSTRIAL. **Cartilha sobre nanotecnologia**. 2.ed. Brasília: ABDI, 2010. 58 p. Disponível em: <<http://livroaberto.ibict.br/handle/1/572>>. Acesso em: 04 jan. 2015.

AGÊNCIA BRASILEIRA DE DESENVOLVIMENTO INDUSTRIAL. **Nanotecnologias: subsídios para a problemática dos riscos e regulação**. Brasília: ABDI, 2011. 50 p. Disponível em: <<http://livroaberto.ibict.br/handle/1/624>> Acesso em: 18 mar. 2015.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Agenda Regulatória Bienio 2013-2014**. Brasília: ANVISA, 2014. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/463228/Agenda+Regulat%C3%B3ria+Bi%C3%AAnio+2013+-+2014/aece2cb8-f927-4ac7-b2ec-17d6c7f6c903>>. Acesso em: 14 mar. 2015.

ALBINI, A. et al. Cardiotoxicity of anticancer drugs: The need for cardio-oncology and cardio-oncological prevention. **The Journal of the National Cancer Institute**. v. 102, p. 14-25, 2010.

ALLEN JUNIOR, L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos**. Tradução E. L. Senna et al. 8.ed. Porto Alegre: Artmed, 2007.

ALLEN, T. M. et al. A new strategy for attachment of antibodies to sterically stabilized liposomes resulting in efficient targeting to cancer cell. **Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes**, v. 1237, n. 2, p. 99-108, 1995.

ALLEN, T. M.; CULLIS, P. R. Liposomal drug delivery systems: From concept to clinical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 65, n. 1, p. 36-48, 2013.

* De acordo com a ABNT NBR 6023 2002.

ALMEIDA, E. N. **Análise do Trabalho de Qualificação de Fornecedores de Insumos Farmacêuticos da Unidade de Farmanguinhos**. 2009. 138 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Saúde Pública) - Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2009.

ALMEIDA, V. L. et al. Câncer e Agentes Antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 118-129, 2005.

AMSELEN, S.; COHEN, R.; BARENHOLZ, Y. In vitro tests to predict in vivo performance of liposomal dosagem forms. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 64, p. 219-237, 1993.

ANDRESEN, T. L.; JENSEN, S. S.; JORGENSEN, K. Advanced strategies in liposomal cancer therapy: problems and prospects of active and tumor specific drug release. **Progress in Lipid Research**, v. 44, n. 1, p. 68-97, 2005.

ANN CLARK, M. et al. Targeting polymerised liposome vaccine carriers to intestinal M cells. **Vaccine**, v. 20, p 208-217, 2001.

ASSIS, A. S.; RECHE, M. M.; AZEVEDO, C. A. **Conceituação e Fundamentos da Pesquisa Regulatória. Metrologia para a competitividade em áreas estratégicas** (V Congresso Brasileiro de Metrologia), 2009. Disponível: <http://www.inmetro.gov.br/producao intelectual/obras_intelectuais/275_obraIntelectual.pdf>. Acesso em: 06 nov. 2016.

AUSTRALIAN GOVERNMENT. **Department of Health. National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme**. 2013. Disponível em: <<http://www.nicnas.gov.au/regulation-and-compliance/nicnas-handbook/handbook-appendixes/guidance-and-requirements-for-notification-of-new-chemicals-that-are-industrial-nanomaterials/nicnas-working-definition-of-industrial-nanomaterial>>. Acesso em: 20 fev. 2015.

AZEVEDO, M. M. M. **Nanoesferas e a Liberação Controlada de Fármacos**. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 2002. 20 f. Disponível em: <http://lqes.iqm.unicamp.br/images/vivencia_lqes_monografias_marcelo_nanoesferas.pdf>. Acesso em: 15 ago. 2016.

BARENHOLZ, Y. Amphipathic weak base loading into preformed liposomes having a transmembrane ammonium ion gradient: From the bench to approved DOXIL. In: GREGORIADIS, G. (Ed.), **Liposome Technology: Entrapment of Drugs and Other Materials into Liposomes**. 3rd ed. vol. 2. New York: Informa Healthcare, 2007. p. 1–25.

BARENHOLZ, Y. Doxil® - The first FDA-approved nano-drug: lessons learned. **Journal of Controlled Release**.v. 160, p. 117-134, 2012.

BARENHOLZ, Y. Liposome application: problems and prospects. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 6, p. 66-77, 2001.

BARENHOLZ, Y. Relevancy of drug loading to liposomal formulation therapeutic efficacy. **Journal of Liposome Research**, v. 13, p. 1-8, 2003.

BASTOS, F. L. A. **Desenvolvimento e incorporação de nanocristais de dexametasona em sistemas poliméricos híbridos orgânico-inorgânicos para administração cutânea**. 2015. 138 f. Dissertação (Mestrado em Fármacos e Medicamentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlia de Mesquita Filho”, Araraquara, 2015.

BATIST, G. et al. Reduced cardiotoxicity and preserved antitumor efficacy of liposome-encapsulated doxorubicin and cyclophosphamide compared with conventional doxorubicin and cyclophosphamide in a randomized, multicenter trial of metastatic breast cancer. **Journal of Clinical Oncology**, v. 19, p. 1444-1454, 2001.

BATISTA, C. M. et al. Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: Estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 2, p.176-179; 2007.

BELGISCH STAATSBLAD. **Wetten, Decreten, Ordonnanties en Verordeningen** (Lois, Decrets, Ordonnances et Reglements), Ed. 2, Outubro de 2014. Disponível em: <<http://nanotech.lawbc.com/uploads/file/00145980.PDF>>. Acesso em: 20 fev. 2015.

BERNESTEIN, P. L. **Desafio aos deuses: a fascinante história do risco**. São Paulo: Elsevier/Campus, 1997. 369 p.

BLADÉ, J. et al. Efficacy and safety of pegylated liposomal Doxorubicin in combination with bortezomib for multiple myeloma: effects of adverse prognostic factors on outcome. **Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia**, v. 11, p. 44-49, 2011.

BLEEKER, E. A. et al. Considerations on the EU definition of a nanomaterial: science to support policy making. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 65, p. 119-125, 2013.

BLUME, G.; CEVC, G. Molecular mechanism of the lipid vesicle longevity in vitro. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1146, n. 2, p. 157-168, 1993.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução – RDC nº 186, de 27 de julho de 2004. Dispõe sobre a Notificação de Drogas ou Insumos Farmacêuticos com Desvios de Qualidade Comprovados pelas Empresas Fabricantes de Medicamentos, Importadoras, Fracionadoras, Distribuidoras e Farmácias. Brasília: ANVISA, 2004. Disponível em: <http://portal2.saude.gov.br/saudelegis/LEG_NORMA_PESQ_CONSULTA.CFM>. Acesso em: 13 maio 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução – RDC nº 204, de 14 de novembro de 2006. Determina a todos os Estabelecimentos que exerçam as atividades de Importar, Exportar, Armazenar, Fracionar e Embalar Insumos Farmacêuticos o cumprimento das Diretrizes Estabelecidas no Regulamento Técnico de Boas Práticas de Distribuição e Fracionamento de Insumos Farmacêuticos, conforme Anexo da presente Resolução. Brasília: ANVISA, 2006. Disponível em: <http://portal2.saude.gov.br/saudelegis/LEG_NORMA_PESQ_CONSULTA.CFM>. Acesso em: 13 maio 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução – RDC nº 30, de 10 de agosto de 2008. Dispõe sobre a Obrigatoriedade de todas as Empresas estabelecidas no País, que exerçam as atividades de Fabricar, Importar, Exportar, Fracionar, Armazenar, Expedir e Distribuir Insumos Farmacêuticos Ativos, Cadastrarem junto à ANVISA todos os Insumos Farmacêuticos Ativos com os quais trabalham. Brasília: ANVISA, 2008. Disponível em: <http://portal2.saude.gov.br/saudelegis/LEG_NORMA_PESQ_CONSULTA.CFM>. Acesso em: 13 maio 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução – RDC nº 17, de 16 de abril de 2010. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. Brasília: ANVISA, 2010a. Disponível em: <http://portal2.saude.gov.br/saudelegis/LEG_NORMA_PESQ_CONSULTA.CFM>. Acesso em: 16 jul. 2015.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução – RDC nº 69, de 08 de dezembro de 2014. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Insumos Farmacêuticos Ativos. Brasília: ANVISA, 2014a. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/areas/coges/legislacao/2014/RDC_69_2014.pdf>. Acesso em: 13 maio 2015.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução – RDC nº 60, de 10 de outubro de 2014. Dispõe sobre os critérios para a concessão renovação do registro de medicamentos com princípios ativos sintéticos e semissintéticos, classificados como novos, genéricos e similares, e dá outras providências. Brasília: ANVISA, 2014b. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0060_10_10_2014.pdf>. Acesso em: 13 maio 2015.

BUENO, M. M.; RECH, N. Insumos Farmacêuticos: Aspectos Técnicos, Científicos e Regulatórios. In: STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, J. E.; CHIANN, C.; GAI, M. N. **Biofarmacotécnica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

CAELYX®: suspensão injetável. Responsável técnico: Marcos R. Pereira. Ohio (EUA): Ben Venue Laboratories, 2013. Bula de remédio. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=3628732013&pIdAnexo=1603114>. Acesso em: 12 jul. 2016.

CANADIAN ENVIRONMENTAL. Protection Act 1999. Disponível em: <<http://laws-lois.justice.gc.ca/PDF/C-15.31.pdf>>. Acesso em: 02 ago. 2014.

CHEN, H. et al. Nanonization strategies for poorly water-soluble drugs. **Drug Discovery Today**, v. 16, n. 7-8, p. 354-360, 2011.

COELHO, T. L. **Estudos de adsorção de Cobre (II) em microesferas de quitosana reticuladas com epicloridrina e impregnadas com heparina**. 2006.74 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

COLUNANO, 01 de março de 2011. Disponível em: <http://colunano.blogspot.com.br/2011_03_01_archive.html>. Acesso em: 23 nov. 2016.

COMISSÃO EUROPEIA. **Como trabalha a Comissão Europeia**. Disponível em: <http://ec.europa.eu/atwork/index_pt.htm>. Acesso em: 12 ago. 2014.

COUNCIL OF CANADIAN ACADEMIES. **Small is Different: A Science Perspective on the Regulatory Challenges of the Nanoscale / the Expert Panel on Nanotechnology**. Setembro de 2008. Disponível em: <[http://www.scienceadvice.ca/uploads/eng/assessments%20and%20publications%20and%20news%20releases/nano/\(2008_07_10\)_report_on_nanotechnology.pdf](http://www.scienceadvice.ca/uploads/eng/assessments%20and%20publications%20and%20news%20releases/nano/(2008_07_10)_report_on_nanotechnology.pdf)>. Acesso em: 02 ago. 2014.

COUVREUR, P.; DUBERNET, C.; PUISIEUX F. Controlled drug delivery with nanoparticles: current possibilities and future trends. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 41, p. 2-13, 1995.

DELGADO, J. M. F. **Preparação e caracterização de nanotransportadores (nanocápsulas, nanoesferas, lipossomas e transportadores lipídicos nanoestruturados) sem substância ativa**. 2013. 117 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Biomédica).- Escola Superior de Tecnologia e Gestão, Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, 2013.

DIAS, A. L. **Desenvolvimento de Produtos Farmacêuticos: As Diretrizes dos Guias de Desenvolvimento Farmacêutico e Gerenciamento de Riscos**. 2013. 165 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2013.

DURÁN, N. et al. Tecnologia de Nanocristais em fármacos. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 151-158, 2010.

EDWARDS, BAEUMNER A. J. **Liposomes in analyses**. *Talanta*, v. 68, p. 1432-1441, 2006.

ENDEAVOR BRASIL. PDCA: a prática levando sua gestão à perfeição. Disponível em: <<https://endeavor.org.br/pdca/>>. Acesso em: 16 jul. 2016.

EUROPEAN COMMUNITIES. **Commission Recommendation on A Code of Conduct for Responsible Nanosciences and Nanotechnologies Research & Council Conclusions on Responsible Nanosciences and Nanotechnologies Research**. Luxemburgo: Office for Official Publication of the European Communities, 2009.

EUROPEAN COMMUNITIES. Communication from the Commission to the Council, the European Parliament and The Economic and Social Committee. **Nanoscience and nanotechnology: An action plan for Europe 2005-2009**. Luxemburgo, 2005. Disponível em: <http://ec.europa.eu/research/industrial_technologies/pdf/nano_action_plan_en.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2014.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHPM). **ICH Guideline Q8 (R2) on pharmaceutical development – step 5**. London, EMA: 2015a. Disponível em: <http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002872.pdf>. Acesso em: 12 dez. 2015.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHPM). **ICH Guideline Q9 on quality risk management – step 5**. London, EMA: 2015b. Disponível em: <http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002873.pdf>. Acesso em: 12 dez. 2015.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHPM). **Reflection Paper on Nanotechnology-Based Medicinal Products for Human Use**. London: EMA, 2006. Disponível em: <http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Regulatory_and_procedural_guideline/2010/01/WC500069728.pdf>. Acesso em: 20 fev. 2015.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY. **Guideline on Active Substance Master File Procedure**. London: EMA, 2012. Disponível em: <http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2012/01/WC500120687.pdf>. Acesso em: 12 set. 2012.

