

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica**

**NANOFORMULAÇÕES DESENVOLVIDAS PARA ENCAPSULAÇÃO DE
MILTEFOSINA: UMA REVISÃO**

Jennifer da Silva Paixão

Trabalho de Conclusão do Curso de
Farmácia-Bioquímica da Faculdade de
Ciências Farmacêuticas da Universidade
de São Paulo.

Orientador: Prof. Dr. Valter Araújo Feitosa

São Paulo
2025

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me conceder a oportunidade de viver a universidade pública, por cuidar de mim e da minha família durante a pandemia e por me dar saúde e intelecto para seguir essa jornada.

Primeiramente, dedico esse trabalho à minha família, principalmente aos meus pais, Cláudio e Zenilda, por terem batalhado arduamente para que eu pudesse ter a oportunidade de estudar e me desenvolver, e por sempre acreditarem e me apoiarem nos meus sonhos. Dedico também à minha irmã Beatriz que sempre me incentivou, me apoiou e viu de perto que é possível sonhar e viver a universidade pública, e hoje segue a trajetória de honrar o ensino público superior. Pai, mãe e Bia, eu não teria conseguido sem vocês!

Dedico também ao meu companheiro de vida, que esteve ao meu lado todos os dias me dando suporte e amor. Agradeço a compreensão nos dias difíceis e por sorrir com as minhas conquistas.

Sou grata aos meus tios e primos que me acompanharam de longe, mas que sempre vibram com as minhas vitórias, me aconselham quando preciso e sempre são refúgio para os dias ruins. Aos meus avós, Santina e Avelino (em memória) que me deram muito amor e carinho; mesmo sem terem tido a oportunidade de estudar, contribuíram com minha formação como pessoa e foram parte essencial para que eu chegasse até aqui.

Agradeço pelas amizades que fiz durante a graduação e no esporte universitário, que se tornaram minha família e sempre estiveram ao meu lado quando eu mais precisei.

Ao meu professor orientador Prof. Dr. Valter Araújo Feitosa por toda paciência e suporte durante esses meses, e por me apresentar um olhar mais humano e social da atuação do farmacêutico. Obrigada, professor!

Por fim, dedico também à USP e à Faculdade de Ciências Farmacêuticas por todo conhecimento produzido para atender às diversas demandas da população brasileira.

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	4
LISTA DE TABELAS	4
LISTA DE GRÁFICOS	4
RESUMO.....	6
ABSTRACT.....	7
1 Introdução	12
2 Objetivo	13
3 Material e Métodos.....	13
4 Resultados e Discussão.....	14
4.1 A doença: leishmaniose	14
4.2 Ciclo de transmissão	15
4.3 A miltefosina.....	16
4.3.1 Cenário atual da miltefosina	16
4.3.2 Características, propriedades e mecanismo de ação.....	18
4.3.3 