EUROPEAN PARLIAMENT. Committee on Industry, Research and Energy. **Report on Nanosciences and Nanotechnologies: Na Action Plan for Europe 2005-2009 (2006/2004 INI)**. Junho de 2006. Disponível em: <<http://www.europarl.europa.eu/sides/getDoc.do?pubRef=-/EP//NONGML+REPORT+A6-2006-0216+0+DOC+PDF+V0//EN&language=EN>>. Acesso em: 10 ago. 2014.

EUROPEAN PARLIAMENT. Committee on the Environment, Public Health and Food Safety. **Report on Regulatory Aspects of Nanomaterials (2008/2208 INI)**. EP: 2009. Disponível em: <<http://www.europarl.europa.eu/sides/getDoc.do?pubRef=-/EP//TEXT+REPORT+A6-2009-0255+0+DOC+XML+V0//EN>>. Acesso em: 10 ago. 2014.

EUROPEAN UNION. Joint Research Centre (JRC). **Reference Reports: Considerations on a Definition of Nanomaterial for Regulatory Purpose.** Luxembourg, JRC: 2010a. Disponível em: <<http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC58726>>. Acesso em: 10 ago. 2014.

EUROPEAN UNION. Joint Research Centre (JRC). **Scientific and Policy Reports: Towards a Review of the EC Recommendation for a definition of the term “nanomaterial”.** Part 1: Compilation of Information concerning the experience with the definition. Luxembourg, 2014. Disponível em: <http://www.nanotechia.org/sites/default/files/files/20140926_jrc_second_report_definition.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2014.

EUROPEAN UNION. Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR). **Scientific Basis for the Definition of the Term “Nanomaterial”.** Brussels, 2010b. Disponível em: <http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/emerging/docs/scenih_r_o_030.pdf> Acesso em: 28 jan. 2015.

FANG, J.; NAKAMURA, H.; MAEDA, H. The EPR Effect: Unique features of tumor blood vessels for drug delivery, factors involved, and limitations and augmentation of the Effect. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 63, p. 136-151, 2011.

FANG, J.Y. et al. Lipid nanoparticles as vehicles for topical psoralen delivery: Solid lipid nanoparticles (SLN) versus nanostructured lipid carriers (NLC). **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 70, p. 633-640, 2008.

FANGUEIRO, J. F. et al. Desenvolvimento, produção e caracterização de nanocristais de fármacos pouco solúveis. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1848-1853, 2012.

FERNANDES, M. F. M; FILGUEIRAS, C. A. L. Um panorama da nanotecnologia no Brasil (e seus macro-desafios), **Química Nova**, v. 31, n. 8, 2008.

FEYNMAN, R. P. **Plenty of Room at the Bottom** (This is the transcript of a talk presented by Richard P. Feynman to the American Physical Society in Pasadena on December 1959, which explores the immense possibilities afforded by miniaturization). Disponível em: <https://www.pa.msu.edu/~yang/RFeynman_plentySpace.pdf>. Acesso em: 14 mar. 2014.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Drug Master File: Guidelines.** Maryland, FDA: 1989. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm122886.htm>>. Acesso em: 09 set. 2014.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Guidance for Industry: Considering Whether an FDA-Regulated Product Involves the Application of Nanotechnology.** Silver Spring (USA): FDA, 2014a. Disponível em: <<http://www.fda.gov/downloads/RegulatoryInformation/Guidances/UCM401695.pdf>>. Acesso em: 15 jul. 2014.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Guidance for Industry: Q8 (R2) Pharmaceutical Development.** Silver Spring (USA): FDA, 2009a. Disponível em: <<https://www.fda.gov/downloads/Drugs/.../Guidances/ucm073507.pdf>>. Acesso em: 12 dez. 2015.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Guidance for Industry: Q9 Quality Risk Managment.** Silver Spring (USA): FDA, 2006. Disponível em: <<https://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm073511.pdf>>. Acesso em: 12 dez. 2015.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Guidance for Industry: Safety of Nanomaterials in Cosmetic Products.** Silver Spring (USA): FDA, 2014b. Disponível em: <<http://www.fda.gov/downloads/Cosmetics/GuidanceRegulation/GuidanceDocuments/UCM300932.pdf>>. Acesso em: 15 jul. 2014.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Guidance for Industry: Use of Nanomaterials in Food for Animals Draft Guidance.** Silver Spring (USA): FDA, 2014c. Disponível em: <<http://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/GuidanceComplianceEnforcement/GuidanceforIndustry/UCM401508.pdf>>. Acesso em: 15 jul. 2014.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Liposome Drug Products. Guidance for Industry (Draft Guidance).** Pharmaceutical Quality/CMC. Revisão 01. Silver Spring (USA): FDA, 2015. Disponível em: <<http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm070570.pdf>>. Acesso em: 11 nov. 2016.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Nanotechnology: A Report of the U. S. Food and Drug Administration Nanotechnology Task Force.** USA, 2007a. Disponível em: <<http://www.fda.gov/downloads/ScienceResearch/SpecialTopics/Nanotechnology/ucm110856.pdf>>. Acesso em: 25 jul. 2014.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Quality by Design for ANDAs: An Example for Immediate-Release Dosage Forms.** Silver Spring (USA): FDA, 2012a. Disponível em: <<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/HowDrugsareDevelopedandApproved/ApprovalApplications/AbbreviatedNewDrugApplicationANDAGenerics/UCM304305.pdf>>. Acesso em: 18 jul. 2014.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Quality by Design for ANDAs: An Example for Modified Release Dosage Forms.** Silver Spring (USA): FDA, 2012b. Disponível em: <<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/HowDrugsareDevelopedandApproved/ApprovalApplications/AbbreviatedNewDrugApplicationANDAGenerics/UCM286595.pdf>>. Acesso em: 14 ago. 2014.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Question-Based Review (QbR) for Generic Drugs**: An Enhanced Pharmaceutical Quality Assessment System. Silver Spring (USA): FDA, 2009b. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/HowDrugsareDevelopedandApproved/ApprovalApplications/AbbreviatedNewDrugApplicationANDAGenerics/ucm120973.htm>>. Acesso em: 14 ago. 2011.

FRICKER, G. et al. Phospholipids and lipid-based formulations in oral drug delivery. **Pharmaceutical Research**, v. 27, p. 1469-1486, 2010.

GABIZON, A. A.; BARENHOLZ, Y. **Method for Drug Loading in Liposomes**. In: International Patent Appl., WO/2005/046643, 2005.

GABIZON, A. A.; Pegylated liposomal doxorubicin: metamorphosis of a drug into a new form of chemotherapy. **Cancer Invest**, v. 19, n. 4, p. 424-436, 2001.

GABIZON, A. et al. Pharmacokinetics of pegylated liposomal Doxorubicin: review of animal and human studies, **Clinical Pharmacokinetics**, v. 42, p. 419-436, 2003.

GABIZON, A. et al. Prolonged circulation time and enhanced accumulation in malignant exudates of doxorubicin encapsulated in polyethylene-glycol coated liposomes. **Cancer Research**, v. 54, p. 987-992, 1994.

GABIZON, A.; PAPAHA DJOPOULOS, D. Liposome formulation with prolonged circulation time in blood and enhanced uptake by tumor. **Medical Sciences**, v. 85, p. 6949-6953, 1988.

GAO, L. et al. Application of Drug Nanocrystal Technologies on Oral Drug Delivery of Poorly Soluble Drugs. **Pharmaceutical Research**, v. 30, n. 2, p. 307-324, 2013.

GAO, L. et al. Drug nanocrystals: In vivo performances. **Journal of Controlled Release**, v. 160, p. 418- 430, 2012.

GASCO, M. R. Method for producing solid lipid microspheres having a narrow distribution. **US Patent N° 5250236**, 1993.

GEORGE, M.; GHOSH, I.; Identifying the correlation between drug/stabilizer properties and critical quality attributes (CQAs) of nanosuspension formulation prepared by wet media milling technology. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 48, p. 142-152, 2013.

GIL, A. C. **Como elaborar Projetos de Pesquisa**. 4ª Ed. São Paulo: Atlas, 2008.

GLENMARK FARMACEUTICA, **Cloridrato de Doxorubicina (Bula)**. Disponível em: <<http://paclimed.com.br/wp-content/uploads/2014/12/Cloridrato-de-Doxorubicina.pdf>>. Acesso em: 16 mar. 2016.

GOREN, D.; GABIZON, A.; BARENHOLZ, Y. The influence of physical characteristics of liposomes containing doxorubicin on their pharmacological behavior. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1029, p. 285-294, 1990.

GREISH, K. et al. **Enhanced permeability and retention (EPR) effect and tumor-selective delivery of anticancer drugs**. V.P. Torchilin (Ed.), *Delivery of Protein and Peptide Drugs in Cancer*, Imperial College Press, London, p. 37-52, 2006.

GREISH, K. et al. Macromolecular therapeutics: advantages and prospects with special emphasis on solid tumor targeting. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 42, p. 1089-1105, 2003.

GREMIÃO, M. P. D. **Sistemas de Liberação de Fármacos**. 2012. 331 f. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2012.

GUTERRES, S. S.; ALVES, M. P.; POHLMANN, A.R. Polymeric Nanoparticles, nanospheres and nanocapsules for cutaneous applications. **Drug Target Insights**, v. 2, p. 147-157, 2007.

GUTERRES, S.; POHLMANN, A. **Relatório de Acompanhamento Setorial. Nanotecnologia na área da saúde: mercado, segurança e regulação**. ABDI: 2013. Disponível em: <www.abdi.com.br/Estudo/relatorio-nanotecnologia.pdf>. Acesso em: 04 jan. 2015.

HARE, J. I. et al. Challenges and Strategies in anti-cancer nanomedicine development: an industry perspective. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.108, p. 25-38, 2017.

HEALTH CANADA. **Polity Statement on Health Canada's Working Definition for Nanomaterial**. Outubro de 2011. Disponível em: <<http://www.hc-sc.gc.ca/sr-sr/pubs/nano/pol-eng.php>>. Acesso em: 02 ago. 2014.

HOEHENER, K; HOECK, J. **Safe Implementation of Innovative Nanoscience and Nanotechnology (SINN)**. Deliverable 2.6 Draft (M30): Consolidated Framework for EHS of Manufactured Materials, 02 de Julho de 2013. Disponível em: http://www.siinn.eu/bin/SIINN_Consolidated_Framwork_EHS_Draft_2013-07_02.pdf. Acesso em: 20 fev. 2015.

HORI, K. et al. Fluctuations in tumor blood flow under normotension and the effect of angiotensin II-induced hypertension. **Japanese journal of cancer research**, v. 82, p. 1309-1316, 2001.

HORTOBAGYI, G. N. Anthracyclines in the treatment of cancer. An overview. **Drug**, v. 54, n. 4, p. 1-7, 1997.

HU, F. Q. et al. Nimodipine loaded lipid nanospheres prepared by solvent diffusion method in a drug saturated aqueous system. **International Journal of Pharmaceutics**, v.348, p. 146-152, 2008.

HUA, S.; WU, S. Y. The use of lipid-based nanocarriers for targeted pain therapies. **Frontiers in Pharmacology**, v. 4, n. 143, p. 1-7, 2013.

ICCR. International Cooperation on Cosmetic Regulation. **Report of the ICCR Joint Ad Hoc Working Group on Nanotechnology in Cosmetic Products: Criteria and Methods of Detection**. Julho de 2010. Disponível em: <http://ec.europa.eu/consumers/sectors/cosmetics/files/pdf/iccr5_nano_en.pdf>. Acesso em: 21 jan. 2015.

ICH. **Harmonized Tripartite Guideline. Pharmaceutical Development Q8 (R2)**. Genebra, 2009. Disponível em: <<http://www.ich.org/products/guidelines/quality/article/quality-guidelines.html>>. Acesso em: 20 set. de 2014.

ICH. **Harmonized Tripartite Guideline. Pharmaceutical Quality System Q10**. Genebra, 2008. Disponível em: <<http://www.ich.org/products/guidelines/quality/article/quality-guidelines.html>>. Acesso em: 20 set. 2014.

ICH. **Harmonized Tripartite Guideline. Quality Risk Management Q9**. Genebra, 2005. Disponível em: <<http://www.ich.org/products/guidelines/quality/article/quality-guidelines.html>>. Acesso em: 20 set. 2014.

INSTITUTO DE PESQUISA ECONÔMICA APLICADA. **O que é Marco Regulatório**; Brasília: Gráfica e Editora Palloti; Edição 19, Fevereiro de 2006, (?) Páginas. Disponível em: <http://www.ipea.gov.br/desafios/index.php?option=com_content&view=article&id=2093:catid=28&Itemid=23>. Acesso em: 07 jul. 2014.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Estatísticas do Câncer - Vigilância do Câncer e de Fatores de Risco**. Disponível em: <<http://www1.inca.gov.br/vigilancia/>>. Acesso em: 14 jun. 2016.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Standards Development, Technical Committeess ISO/TC 229: Nanotechnologies**. London: ISO/TC 229: 2005. Disponível em: <http://www.iso.org/iso/iso_technical_committee?commid=381983>. Acesso em: 10 ago. 2014.

JAMES, N. D. et al. Liposomal doxorubicin (Doxil): na effective new treatement for Kaposi's sarcoma in AIDS. **Clinical Oncology**, v. 6, p. 294-296, 1994.

JIANG, W.; LIONBERGER, R.; YU, L. X. In vitro and in vivo characterizations of PEGylated liposomal doxorubicin. **Bioanalysis**, v. 3, n. 3, p. 333-344, 2011.

JIANG, W.; YU, L. X. Modern Pharmaceutical Quality Regulations: Question-based Review. In: QIU, Y.; CHEN, Y.; ZHANG, G. G. A. **Developing Solid Oral Dosage Forms**: Pharmaceutical Theory and Practice. San Diego: Academia Press, 2009.

JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA. Recomendações 2011/696/EU: **Recomendação da Comissão sobre a Definição de Nanomaterial**. Outubro de 2011. Disponível em: <<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:275:0038:0040:PT:PDF>>. Acesso em: 18 jan. 2015.

JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA. Regulamento (CE) nº 1223/2009 do Parlamento Europeu do Conselho: **Relativo aos Produtos Cosméticos (Reformulação)**. Novembro de 2009. Disponível em: <<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:342:0059:0209:PT:PDF>>. Acesso em: 18 jan. 2015.

JOSHI, M.; PATRAVALE, V. Nanostructured lipid carrier (NLC) based gel of celecoxib. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 346, p. 124-132, 2008.

JURAN, J. M. A. **Qualidade desde o Projeto**: Novos Passos para o Planejamento da Qualidade em Produtos e Serviços. Traduzido por MONTINGELLI JÚNIOR, N. São Paulo: Cengage Learning, 2011.

KECK, C.; MÜLLER, H. Drug nanocrystals of poorly soluble drugs produced by high pressure homogenization. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 62, p. 3-16, 2006.

KECK, C.M.; MÜLLER, R.H. Nanotoxicological Classification system (NCS) – a guide for risk-benefit assessment of nanoparticulate drug delivery systems. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 84, n. 3, p. 445-448, 2013.

KLIBANOV, A. L. et al. Amphipathic polyethyleneglycols effectively prolong the circulation time of liposomes, **FEBS** (08706), v. 268, n. 1, p. 235-237, 1990.

KONING, G. A.; STORM, G. Targeted drug delivery systems for the intracellular delivery of macromolecular drugs. **Drug Discov. Today**, v. 8, p. 482-483, 2003.

KORAKIANITI, E.; D. REKKAS. Statistical thinking and knowledge management for quality-driven design and manufacturing in pharmaceuticals. **Pharmaceutical Research**, p. 1465-1479, 2010.

KOSTOFF, R.; KOYTCHIEFF, R.; LAU, C. Global nanotechnology research literature overview. **Technological Forecasting & Social Change**, v. 74, p. 1733-1747, 2007.

KREYLING, W.G.; BEHNKE, M. S.; CHAUDHRY, Q. A complementary definition of nanomaterial. **Nano Today**, v. 5, p. 165-168, 2010.

LASIC, D. D. Novel applications of liposomes. **Trends Biotechnol**, v. 16, n. 7, p. 307-321; 1998.

LEE, R. W.; SHENOY, D. B.; SHEEL, R. **Micellar nanoparticles: applications for topical and passive transdermal drug delivery** (Chapter 2). In: KYLKANI, V. S. (editor). *Handbook of Non-invasive Drug Delivery Systems*, Elsevier Inc., Burlington, USA, p. 37-58, 2010.

LIONBERGER, R. A. et al. Qualiby by Design: Concepts for ANDAs (Review Article). **American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 10, n. 2, p. 268-276, 2008.

MAEDA, H. **The enhanced permeability and retention (EPR) effect in tumor vasculature: the key role of tumor-selective macromolecular drug targeting**. G. Weber (Ed.), *Advances in Enzyme Regulation*, Elsevier Science Ltd, Oxford, p. 189-207, 2001.

MAEDA, H.; BHARATE, G. Y.; DARUWALLA, J. Polymeric drugs for efficient tumor-targeted drug delivery based on EPR-effect. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v. 71, n. 3, p. 409-419, 2009.

MAINARDES, R. M. et al. Liposomes and micro/nanoparticles as colloidal carriers for nasal drug delivery. **Current Drug Delivery**, v. 3, p. 275-285, 2006.

MARQUES, I.; LOPES, C. M.; SOUTO, E. B. Novos Sistemas Terapêuticos Nanotecnológicos. **Revista da Faculdade de Ciências da Saúde**, p. 60-68, 2009.

MARTIN, F. J.; PAPAHAADJOPOULOS, D.; Irreversible coupling of immunoglobulin fragments to preformed vesicles. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 257, n. 1, p. 286-288, 1982.

MATSUMURA, Y.; MAEDA, H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumortropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs, **Cancer Research**, v. 46, p. 6387-6392, 1986.

MEHNERT, W.; MÄDER, K. Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 47, p. 165-196, 2001.

MELO, C. S.; CUNHA JUNIOR, A. S.; FIALHO, S. L. Formas farmacêuticas poliméricas para a administração de peptídeos e proteínas terapêuticos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada**. v. 33, n. 4, p. 469-477, 2012.

METSELAAR, J. M.; STORM, G. Liposomes in the treatment of inflammatory disorders. **Expert Opinion on Drug Delivery**, p. 465-476, 2005.

MOHANRAJ, V.J.; CHEN, Y. Nanoparticles – A Review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 5, n. 1, p. 561-573, 2006.

MÖSCHWITZER, J.P. Drug Nanocrystal in the Commercial pharmaceutical development process. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, n.1, p. 142-156, 2013.

MOURÃO, S.C. et al. Improvement of antischistosomal activity of praziquantel by incorporation into phosphatidylcholine-containing liposomes. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 295, p. 157-162, 2005.

MOURITSEN; O. G.; JORGENSEN, K. A new look at lipid–membrane structure in relation to drug research. **Pharmaceutical Research**, v. 15, p. 1507-1519, 1998.

MUGGIA, F. et al. Liposomal doxorubicin (Doxil) is active against refractory ovarian cancer. **Proceedings, annual meeting of the American Society of Clinical**, v. 15, p. 287, 1996.

MÜLLER, R. H. et al. Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy. Rationale for development and what we can expect for the future. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 4, p. 3-19, 2001.

MÜLLER, R. H.; LUCKS, J. S. Medication vehicles made of solid lipid particles (solid lipid nanospheres - SLN). **European Patent N° 0605497**. Germany, 1996.

MURAD, A. M; KATZ, A. **Oncologia bases clínicas do tratamento**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro: 1996

NALWA, H. S.; (**Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology**, 25 Volume Set), 2009. Disponível em: <<http://www.aspbs.com/enn.html>>. Acesso em: 18 jul. 2016.

NANOMEDICINE European Technology Platform. 2012. Disponível em: <<http://www.etp-nanomedicine.eu/public/news-events/events/events-archive/etp-nanomedicinegeneralassembly2012/presentations/121030%20Moving%20nanomedicine%20towards%20H2020%20London.pdf>>. Acesso em: 19 mar. 2016.

NANOMEDICINE EUROPEAN TECHNOLOGY PLATAFORM. Website oficial da Nanomedicine European Technology Platform. Disponível em <<http://www.etp-nanomedicine.eu/public>>. Acesso em: 19 mar. 2016.

NANOPORTAL. Website oficial do Governo do Canadá. Disponível em: <<http://nanportal.gc.ca/default.asp?lang=En&n=23410d1f-1>>. Acesso em: 30 jul. 2014.

NANOTECNOLOGIA PUC RIO. Nanotecnologia: Introdução. Disponível em: <<http://nanotech.ica.ele.puc-rio.br/>>. Acesso em: 14 out. 2014.

NATIONAL SCIENCE AND TECHNOLOGY COUNCIL. **National Nanotechnology Initiative: Strategic Plan**. Fevereiro de 2011. Disponível em: <http://www.whitehouse.gov/sites/default/files/microsites/ostp/nni_strategic_plan_2011.pdf>. Acesso em: 23 jul. 2014.

OBEIDAT, W. M. et al. Preservation of nanostructured lipid carriers (NLC). **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 76, p. 56- 67, 2010.

O'DRISCOLL, C.M. L, GRIFFIN, B. T. Biopharmaceutical challenges associated with drugs with low aqueous solubility - The potential impact of lipid-based formulations. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, n. 6, p. 617-624, 2008.

OFFICIAL JOURNAL OF THE FRENCH REPUBLIC. Decree no. 2012-232 of 17 February 2012 on the annual declaration on substances at nanoscale in application of article R. 523-4 of the Environment code. Disponível em: <<https://www.r-nano.fr/?locale=en>>. Acesso em: 20 fev. 2015.

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.

PARK, Y. Young & Global Partners: **Nano-regulation in China, Japan, Korea, USA and EU** (Apresentação). 2012. Disponível em: <http://www.egg2012.de/tl_files/pdf/Paper/EGG2012_C6_1_Park_presentation_slides.pdf>. Acesso em 20 fev. 2015.

PARLAMENTO EUROPEU, Conselho da União Europeia. **Regulamento (CE) n.º 1907/2006**. CE, 2014. Disponível em <<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:02006R1907-20140410&qid=1490965781001&from=pt>>. Acesso em: 17 mar. 2015.

PEIXOTO, A. C. B. **Funcionalização de Nanopartículas Poliméricas para Liberação de Medicamentos Sítio-Dirigida**. 2013. 193 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-graduação e Pesquisa de Engenharia (COPPE), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

PETTITT M.E.; LEAD, J.R. Minimum physicochemical characterisation requirements for nanomaterial regulation. **Environmental International**. v. 52, p. 41–50, 2013.

PISANO, C. et al. Clinical Trials with Pegylated Liposomal Doxorubicin in the Treatment of Ovarian Cancer. **Journal of Drug Delivery**, p.1-12; 2013.

PONTE, M. V. V. **Gerenciamento de Riscos**. Rio de Janeiro: 2005. 114p.

PORPINO, K. K. P. **Biossorção de Ferro (II) por casca de caranguejo Ucidus Cordatus**. 2009. 89 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.

POSTE; G. Liposome targeting in vivo: problems and opportunities, **Biology of the Cell.**, v. 47, p. 19-37, 1983.

POTTER, C. Product Quality Lifecycle Implementation (PQLI) Application of Science and Risk-Based Approaches (ICH Q8, Q9 and Q10) to Existing Products. **Journal of Pharmaceutical Innovation**, v. 4, p. 4-23, 2009.

PROJECT MANAGEMENT INSTITUTE. **Um Guia do Conhecimento em Gerenciamento de Projetos: Guia PMBOK®**. Pennsylvania: Project Management Institute Inc., 2008.

RASCHI, E.; VASINA, V.; URSINO, M. G.; Anticancer drugs and cardiotoxicity: Insights and perspectives in the era of targeted therapy. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 125, p. 196-218, 2010.

RATHORE, A. S.; WINKLE, H.. Quality by Design for Biopharmaceuticals. **Nature Biotechnology**, v. 27, n. 1, p. 26-34, 2009.

RAWAT, M.; SINGH D.; SARAF S. Nanocarriers: Promising vehicles for bioactive drugs. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 29, p. 1790-1798, 2006.

RIEUX, A. et al. Nanoparticles as potential oral delivery systems of proteins and vaccines: A mechanistic approach. **Journal of Controlled Release**, v. 116, p. 1-27, 2006.

ROSSI-BERGMANN, B. A nanotecnologia: da saúde para além do determinismo tecnológico. **Ciência & Cultura**, v. 60, n. 2, 2008.

SALLES JÚNIOR, C. A. C.; SOLER, A. M.; VALLE, J. A. S.; RABECHINI JR., R. **Gerenciamento de Riscos em Projetos**. Reimpressão. Rio de Janeiro: Editora Fundação Getúlio Vargas, 2007.

SALMON, S. E.; SARTORELLI, A. C. Quimioterapia do câncer. In: KATZUNG, B. G. (Ed.). **Farmacologia básica e clínica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2003. p. 803-832,

SANTOS, F. K. **Desenvolvimento e avaliação de dispersões lipídicas nanoestruturadas contendo praziquantel**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2011.

SAWYER, D. B.; PENG, X.; CHEN, B. Mechanisms of anthracycline cardiac injury: Can we identify strategies for cardioprotection? **Prog Cardiovasc Dis**, v. 53, p.105-113, 2010.

SCHAFFAZICK, S. R. et al. Caracterização e Estabilidade Físico-Química de Sistemas Poliméricos Nanoparticulados para Administração de Fármacos. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.

SEETAPAN, N. et al. Rheological and morphological characterizations on physical stability of gamma-oryzanol-loaded solid lipid nanoparticles (SLNs). **Micron**, v. 41, p. 51-58, 2010.

SERCOMBE, L. et al. Advances and challenges of liposome assisted drug delivery. **Frontiers in Pharmacology**, v. 6, n. 286, p.1-13, 2015.

SILER-MARINKOVIC, S. et al. Liposomes as carriers of antimicrobial drugs. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 23, n. 5, p. 483-488, 1997.

SINDUSFARMA; MORETTO, L. (apresentação); CALIXTO, J. (coordenação); (vários colaboradores). **Boas Práticas de Desenvolvimento de Produtos**. Volume 4. São Paulo: SINDUSFARMA, Sindicato da Indústria de Produtos Farmacêuticos no Estado de São Paulo, 2009.

SOUTO, E. B. et al. A note on regulatory concerns and toxicity assessment in lipid-based delivery systems (LDS). **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 5, n. 4, p. 317-322, 2009.

SOUTO, E. B. et al. Preparation and characterization of n-dodecyl-ferulate-loaded solid lipid nanoparticles (SLN®). **International Journal of Pharmaceutics**, v. 295, p. 261-268, 2005.

SOUZA, A. L. R. **Desenvolvimento de nanopartículas lipídicas sólidas contendo praziquantel**. 2011. 92 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara, 2011.

STATE SECRETARIAT FOR ECONOMIC AFFAIR, CHEMICAL AND OCCUPATIONAL Health (Suiça). **Safety Data Sheets (SDS): Guidelines for synthetic nanomaterials**. SECO, 2012. Versão 2.0. Disponível em: <<http://www.bag.admin.ch/nanotechnologie/12171/12176/index.html?lang=em>>. Acesso em: 20 fev. de 2015.

TEERANACHAIDEEKUL, V. et al. Cetyl palmitate-based NLC for topical delivery of Coenzyme Q10 – Development, physicochemical characterization and in vitro release studies. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 67 p. 141-148 2007.

THE ROYAL SOCIETY; THE ROYAL ACADEMY OF ENGINEERING. **Nanoscience and nanotechnologies**. London: The Royal Society, 2004. 127p. Disponível em: <https://royalsociety.org/~media/Royal_Society_Content/policy/publications/2004/9693.pdf>. Acesso em: 13 maio 2014.

TIAN, H. et al. Biodegradable synthetic polymers: Preparation, functionalization and biomedical application. **Progress in Polymer Science**. v. 37, p. 237-280, 2011.

TORCHILIN, V. P. Micellar nanocarriers: pharmaceutical perspectives. **Pharmaceutical Research**, v. 25, p. 1-16, 2007.

TORCHILIN, V. P. Multifunctional nanocarriers. **Advanced Drug Delivery**, v. 58, p. 1532-1555, 2006.

TORCHILIN, V. P. Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers. **Nature Reviews (Drug Discovery)**, v. 4; p. 145-160, 2005.

TORCHILIN, V. Tumor delivery of macromolecular drugs based on the EPR Effect. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 63, p. 131-135, 2011.

TYRRELL, Z. L.; SHEN, Y.; RADOSZ, M. Fabrication of micellar nanoparticles for drug delivery through the self-assembly of block copolymers. **Progress in Polymer Science**, v. 35, p. 1128 – 1143, 2010.

UBA; BFR; BAUA. **Nanomaterials and REACH - Background paper on the position of German Competent Authorities**. Berlin: Umwelt Bundesamt (UBA), Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR), Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA), 2013, 52 p. Disponível em: <<http://www.bfr.bund.de/cm/349/nanomaterials-and-reach.pdf>>. Acesso em: 20 fev. 2015.

UNIÃO EUROPEIA. Site Web oficial da União Europeia. Disponível em <http://europa.eu/index_pt.htm>. Acesso em: 12 ago. 2014.

UNITED NATIONS EDUCATIONAL, SCIENTIFIC AND CULTURAL ORGANIZATION. **The Ethics and Politics of Nanotechnology**. Paris: Unesco, 2006. 25 p. Disponível em: <<http://unesdoc.unesco.org/images/0014/001459/145951e.pdf>>. Acesso em: 18 jul. 2014.

UNITED STATES NATIONAL NANOTECHNOLOGY INITIATIVE. Disponível em: <www.nano.gov>. Acesso em: 20 jul. 2014.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. USP. **Official Monographs Doxorubicin Hydrochloride**. Volume 2. 32.ed. Rockville: United States Pharmacopoeial Convention, p. 2209, 2009.

VAN EERDENBRUGH, B. et al. Top-down production of drug nanocrystals: Nanosuspension stabilization, miniaturization and transformation into solid products. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 364, p. 64-75, 2008.

VEMURI, S.; RHODES, C. T. Preparation and characterization of liposomes as therapeutic delivery systems: a review. **Pharmaceutica Acta Helveticae**, Berne, v. 70, p. 95-111, 1995.

VERONESE; F. M.; PASUT; G. Pegylation, successful approach to drug delivery. **Drug Discovery Today**, 10, pp. 1451-1458, 2005.

VIEIRA, D. B.; GAMARRA, L. F. Avanços na utilização de nanocarreadores no tratamento e no diagnóstico de câncer. **Revendo Ciências Básicas (Einstein)**, v. 14, n. 1, p. 99-103, 2016.

VIGHI, E. et al. pDNA condensation capacity and in vitro gene delivery properties of cationic solid lipid nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 389, p. 254-261, 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guideline on Active Pharmaceutical Ingredient Master File (APIMF) Procedure**. Genebra (Suíça), 2007. Disponível em: <http://apps.who.int/prequal/info_applicants/Guidelines/APIMF_Guide.pdf>. Acesso em: 14 set. 2012.

XU, X. **Liposomal Drug Products: A Quality by Design Approach**. Doctoral Dissertations. University of Connecticut, 2012. Disponível em: <<http://digitalcommons.uconn.edu/dissertations/AAI3510520>>. Acesso em: 15 jul. 2016.

YU, L. X. Pharmaceutical Quality by Design: Product and Process Development, Understanding and Control. **Pharmaceutical Research**, v. 25, n. 4, p. 781-791, 2008.

ZETA POTENTIAL. Website da Malvern Instruments. Disponível em: <<http://www.malvern.com/en/products/measurement-type/zeta-potential/default.aspx>>. Acesso em: 12 ago. 2015.

APÊNDICE A - Aspectos Técnicos relacionadas às principais tecnologias utilizadas no desenvolvimento de medicamentos de base nanotecnológica.

A construção de um ambiente regulatório está também diretamente relacionada às tecnologias disponíveis e aplicadas no desenvolvimento de medicamentos de base nanotecnológica. Assim, foram levantados os principais aspectos técnicos relacionados aos nanomateriais e tecnologias considerando os produtos de base nanotecnológica disponíveis no mercado. Para esta avaliação foi realizada uma pesquisa do tipo exploratória, utilizando descritores específicos relacionados aos principais aspectos técnicos para cada tecnologia. Esta pesquisa não tem a intenção de esgotar cada tema, mas propõe-se integrar os principais aspectos para cada tecnologia usualmente utilizando no desenvolvimento de medicamentos de base nanotecnológica, bem como considerações a respeito da caracterização.

➤ Os Lipossomas

Alec Bangham, há quase 50 anos, com observações pioneiras de que fosfolípidos em meios aquosos podem formar estruturas fechadas em bicamadas, permitiu que estas estruturas viessem à tona e se tornassem objetos de intensa pesquisa como carreadores terapêuticos para numerosas aplicações clínicas (TORCHILIN, 2005). Na literatura são encontrados mais de 100.000 artigos descrevendo a aplicação de lipossomas, indicando o significativo interesse e a importância dos lipossomas para o meio científico (XU, 2012).

A nomenclatura lipossoma vem das terminologias gregas “lipo” que indica gordura e “soma” que significa corpo, descrevendo a composição e a estrutura da vesícula lipídica. Quimicamente os lipossomas são compostos por substâncias caracterizadas por uma parte hidrofílica e outra hidrofóbica, agrupadas. Lipossomas clássicos são compostos por lecitina, que apresentam duas cadeias de carbono (hidrofóbica), ligadas ao grupo hidrofílico - colina. Os lipossomas são usualmente esféricos, com tamanho variando de 20 nanômetros a micrômetros e com a bicamada lipídica com espessura de 4 a 5 nanômetros (XU, 2012). Os lipossomas são vesículas compostas de uma ou mais bicamadas lipídicas concêntricas, separando o conteúdo do meio aquoso. Estes sistemas lipídicos apresentam a habilidade única de permitir a incorporação de compostos lipofílicos, concentrados na bicamada lipídica, e hidrofílicos, concentrados no ambiente aquoso interno (KONING; STORM, 2003; METSELAAR; STORM, 2005; EDWARDS;

BAEUMNER, 2006; FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2015). Essas propriedades tornam os lipossomas candidatos interessantes para serem utilizados para o transporte de fármacos (LASIC, 1998).

Como sistemas de liberação, os lipossomas oferecem importantes vantagens como a biocompatibilidade, capacidade de se auto arranjar e de carrear diversos tipos de moléculas. A superfície dos lipossomas pode ser modificada para a obtenção de propriedades específicas (KONING; STORM, 2003; METSELAAR; STORM, 2005), conforme apresentado mais adiante.

Para a classificação de lipossomas, uma das características básicas é o tamanho. Os lipossomas podem ser classificados em pequenos – *small unilamellar vesicles* (SUV) ou grandes – *large unilamellar vesicles* (LUV). Outro critério é a classificação segundo o número de bicamadas que podem formar em torno do compartimento central. Os lipossomas podem conter uma única bicamada ou múltiplas sendo classificados, respectivamente, como unilamelar (*unilamellar vesicles* – ULV) ou multilamelar (*multilamellar vesicles* – MLV). Outro critério utilizado para classificar um lipossoma está relacionado ao método de preparação: Vesículas obtidas por Evaporação em Fase Reversa (*Reverse-Phase Evaporation Vesicles* - REV); Vesículas obtidas por Prensa de Frech (*French Press Vesicle* – FPV) ou Vesículas obtidas por Injeção de Éter (*Ether Injection Vesicles* – EIV). Assim, os lipossomas podem ser classificados segundo os três critérios, tornando a classificação um tanto confusa, conforme compilado na Tabela 17. A descrição segundo tamanho e lamelaridade são as mais usuais (VEMURI; RHODES, 1995).

Tabela 17 - Nomenclatura e Tamanho aproximado de Lipossomas.

Classificação	Classes	Tamanho aproximado (nm)
Por Tamanho	SUV	25 – 50
	LUV	100
Por Lamelaridade	MLV	50 – 10.000
	ULM	25 – 100
Por Método	REV	500
	FPV	50
	EIV	20

Fonte: Vemuri e Rhodes, 1995.

No que diz respeito à composição, características de superfície e carga, desde os primeiros estudos básicos e clínicos até os dias atuais, os lipossomas passaram por intensa

evolução tecnológica. Na evolução como carreadores de fármacos, pode-se classificar, de maneira geral, os lipossomas em três grupos: lipossomas convencionais, estericamente estabilizados e direcionados ou sítio-específicos. Também é possível a combinação destes grupos (SERCOMBE et al., 2015).

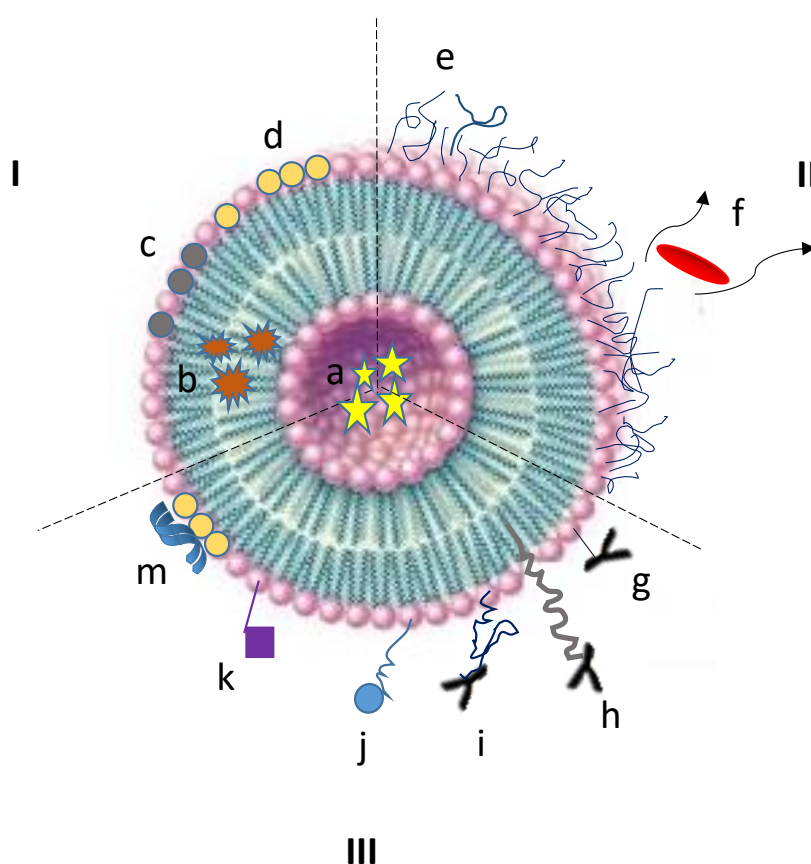
Lipossomas convencionais representam a primeira geração dos lipossomas desenvolvidos. São compostos de fosfolipídeos e colesterol e podem conter lipídeos com carga neutra, negativa ou positiva, sendo os dois últimos usuais para evitar a agregação das vesículas e para aumentar a estabilidade. Esta vesícula lipofílica, enclausurando um conteúdo aquoso, permite a concentração de fármacos, respectivamente, lipofílicos ou hidrofílicos conforme evidenciado na **Erro! Fonte de referência não encontrada.**22 (VEMURI; RHODES, 1995; TORCHILIN, 2005; SERCOMBE et al., 2015).

Entre os anos de 1980 e 1990 houve muitas investigações para o uso clínico de lipossomas convencionais (JAMES et al., 1994; MUGGIA et al., 1996; BATIST et al., 2001; BLADÉ et al., 2011; BARENHOLZ, 2012). Os estudos indicam que os lipossomas convencionais reduzem a toxicidade de compostos *in vivo*, por meio de alterações farmacocinéticas e de biodistribuição com direcionamento passivo do sistema de liberação para as regiões alvo, em comparação a administração do fármaco livre (AMSELEN; COHEN; BARENHOLZ, 1993; BARENHOLZ, 2012; PISANO et al., 2013). Entretanto, dados *in vivo* também indicaram que estes lipossomas são rapidamente reconhecidos pelo sistema fagocitário mononuclear e assim são rapidamente removidos de circulação sanguínea (VEMURI; RHODES, 1995; TORCHILIN, 2005). Esta remoção rápida ocorre pela opsonização e pela retirada por macrófagos do sistema reticuloendotelial (RES), ocorrida principalmente no fígado e baço (BARENHOLZ, 2012; HUA; WU, 2013). A remoção ocorre, especialmente, para lipossomas maiores e carregados, resultando em um tempo de meia-vida na corrente circulatória menor que 1 hora (BARENHOLZ, 2012; HUA; WU, 2013).

Para aumentar a estabilidade e promover maior tempo de circulação, a segunda geração dos lipossomas estericamente estabilizados foi introduzida. A obtenção desses lipossomas ocorre por diferentes métodos, incluindo o revestimento da superfície com componentes hidrofílicos. A introdução de polímeros hidrofílicos na superfície, entre eles naturais, como monossialogangliosídeo GM1 e fosfatidilinositol, ou sintéticos, como os polietilenoglicóis (PEG), resultou em uma ótima alternativa para aumentar o tempo de circulação. A maior estabilidade se deve à introdução de uma barreira hidrofílica que reduz a opsonização de componentes séricos *in vivo*, com consequente redução no

reconhecimento molecular e captura pelas células do sistema fagocitário mononuclear. Assim, por meio dessa camada hidrofílica são obtidos lipossomas furtivos, com maior tempo de circulação (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**22). Gabizon e Papahadjopoulos (1988), por meio da obtenção de lipossomas furtivos, registraram aumento em 60 vezes na quantidade recuperada de lipossomas na circulação após 24 horas da administração intravenosa. Além disso, os dados indicam uma redução em 4 vezes da quantidade recuperada e armazenada no fígado e baço e um aumento em 25 vezes na concentração em tumores para o lipossoma peguilado.

Figura 22 - Evolução tecnológica dos Lipossomas



I - Lipossomas convencionais, constituído por fosfolípidos formando uma vesícula que encerra conteúdo aquoso com fármacos hidrofílicos (a) ou fármacos lipofílicos na bicamada lipídica (b). Presença de lipídeos aniônicos (c) ou catiônicos (d) para reduzir agregação entre vesículas. **II** - Lipossomas estericamente estabilizados revestidos com camada PEG (e) que forma uma barreira hidrofílica que reduz interação proteínas opsonizantes (f) tornando os lipossomas furtivos. **III** - Lipossomas direcionados ou sítio-específicos. Imuno-lipossoma com anticorpo ligado diretamente à superfície (g), ligado à camada fosfolipídica previamente modificada (h) ou ligado à camada PEG previamente incluída (i). Lipossoma com peptídeos e proteínas ligantes de superfície (j). Lipossoma marcado com agentes de diagnóstico (k) ou com lipídeos catiônicos complexados com DNA (m). Fonte: Próprio autor.

Estes lipossomas estericamente estabilizados e furtivos passaram a ser investigados na área biomédica e na prática clínica (KLIBANOV et al., 1990; BLUME; CEVC, 1993; GABIZON et al., 1994, 2003; GABIZON, 2001; BARENHOLZ, 2012). Lipossomas furtivos demonstraram-se dose-independente, não saturáveis, com cinética linear e com maior biodistribuição (ALLE; HANSEN, 1991¹⁷ *apud* TORCHILIN, 2005).

O direcionamento de lipossomas para determinadas regiões pode ocorrer de maneira passiva ou ativa. No tratamento de cânceres com quimioterápicos é possível utilizar lipossomas para o encapsulamento de fármacos e direcionar estes agentes para regiões próximas ao tumor, reduzindo assim os efeitos causados às células saudáveis.

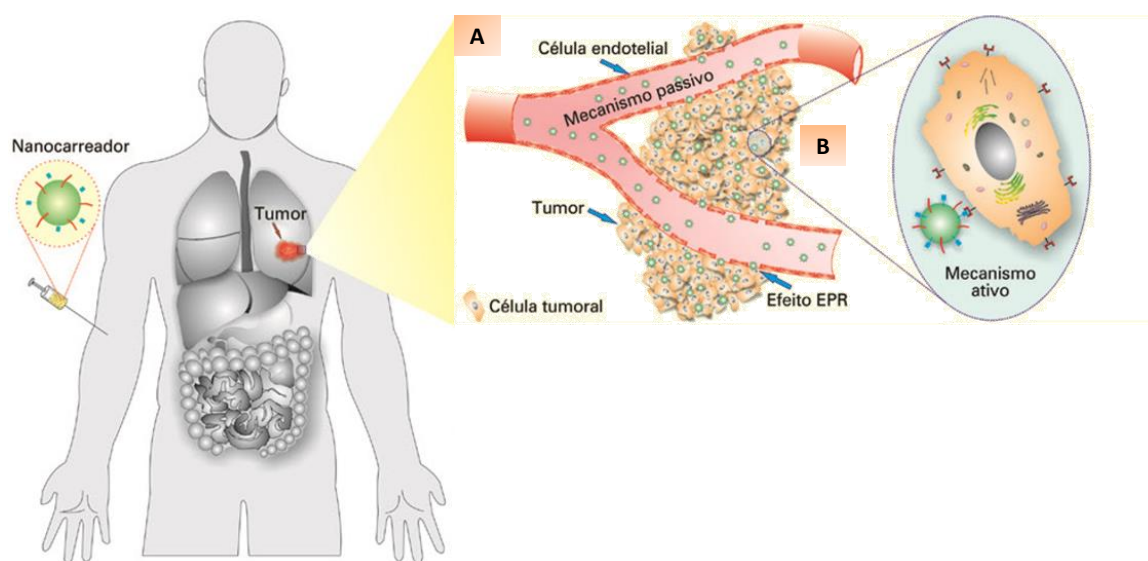
Para que o direcionamento ocorra de maneira passiva, pode-se utilizar do efeito de Elevação da Permeabilidade e Retenção (do inglês *Enhanced Permeability and Retention* – EPR) típico de regiões tumorais. Este efeito EPR foi relatado pela primeira vez por Matsumura e Maeda (1986) e foi revisado por Maeda, Bharate e Daruwalla (2009). Estes autores mostraram que proteínas maiores do que 40 kDa acumulavam-se seletivamente em tecidos tumorais e eram retidas em tecidos tumorais por longos períodos. Após 24 horas da administração intravenosa, o acúmulo de macromoléculas em tecidos tumorais era de 10 a 200 vezes maior do que em tecidos normais. Pesquisas utilizando corantes ligados à albumina, evidenciaram visualmente o significativo acúmulo nas bordas das regiões tumorais, locais de alta angiogênese (FANG; NAKAMURA; MAEDA, 2011).

Este fato foi investigado e hoje sabe-se que a maioria dos tumores sólidos têm vasos sanguíneos estruturalmente “defeituosos”, incluindo células endoteliais com fenestrações de largura, alinhamento vascular irregular, ausência de uma camada de músculo liso ou inervação e produzem grandes quantidades de fatores de permeabilidade vascular (HORI et al., 2001; GREISH et al., 2003, 2006). Nestes casos, o fluxo do sangue apresenta-se irregular, inconsistente e com comportamento variável (HORI et al., 2001). Sob a ótica biológica, esta permeabilidade aumentada favorece o maior fornecimento de nutrientes e oxigênio, ação importante para o crescimento rápido das células nos tecidos tumorais. Usufruindo desta natureza anatomo-fisiopatológica única dos vasos sanguíneos tumorais, pode-se delinear lipossomas com tamanho adequado para utilizar do efeito EPR para atingir as regiões tumorais, mas com tamanho inadequado para se deslocar para regiões extravasculares de tecidos saudáveis, onde a permeabilidade vascular é reduzida

¹⁷ Allen, T. M; Hansen, C. Pharmacokinetics of stealth versus conventional liposomes: effect of dose. *Biochim. Biophys. Acta*, v. 1068, p. 133-141, 1991.

(FANG; NAKAMURA; MAEDA, 2011). Partículas com tamanho entre 200 e 800nm acumulam no espaço intersticial de regiões tumorais (Figura 23), enquanto que partículas com tamanho de 100nm ou menores, são favorecidas para acumulação (BARENHOLZ, 2012). Além de facilitar o deslocamento para a área intersticial, a reduzida presença de drenagem linfática (MAEDA, 2001; FANG; NAKAMURA; MAEDA, 2011) facilita a permanência destas macromoléculas nestas regiões, facilitando a acumulação (TORCHILIN, 2011).

Figura 23 - Ilustração da administração endovenosa de uma nanopartícula



A) Região tumoral com células endoteliais com fenestrações de largura e estrutura vascular comprometida. Efeito EPR pronunciado e facilidade de acúmulo intersticial de nanopartícula – mecanismo passivo B) Nanopartículas em meio às células alvo e mecanismos ativos. Fonte: Adaptado de Vieira e Gamarra, 2016.

O efeito EPR se tornou um “padrão ouro” para o desenvolvimento de estratégias e sistemas para o tratamento do câncer (FANG; NAKAMURA; MAEDA, 2011; TORCHILIN, 2011).

Quando se planeja sistemas com o objetivo de liberar agentes terapêuticos às células, é importante ressaltar que o efeito EPR facilita ultrapassar a primeira barreira de um conjunto de outras que devem ser ultrapassadas, até que as partículas atinjam as células alvo. Uma segunda barreira importante a ser ultrapassada é a matriz que envolve as células. Muitos tecidos tumorais são cercados por uma matriz gelificada derivada da coagulação de fibrinas, estroma ou são nódulos encapsulados por fibroblastos. Além disso, há outra barreira a ser transposta que é a membrana das células. Assim, sistemas

de internalização ou transportadores eficientes podem ser requeridos para se conseguir, de maneira eficaz, a internalização de agentes terapêuticos nas células. O efeito EPR irá conduzir as macromoléculas ao tecido do tumor, no entanto, o objetivo final é o acesso dos agentes terapêuticos aos locais de ação (FANG; NAKAMURA; MAEDA, 2011). Dessa forma, surge a terceira geração dos lipossomas (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**22), uma alternativa tecnológica que visa aumentar a interação dos lipossomas na região e/ou com as células alvo, elevando a quantidade de fármaco liberado nas células, com o uso de lipossomas direcionados ou sítio-específicos (BATISTA et al., 2007), utilizando de mecanismos ativos para a interação.

A preparação de lipossomas com superfície quimicamente modificada permite controlar características desejadas por meio da conjugação com proteínas, peptídeos, polímeros ou outras moléculas à superfície do lipossoma. As modificações têm vários objetivos e envolvem um grande número de agentes modificadores (TORCHILIN, 2005). Os lipossomas, em geral peguילים, se tornam alvo-específicos quando acoplados com anticorpos (ALLEN et al., 1995), imunoglobulinas (MARTIN; PAPAHA DJOPOULOS, 1982), lecitina (ANN CLARK et al., 2001), folato (ANDRESEN; JENSEN; JORGENSEN, 2005), entre outros, de maneira a favorecer o reconhecimento e a internalização nas células alvo.

Incluir um determinado ligante torna-se útil na preparação de lipossomas alvo-específicos, podendo incluir carreadores identificados para monitorar o deslocamento dos lipossomas ou produzir preparações de contraste para diagnóstico por imagem. Incorporar derivados lipídicos ou polímeros carregados positivamente permite a ligação de moléculas de DNA e facilita processos de transferência celular. Incluir anticorpos ou antígenos pode ser útil na preparação de lipossomas utilizando estratégias imunológicas. Lipossomas como carreadores de proteínas, peptídeos ou anticorpos monoclonais podem aumentar a eficiência terapêutica e diminuir efeitos colaterais, modular respostas imunológicas, formar agentes de diagnóstico; entregar a determinadas células moléculas de DNA para a produção *in situ* de proteínas terapeuticamente ativas (usualmente enzimas) ou ainda gerar revestimento proteico para investigação detalhada das funções destes componentes *in vivo* (TORCHILIN, 2005).

Algumas questões críticas tornam as técnicas de direcionamento ativo um grande desafio e encontram-se em estágio menos avançado quando se compara com as técnicas passivas. Xu (2012) discute que para se ter o direcionamento é necessário ultrapassar três barreiras: i) a presença de moléculas direcionadoras pode desestabilizar os lipossomas e

afetar diretamente as propriedades farmacocinéticas; ii) o acúmulo no compartimento intersticial pode obstruir etapas posteriores e, iii) após internalização, os fármacos devem se libertar da estrutura para promover efeito antes de desencadear rotas de degradação. A ausência de produtos no mercado utilizando estas tecnologias indica, possivelmente, o significativo impacto desses desafios para que os produtos alcancem a prática clínica.

A medida que a tecnologia se torna mais avançada e sofisticada, mais complexas tornam-se as evidências de regularidade e a necessidade da supervisão regulatória.

➤ **As Nanopartículas Poliméricas**

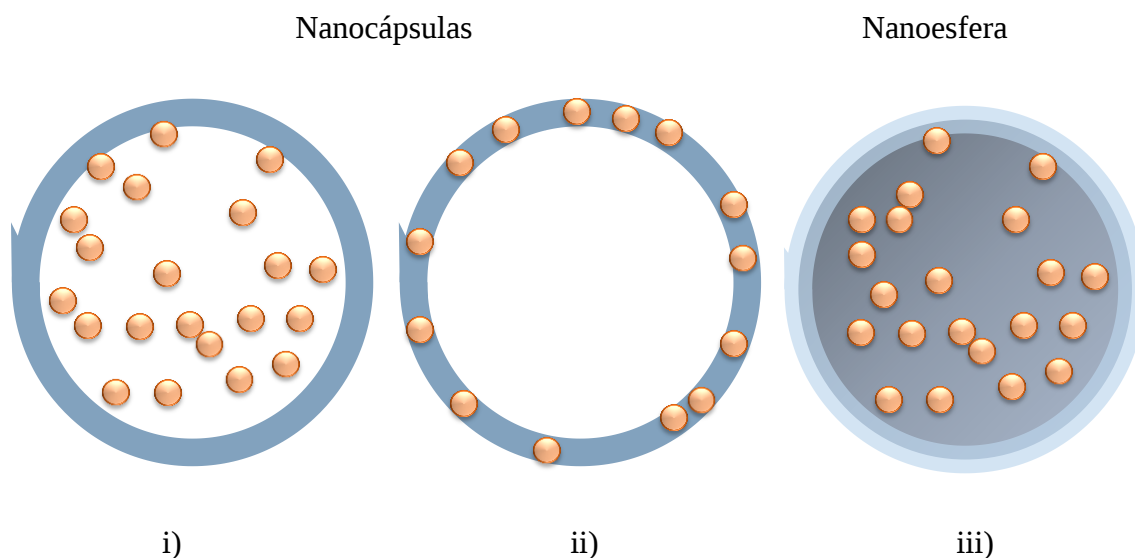
As nanopartículas poliméricas são sistemas coloidais compostos por polímeros naturais, sintéticos ou semissintéticos que estão ganhando cada vez mais espaço no encapsulamento de fármacos, muitas vezes associados às tecnologias para liberar de maneira controlada fármacos (AZEVEDO, 2002; RAWAT, 2006; PEIXOTO, 2013).

Estes sistemas oferecem importantes possibilidades como maior eficácia terapêutica por meio da liberação progressiva e controlada do agente terapêutico; diminuição da toxicidade e maior tempo de permanência na circulação sanguínea; administração segura, sem reações inflamatórias locais, e menor número de doses; direcionamento à alvos específicos com incorporação tanto de substâncias hidrofílicas quanto lipofílicas (AZEVEDO, 2002).

O termo nanopartículas poliméricas inclui as nanocápsulas e as nanoesferas (Figura 24). As nanocápsulas são constituídas por um invólucro polimérico disposto ao redor de um núcleo oleoso, em que o fármaco pode estar dissolvido no núcleo e/ou adsorvido à parede polimérica. Já as nanoesferas caracterizam-se pela presença de uma matriz polimérica sólida, em que o fármaco fica retido ou adsorvido (COUVREUR; DUBERNET; PUISIEUX, 1995; SCHAFFAZICK et al., 2003; GUTERRES, et al. 2007).

A liberação do fármaco, a partir dessas estruturas para o sistema biológico, está diretamente relacionada às características de difusão do fármaco ou com a desintegração da estrutura. Assim, as propriedades do fármaco, bem como as do polímero, apresentam significativa influência na liberação da substância ativa (AZEVEDO, 2002; RIEUX et al., 2006; TORCHILIN, 2006; DELGADO, 2013). Para a seleção do polímero no planejamento do sistema, no geral, considera-se: biocompatibilidade, velocidade de degradação, facilidade de obtenção ou produção do polímero (RIEUX et al., 2006).

Figura 24- Representação esquemática de nanocápsula e nanoesfera polimérica



i) fármaco dissolvido no núcleo oleoso da nanocápsula; ii) fármaco adsorvido à parede polimérica das nanocápsulas; iii) fármaco retido, adsorvido ou disperso molecularmente na matriz polimérica das nanoesferas. Fonte: Adaptado de Schaffazick e colaboradores (2003).

Para Delgado (2013), os polímeros biodegradáveis são, de forma geral, os preferidos para o desenvolvimento de nanopartículas devido ao fato de serem facilmente eliminados pelo organismo. A biodegradação pode ser programada para ocorrer em poucas horas ou resistir a dias ou mesmo semanas. Dentre os polímeros biodegradáveis naturais pode-se citar: albumina, celulose, colágenos, alginato e quitosano; dentre os sintéticos temos o poli(ácido lático) (PLA), a poli(ϵ -caprolactona) (PCL) e o poli(metacrilato de metila) (PMMA) (SCHAFFAZICK et al., 2003; RIEUX et al., 2006).

As nanopartículas poliméricas são preparadas por diversos métodos (SCHAFFAZICK et al., 2003), entretanto, os processos podem ser classificados em duas grandes categorias: i) preparação a partir de reações de polimerização de monômeros ou, ii) através de polímeros, sintéticos ou naturais, previamente formados. No caso dos métodos que envolvem reações de polimerização de monômeros pode-se requerer processos adicionais de purificação do material obtido, de maneira a eliminar moléculas residuais do meio de polimerização. Já a utilização de métodos baseados em macromoléculas ou polímeros pré-formados tem a facilidade de reduzir etapas e baseia-se na precipitação dos polímeros sintéticos ou por desnaturação e/ou solidificação de moléculas (COUVREUR; DUBERNET; PUISIEUX, 1995; SCHAFFAZICK et al., 2003).

Em um compilado publicado por Schaffazick e colaboradores (2003), tem-se que independentemente do método de preparo, com o tempo, pode ocorrer agregação de partículas, com consequente precipitação e instabilidade química do polímero isolado ou na presença do fármaco. Assim, muitas vezes as preparações líquidas são substituídas por preparações liofilizadas ou secas por métodos de secagem por aspersão. O material seco pode ser direcionado para a formação de formas farmacêuticas sólidas, como comprimidos e cápsulas.

Como avaliado anteriormente, os polímeros exercem funções extremamente relevantes na formação das nanopartículas e, portanto, devem ser bem avaliados e caracterizados, em conformidade com o alvo da formulação preparada.

➤ **Nanopartículas lipídicas**

Nanopartículas lipídicas têm sido empregadas com o objetivo de melhorar a biodisponibilidade de fármacos lipofílicos por meio do aumento da solubilização do fármaco no trato gastrointestinal e em outros fluidos fisiológicos. Esses sistemas podem contribuir também no estudo dos mecanismos de transporte através de membranas biológicas. Várias alternativas tecnológicas que melhoram as propriedades biofarmacêuticas de fármacos pouco solúveis em água têm focado no desenvolvimento de sistemas lipídicos, como lipossomas, e ainda nas nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) e nanocarreadores lipídicos sólidos (NCLS). Esses sistemas possuem a capacidade de compartimentalizar, de maneira eficiente, diversos grupos de agentes terapêuticos e de modificar as propriedades e o comportamento de substâncias ativas em meio biológico (SILER-MARINKOVIC et al., 1997; MOURÃO et al., 2005; O'DRISCOLL; GRIFFIN, 2008).

O termo NLS foi introduzido na década de 1990 (GASCO, 1993, MÜLLER; LUCKS, 1996) e apresentam uma matriz sólida que protege as moléculas de fármacos incorporados contra a degradação química, possuem um amplo espectro de aplicação, podendo ser administradas por diferentes vias de administração, além de apresentarem custo relativamente baixo dos excipientes e facilidade de escalonamento (SOUTO et. al., 2005, 2009; HU et al., 2008). A matriz das NLS é composta por lipídios, que são sólidos em temperatura ambiente e corporal, tensoativo (s) e água. Os lipídios podem ser triglicerídeos, diglicerídeos, monoglicerídeos, ácidos graxos e ceras. Todas as classes de tensoativos (iônico ou não-iônico com diferentes pesos moleculares) têm sido utilizadas

para estabilizar a dispersão lipídica e a sua escolha depende da via de administração (MEHNERT; MÄDER, 2001).

As NLS são sistemas que combinam as vantagens das nanopartículas poliméricas (matriz sólida) e dos lipossomas e emulsões, mas evitando algumas das suas desvantagens em relação à estabilidade e à possibilidade de escalonamento (MÜLLER et al., 2008; SANTOS, 2011; SOUZA, 2011). As NLS apresentam um tamanho coloidal entre 50 e 1000 nm e podem ser utilizadas como sistemas carreadores para fármacos hidrofóbicos e, com menor capacidade de carga, para fármacos hidrofílicos (FRICKER et al., 2010; SEETAPAN et al., 2010; VIGHI et al., 2010).

A maioria dos lipídios utilizados na preparação das NLS são excipientes comercialmente disponíveis para uso cosmético ou preparações farmacêuticas (JOSHI; PATRAVALE, 2008). O tensoativo modifica a distribuição do tamanho das partículas e o potencial zeta. A escolha dos tensoativos depende não somente das propriedades das partículas, mas também dos fármacos e da via de administração (JOSHI; PATRAVALE, 2008).

As NLS podem ser obtidas por vários métodos descritos na literatura, entre eles: microemulsão a quente, emulsificação e evaporação de solvente, difusão de solvente, homogeneização a quente empregando alto cisalhamento e/ou ultrassom, homogeneização à alta pressão, entre outros.

Outro sistema que tem sido muito explorado é denominado pela literatura de Nanocarreadores Lipídicos Sólidos (NCLS). Enquanto as NLS são produzidas a partir de lipídios sólidos, os NCLS são compostos de matrizes que contêm lipídios sólidos e líquidos. Uma das vantagens que os NCLS possuem em relação às NLS inclui uma capacidade maior de incorporação de fármacos, devido à presença do lipídio líquido (que pode favorecer a solubilização de fármacos), e maior estabilidade das partículas durante o armazenamento (FANG et al., 2008; TEERANACHAIDEEKUL et al., 2007). A presença de lipídio líquido na matriz também reduz a temperatura necessária para fundir o material lipídico (JOSHI; PATRAVALE, 2008; OBEIDAT et al., 2010). Além disso, os NCLS podem ser administrados pela via oral, ocular, pulmonar e intravenosa (TEERANACHAIDEEKUL et al., 2007).

➤ Nanocristais e Nanossuspensões

Cerca de 40% de novos fármacos produzidos apresentam problemas de baixa disponibilidade causada, principalmente, pela insolubilidade em fluídos biológicos (FANGUEIRO et al., 2012). Para Durán e colaboradores (2010), a alta biodisponibilidade de um fármaco pode ser obtida com nanocristais com diâmetro entre 200 e 400 nm. Nesta faixa também é possível a aplicação de fármacos por via intravenosa, já que o tamanho das partículas é menor que o diâmetro de vasos capilares (entre 5 e 6 μm), assim os nanocristais podem ser utilizados nas mais diversas vias de administração (MARQUES; LOPES; SOUTO, 2009). Essa tecnologia é promissora e o primeiro produto lançado no mercado ocorreu em 2000 – o Emend[®] (FANGUEIRO et al., 2012).

As definições e as formas de obtenção dos nanocristais ainda não são um consenso (Tabela 18) e causam certa dúvida mesmo entre pesquisadores especializados na área. A definição sobre o termo nanocristal requer o entendimento sobre um conjunto de fatores comuns a sistemas nanoparticulados, como o reconhecimento de um tamanho de partícula ideal em escala nanométrica, o uso de tensoativos, o aspecto físico e o estado sólido do nanoparticulado formado, as propriedades físico-químicas desejadas para este tipo de sistema e outros (BASTOS, 2015).

Tabela 18 - Definições de Nanocristais por diversos autores

Autor	Definições
Gao et al., 2012	Nanocristais, um sistema de liberação de fármacos livre de carreador, consiste essencialmente de cristais de fármacos e uma quantidade mínima de agente surfactante requerido para estabilização, que vem sendo aplicado em formulações com fármacos pouco solúveis. Com tamanho de partícula na escala nanométrica e com grande área superficial, eles podem aumentar de maneira significativa a velocidade de dissolução e a solubilidade de fármacos insolúveis.
Fangueiro et al., 2012	Nanocristal de fármaco caracteriza-se por ser uma partícula de dimensão menor que 100 nm, que apresenta enorme interesse tecnológico devido às suas propriedades termodinâmicas.
Möschwitzer, 2013	Nanocristais consistem, principalmente, de fármacos. Eles são normalmente preparados em meio aquoso, o qual contém estabilizantes para atingir o estado coloidal.
Mohanraj e Chen, 2006	Os nanocristais consistem principalmente em partículas minúsculas do ativo, entre 10 e 1000 nm de tamanho.

Fonte: Adaptado de Bastos, 2015.

Nanocristais surgem como uma promissora estratégia para o desenvolvimento de fármacos pouco solúveis, pois o processo de formulação é simples e de fácil escalonamento (BASTOS, 2015). Os nanocristais podem ser preparadas pelos métodos *top-down*, técnicas que reduzem o tamanho do cristal pela força do atrito aplicado, e *bottom-up*, técnicas que usam a simples precipitação. As tecnologias *top-down* são métodos de desintegração obtidos em equipamentos como o moinho de bolas e HPH (homogeneizador de alta pressão - do inglês *High Pressure Homogenizer*). Já as tecnologias *bottom-up* iniciam seu processo com dissolução em solvente adequado e depois precipitação pela adição de outro solvente com polaridade diferente do anterior (KECK; MÜLLER, 2006) ou outros processos.

Para tornar possível a obtenção dos nanocristais é necessária uma formulação que seja estável para suportar a pressão proveniente dos equipamentos e que também mantenha sua estabilidade posteriormente, em prateleira. Teoricamente, a redução do tamanho de partícula leva ao aumento da área superficial e esta última leva ao aumento da energia livre de Gibbs. Assim, o sistema tende à redução da energia por aglomeração, gerando um aumento no tamanho de partícula e baixa estabilidade da forma farmacêutica (VAN EERDENBRUGH, et al., 2008).

Um ponto importante no estudo da redução do tamanho de partículas de fármacos é avaliar a forma dos nanocristais obtidos e o impacto em propriedades físico-químicas, com alterações na estabilidade e biodisponibilidade. Para George e Ghosh (2015), a distribuição de tamanho de partícula, potencial zeta, estabilidade em estado sólido e estabilidade de armazenamento são atributos críticos à qualidade das preparações e devem ser considerados em todas as etapas de desenvolvimento de formulações. Além disso, o polimorfismo é uma característica tipicamente importante que deve ser continuamente considerada, em especial para nanocristais.

O polimorfismo ocorre quando um fármaco pode se apresentar de diferentes formas cristalinas. Essas formas cristalinas podem se organizar em diferentes arranjos e, estes são nomeados conforme sua célula unitária básica (a parte do arranjo cristalino que se repete por toda a estrutura da molécula) (BASTOS, 2015). A importância de se acompanhar o polimorfismo durante todo o desenvolvimento do fármaco está diretamente relacionada com a qualidade do produto farmacêutico final, visto que mudanças inesperadas na estrutura do fármaco podem comprometer não somente a eficácia terapêutica, como também a estabilidade do produto (DURÁN et al., 2010; FANGUEIRO et al., 2012). Alterações na estrutura cristalina do fármaco durante o desenvolvimento

podem causar variações nos pontos de fusão, densidade, estabilidade e solubilidade do fármaco, pois essas propriedades estão diretamente relacionadas ao arranjo cristalino da molécula (DURÁN et al., 2010; FANGUEIRO et al., 2012).

Arranjos cristalinos cuja estrutura é mais fácil de ser desorganizada são menos estáveis que os polimorfos que contêm um arranjo cristalino muito organizado. Um polimorfo cujo arranjo é muito organizado requer mais energia para desequilibrar o sistema que outro com arranjo menos organizado. Essa estabilidade é devida principalmente à sua baixa energia livre, seu alto ponto de fusão e sua baixa solubilidade (DURÁN et al., 2010 e FANGUEIRO et al., 2012). Da mesma forma, um fármaco na forma cristalina é mais estável que seu pó amorfo. Como o próprio nome já diz, o estado amorfo é caracterizado por moléculas sem um arranjo cristalino organizado, sem forma. É o estado sólido onde as moléculas estão desorganizadas e, por isso, a energia necessária para desequilibrar o sistema em um sólido amorfo é menor (BASTOS, 2015).

➤ **Micelas**

A elevada estabilidade obtida *in vitro* e *in vivo*, a biocompatibilidade e a capacidade de acondicionar fármacos com diferentes características, tornam as Nanopartículas Micelares (NPM) importantes e cada vez mais direcionados para ensaios pré-clínicos e clínicos (TORCHILIN, 2007). NPM estão em estudo desde meados dos anos de 1990, quando foi desenvolvido e patentado a tecnologia que, posteriormente, deu origem ao primeiro produto nano-engenheirado para uso transdérmico - Estrasorb[®], em 2003. Esta formulação representa uma robusta e versátil tecnologia capaz de proporcionar a liberação de fármacos com diversas propriedades físico-químicas. A tecnologia permite que altas concentrações de fármaco penetrem na pele gerando um depósito no estrato córneo e na epiderme (LEE; SHENOY; SHEEL, 2010).

Em geral, os sistemas NPM são formados por cinco componentes: i) um ou mais fármacos; ii) solvente; iii) estabilizador; iv) fase oleosa e v) meio aquoso. Quando submetidos a processos de mistura (*high-shear* ou *high-pressure mixing*), o fármaco passa a estar presente na preparação em frações: sólidas (micro e/ou nanopartículas); associado a micelas formadas; associado à fase oleosa ou solubilizado (nas fases aquosa e/ou oleosa). Assim as NPM podem acomodar fármacos solúveis e insolúveis no meio aquoso (LEE, SHENOY e SHEEL, 2010).

No caso do Estrasorb^{®18}, o principal direcionador do fluxo de estradiol através da pele é o gradiente de concentração. Estudos compilados por Lee, Shenoy e Sheel (2010) indicam que a composição das NPM pode favorecer as interações do produto com a pele e direcionar de maneira mais eficiente o fármaco através desta barreira natural. A infusão constante e controlada do estradiol favorece a manutenção dos níveis terapêuticos por tempo prolongado, já que ao atingir níveis mais profundos da pele, ingressando na corrente sanguínea, mais estradiol é liberado a partir do reservatório, favorecendo a manutenção do gradiente de concentração requerido. A significativa alteração no tempo de meia-vida (57,6 horas para Estrasorb[®]; 36 horas para géis contendo estradiol e 16,5 horas para comprimidos contendo a mesma substância) indica forte evidência do controle de liberação desempenhado pelas NPM neste produto comercializado.

Muito tem se discutido sobre os processos de fabricação das estruturas NPM, visto que é necessário controlar o tamanho das estruturas formadas, garantir um elevado carregamento de fármacos e que sejam estáveis após a preparação, mas capazes de se dissociar ao chegar ao local alvo (TYRRELL; SHEN; RADOSZ, 2010). Outros compostos formadores de micelas, como copolímeros anfifílicos, ganham cada vez mais atenção. Micelas poliméricas, em especial aquelas formadas pela conjugação de copolímeros solúveis com lipídios (por exemplo polietilenoglicol conjugado com fosfatidiletanolamina), podem transportar agentes para diagnóstico por imagem além de serem utilizados para direcionamento ativo de fármacos. Além das NPM serem capazes de usufruir do efeito EPR (vide lipossomas), podem ser funcionalizadas, gerando por exemplo imunomicelas, para o direcionamento ativo das partículas aos locais de ação (TORCHILIN, 2007). Assim, as tecnologias anteriormente descritas e aplicáveis aos lipossomas também podem ser utilizadas na construção e planejamento de NPM para a liberação e direcionamento de fármacos.

➤ **Caracterização de Nanomateriais**

O nanomaterial obtido, independente da tecnologia, deve ser caracterizado e deve haver evidência de que os parâmetros críticos necessários para o desempenho previsto foram obtidos e são mantidos durante avaliações de estabilidade.

¹⁸ Estradiol emulsão tópica delineada para liberação de estradiol na corrente circulatória a partir de uma emulsão tópica, onde estradiol hemiidratado é “encapsulado” por meio de nanotecnologia micelar (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2016).

Os lipossomas, por exemplo, utilizados como carreadores de fármacos devem ser caracterizados e controlados quanto à forma / morfologia, incluindo lamelaridade, tamanho das vesículas e método de preparação, composição, características de superfície, carga, temperatura de transição de fase, estabilidade, integridade e taxas de encapsulamento e liberação, visto que estes são fatores que podem diretamente influenciar o comportamento dos lipossomas em meio biológico (LASIC, 1998; XU, 2012; FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2015).

Microscopia eletrônica de varredura (MEV) ou de transmissão (MET) têm sido muito empregadas na obtenção de informações relativas à forma e tamanho das nanopartículas, incluídas na avaliação morfológica. A MET pode permitir a diferenciação entre nanocápsulas e nanoesferas, a criofratura pode ser empregada para determinar a análise morfológica de sistemas (SCHAFFAZICK, et al., 2003). A crio-MET foi utilizada para avaliar a conformação dos cristais de cloridrato de doxorrubicina durante o desenvolvimento de carregamento ativos utilizando diferentes sais (BARENHOLZ, 2012; GABIZON; BARENHOLZ, 2005). Schaffazick (2003) compila uma série de trabalhos envolvendo MET, MEV e microscopia de força atômica para a caracterização morfológica de polímeros. MET foi utilizado para demonstrar que a incorporação de baixas ou elevadas concentrações de fármacos não causam alterações na morfologia de nanopartículas PLA-bloco-poli (óxido de etileno)¹⁹, MEV foi utilizado em avaliações morfológicas e de estabilidade, visto que foram utilizadas para evidenciar que partículas de PLGA, inicialmente com tamanho de 152 ± 52 nm, aumentaram de tamanho (possível agregação) e atingiram diâmetro de $2\mu\text{m}$ em três meses²⁰. Já através de microscopia de força atômica pode-se realizar estudo morfológico de nanoesferas de PLGA, revelando a presença de cavidades e poros²¹.

DSC (Calorimetria Diferencial Exploratória - do inglês *Differential Scanning Calorimetry*) é uma técnica de análise térmica muito empregada para avaliar parâmetros que envolvem a aplicação de aquecimento e congelamento. Com isso, é utilizada para prever a temperatura e a energia associada a eventos térmicos, incluindo a fusão, a

¹⁹ Govender, T.; Riley, T.; Ehtezazi, T.; Garnett, M. C.; Stolnik, S.; Illum, L.; Davis, S. S. Defining de drug incorporation properties of PLA-PEG nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 199, n. 1, p. 95-110, 2000.

²⁰ Santos-Magalhães, N. S. Pontes, A.; Pereira, V. M. W.; Caetano, M. N. P.; Colloidal carriers of benzathine penicillin G: nanoemulsions and nanocapsules. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 2008, n. 1, p. 71-80, 2000.

²¹ Feng, S. S.; Huang G.; Effects of emulsifiers on the controlled release of paclitaxel (taxol) from nanospheres of biodegradable polymers. *Journal of Controlled Release*, v. 71, n. 1, p. 53-69, 2001.

transição vítrea e a cristalização. O emprego desta técnica no desenvolvimento e na caracterização de NLS pode fornecer informações sobre o estado físico e o grau de cristalinidade da amostra, permitindo também a avaliação dos principais parâmetros de processo utilizados na obtenção de NLS (SOUZA, 2011).

Uma variável relevante na caracterização de nanomateriais é o tamanho. Assim, Schaffazick e colabores (2013) compilam uma série de estudos que foram desenvolvidos para a avaliação dos principais fatores da formulação que afetam o diâmetro de nanopartículas poliméricas. Verifica-se que a presença do fármaco pode ou não influenciar no tamanho das partículas obtidas e o método de preparação e a natureza dos componentes (tensoativos, óleos, lipídeos) podem impactar diretamente no tamanho das partículas. O acompanhamento do tamanho das partículas também é relevante para seguir as tendências de agregação e sedimentação. Assim determinar mudanças na distribuição de tamanho de partículas deve ser considerado para avaliação da estabilidade do sistema.

Outra variável tipicamente medida nas preparações com nanopartículas é a verificação do potencial zeta. A maioria das partículas dispersas em meio aquoso tendem a adquirir uma carga elétrica superficial, seja por mudanças na interface com o meio dispersante, seja pela presença de grupos funcionais na superfície da partícula ou ainda pela adsorção de espécies iônicas no meio de dispersão. Fenômenos eletrocinéticos estão associados ao movimento de partículas carregadas através de um meio contínuo ou do movimento do meio contínuo sobre uma superfície carregada. Este efeito causado pela formação de cargas elétricas nas interfaces é chamado de Potencial Zeta, determinado utilizando técnicas de eletroforese (SCHAFFAZICK et al., 2003; ZETA ..., 2015).

Também é importante determinar a taxa de associação do fármaco às nanopartículas. Para lipossomas, a eficiência de encapsulação do fármaco é definida como a porcentagem de fármaco contido dentro dos lipossomas, em comparação com a quantidade total de fármaco, podendo também estabelecer o índice de relação quantidade de fármaco encapsulado por unidade de lipídeo (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2015). Determinar a quantidade de fármaco associada às nanopartículas é um processo complexo, em especial quando se considera o reduzido tamanho das nanopartículas. Uma técnica utilizada é a ultracentrifugação, no qual a concentração de fármaco livre presente é determinado no sobrenadante e, a partir da solubilização do nanomaterial em solvente adequado, quantifica-se o fármaco total. A diferença entre a quantidade total de fármaco e a quantidade livre é a quantidade associada ao nanomaterial (SCHAFFAZICK et al., 2003).

A taxa de associação do fármaco às nanopartículas pode depender do processo de formação das nanopartículas, de mecanismos específicos (por exemplo carregamento ativo de cloridrato de doxorrubicina em lipossomas – vide capítulo VI) ou de alterações no nanomaterial para favorecer, por exemplo, a adsorção do fármaco à superfície.

Para polímeros é típico a associação do fármaco ocorrer por processos de adsorção. A adsorção pode ser um processo físico ou químico. No caso da adsorção física, ocorrem, geralmente, forças de Van de Waals ou forças eletrostáticas entre moléculas do adsorvato e átomos que compõe a superfície do adsorvente (COELHO, 2006). Para Peixoto (2013), múltiplas camadas podem ser adsorvidas, uma vez que as forças podem ser de longo alcance, embora sempre sejam relativamente fracas. A adsorção química ocorre com interações químicas entre a espécie adsorvida e o sólido adsorvente, havendo transferência de elétrons e ligações químicas. Neste caso ocorre a formação de uma camada, visto a necessidade de interação direta, e as ligações são fortes (PORPINO, 2009).

Considerando estes aspectos de adsorção de fármacos ou proteínas à nanopartículas, pode-se determinar a isoterma de adsorção: relações de equilíbrio estabelecidas entre quantidade disponíveis para adsorção e aquelas efetivamente adsorvidas. As isotermas fornecem informações relacionadas à quantidade máxima de soluto adsorvido, forma e força de interação, número de camadas adsorvidas e presença e tamanho de poros (PORPINO, 2009). Além das definições de mecanismos e a isoterma de adsorção, outras técnicas podem ser utilizadas para se determinar a forma da associação do fármaco a nanopartículas: DSC, difração de raio X e espectroscopia de infravermelho.

Assim, este adendo compila os principais aspectos considerando as principais tecnologias e principais técnicas de caracterização, no que diz respeito ao desenvolvimento de medicamentos de base nanotecnológica.

APÊNDICE B - Formulário QbD como uma estratégia de regulação de medicamentos de base nanotecnológica

A seguir é apresentado um formulário considerando os principais aspectos a serem considerados para o uso de QbD no desenvolvimento de medicamentos de base nanotecnológica.

Figura 25 - Formulário considerando os diferentes aspectos a serem avaliados para o uso da metodologia QbD no desenvolvimento de medicamentos de base nanotecnológica.

QUALITY BY DESIGN NO DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS FARMACÊUTICOS
Definição do Perfil de Qualidade Alvo do Produto – PQAP
Aspectos relacionados à Eficácia : <i>De acordo com o conhecimento e o grau de amadurecimento do projeto, considere informações a respeito de: indicação e uso; dosagem e administração; uso em populações específicas; aspectos farmacológicos.</i>
Aspectos relacionados à Segurança : <i>De acordo com o conhecimento e o grau de amadurecimento do projeto, considere informações quanto às soluções ou limitações a respeito de: aspectos toxicológicos; reações adversas; perigos e precauções; reações adversas; interações; abuso e dependência; superdosagem.</i>
Aspectos relacionados à Qualidade : <i>De acordo com o conhecimento e o grau de amadurecimento do projeto, considere informações a respeito de: aspectos farmacotécnicos; forma farmacêutica; alternativa tecnológica; estabilidade; facilidade para uso; estocagem e manuseio.</i>
Definição de Atributos Críticos para a Qualidade (ACQ)
<i>Propriedades físicas, químicas, biológicas ou microbiológicas ou características que o produto deve apresentar adequados, dentro de limites, intervalos ou distribuídos para assegurar o PQAP.</i>
ACQ relacionados à Eficácia : <i>Como estes aspectos relacionam-se com a Eficácia do Produto?</i>
ACQ relacionados à Segurança : <i>Como estes aspectos relacionam-se com a Segurança do Produto?</i>

ACQ relacionados à **Qualidade**:

Como estes aspectos relacionam-se com a Qualidade do Produto?

Outros Atributos e Parâmetros Críticos

Propriedades físicas, químicas, biológicas ou microbiológicas ou características que devem apresentar adequados limites, intervalos ou serem distribuídos e parâmetros relacionados aos processos de fabricação definidos para assegurar o PQAP e ACQ do Produto.

Aspectos relacionados ao(s) **Insumo(s) Farmacêutico(s) Ativo(s)**:

Quais aspectos do(s) Insumo(s) Farmacêutico(s) Ativo(s) apresentam alto risco de impacto no desempenho ou ACQ do produto?

Aspectos relacionados aos **Excipientes**:

Quais aspectos relacionados aos excipientes apresentam alto risco de impacto no desempenho ou ACQ do produto? Qual o racional para escolha dos excipientes? Há evidências de compatibilidade entre os materiais?

Aspectos relacionados aos **Processos**:

Quais os estudos e definições para a escolha do processo de fabricação? Quais são os parâmetros do processo que apresentam alto risco de impacto no desempenho ou ACQ do produto? Quais foram as considerações a respeito do escalonamento para processo comercial?

Definição do Controle Estratégico

Planejamento de controles, derivado do entendimento do produto, materiais e processo, que asseguram o desempenho do processo e a qualidade do produto (PQAP). Estes controles podem incluir especificações e características relacionadas aos materiais (IFAs, Excipientes, Solventes e outros), a condições operacionais de equipamentos e utilidades, a controles em processo, incluindo métodos e frequências de monitoramento, e controle de qualidade do Produto Acabado (inclui no mínimo ACQ do Produto).

Definição do **Controle Estratégico**:

Gestão de Riscos

Considerando o grau de maturidade do projeto e o conhecimento relacionado ao produto, definido através do PQAP, ACQ e Parâmetros Críticos do Processo, defina o nível de risco residual.

Riscos relacionados à Eficácia:

Riscos conhecidos ou lacunas de conhecimento relacionados a: indicação e uso; dosagem e administração; uso em populações específicas; aspectos farmacológicos.

Riscos relacionados à Segurança:

Riscos conhecidos ou lacunas de conhecimento relacionados a: aspectos toxicológicos; reações adversas; perigos e precauções; reações adversas; interações; abuso e dependência; superdosagem.

Riscos relacionados à Qualidade:

Riscos conhecidos ou lacunas de conhecimento relacionados a: aspectos farmacotécnicos; forma farmacêutica; alternativa tecnológica; estabilidade; facilidade para uso; estocagem e manuseio.

Fonte: Próprio autor.

APÊNDICE C - Formulário QbD e gerenciamento de riscos – estudo de caso Doxil®.

A seguir é apresentado um formulário considerando QbD e Gerenciamento de Riscos no desenvolvimento do Doxil® - doxorubicina lipossomal peguilada.

Figura 26 - Metodologias QbD e Gerenciamento de Riscos aplicados ao Desenvolvimento do Doxil® - doxorubicina lipossomal peguilada.

QUALITY BY DESIGN NO DESENVOLVIMENTO DE DOXORRUBICINA LIPOSSOMAL PEGUILADA – ESTUDO DE CASO - DOXIL®
Definição do Perfil de Qualidade Alvo do Produto – PQAP
Usufruir dos benefícios conhecidos do cloridrato de doxorubicina com inclusão ativa do fármaco em lipossomas furtivos (peguiados) para atingir regiões tumorais de pacientes em tratamento com o antineoplásico; Redução da toxicidade, em especial cardiotoxicidade, pela proteção das moléculas de cloridrato de doxorubicina em lipossomas, usufruindo do efeito EPR em regiões tumorais e da redução de acesso às regiões sadias; Otimização de aspectos farmacocinéticos comparados com o fármaco livre; Otimização na segurança do produto, possibilidade de aumento de dosagens; Preparação injetável, escalonável e com período de validade não inferior a 18 meses.
Definição de Atributos Críticos para a Qualidade (ACQ) associados à Eficácia, Segurança e Qualidade do Produto
Definição de aspectos morfológicos, lipossomas unilamelares com tamanho aproximado de 100nm. Correlacionar aspectos morfológicos com carregamento, retenção e liberação do fármaco; Carregamento ativo do fármaco cloridrato de doxorubicina – carregamento de pelo menos 90% do fármaco por gradiente de sulfato de amônio; Lipossomas contendo altas doses de fármaco (doses usuais do fármaco livre são de 10 a 50mg/m²). Carregamento e permanência de moléculas do fármaco na região interna dos lipossomas – avaliação do aspecto do fármaco carregado / dosagem interna;

pH da formulação e balanço de sais adequados para equilíbrio da formulação e uso;

Aspectos farmacocinéticos controlados pelos lipossomas: aumento no tempo de circulação do fármaco; aumento na meia-vida do fármaco; maior concentração em regiões tumorais se comparado com fármaco livre; menor concentração em regiões sadias se comparado com fármaco livre;

Lipossomas furtivos (peguiados) para aumentar tempo de circulação, quando comparado com lipossomas tradicionais. Presença e caracterização do m-PEG com caracterização de potencial elétrico da superfície / carga;

Perfil de liberação do fármaco in vitro sob diversas condições:

- estabilidade do lipossoma em circulação;
- simulação em pH de tecido normal, região tumoral, intracelular para dimensionar limitações;

Internalização do fármaco nas células tumorais – doseamento de produtos de degradação do fármaco em regiões tumorais;

Avaliação de estabilidade em condições adversas: estresse oxidativo, pH, temperatura e outros para dimensionar limitações;

Avaliação da estabilidade da preparação por período mínimo de 18 meses (estudo segundo diretrizes normativas para estabilidade) com métodos indicativos de estabilidade;

Aspectos físicos do produto acabado: aspecto, quantidade envasada por frasco, uniformidade de doses;

Limites de produto de degradação relacionado ao fármaco;

Solventes residuais;

Atende critérios de esterilidade e endotoxinas.

Outros Atributos e Parâmetros Críticos

Aspectos relacionados ao **cloridrato de doxorrubicina**:

Avaliar DMF do fármaco – nomenclatura, elucidação estrutural, propriedades físico-químicas, dados do fabricante, descrição do processo de fabricação e controles do processo incluindo fluxogramas, indicação de pontos críticos e dados de esterilização (se aplicável), controle de qualidade dos materiais, controle de etapas críticas no processo de obtenção do fármaco, desenvolvimento e validação do processo de fabricação, indicação de impurezas, especificações, métodos analíticos (incluindo validação), dados de lotes avaliados, materiais de embalagem e estabilidade.

A partir dessas informações, levantar riscos de impacto no desempenho ou ACQ do produto. Gerenciar Riscos.

Aspectos relacionados aos **Excipientes**:

Justificar o tipo e quantidade de cada componente com desempenho e ACQ do produto. Indicar quantidade em relação ao fármaco (razão ou peso-por-peso). Indicar fontes de componentes, em especial os mais críticos como os lipídios, realizar levantamento a exemplo do indicado para o Cloridrato de Doxorrubicina. Especificações de Controle de Qualidade, com métodos, validação e justificativa para cada componente. Avaliar impurezas e elucidar limitações em condições extremas de estabilidade para componentes críticos. Levantar riscos de impacto no desempenho ou ACQ do produto. Evidenciar compatibilidade entre os materiais. Gerenciar Riscos.

Excipientes críticos: sal sódico de N-(carbonil-metoxipolietileno-glicol 2000)-1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (MPEG-DSPE); fosfatidilcolina de soja totalmente hidrogenada (HSPC); colesterol;

Outros excipientes: sulfato de amônio; histidina; sacarose; ácido clorídrico e/ou hidróxido de sódio (ajuste de pH).

Aspectos relacionados aos **Processos**:

Correlacionar o processo de fabricação com os ACQ do produto: definição do método de obtenção dos lipossomas com justificativa, levantar quais parâmetros do processo apresentam risco de impacto no desempenho do produto. Gerenciar riscos.

Definição do Controle Estratégico

Definição do **Controle Estratégico**:

Planejamento de controles, derivado do entendimento do produto, materiais e processo, que asseguram o desempenho do processo e a qualidade do produto (PQAP). Estes controles podem incluir especificações e características relacionadas aos materiais (IFAs, Excipientes, Solventes e outros), a condições operacionais de equipamentos e utilidades, a controles em processo, incluindo métodos e frequências de monitoramento, e controle de qualidade do Produto Acabado (inclui no mínimo ACQ do Produto).

Gerenciamento de Riscos
Avaliação de Risco associado a Aspectos Físicos: partículas próximas de 100nm (considerado <100nm – maior risco) e não persistentes (segue vias usuais de degradação): RISCO MÉDIO
Avaliação de Risco associado a Interação: nanomaterial biocompatível (sem evidências de bioincompatibilidade) e invasivo (preparação para uso parenteral): RISCO MÉDIO
Avaliação de Risco associado ao Uso: GRUPO III – RISCO MODERADO – avaliar riscos associados ao nanomaterial / nanotecnologia e mitigar riscos identificados. Ações a serem adotadas devem ser compatíveis com nível de risco identificado.

Fonte: Próprio autor.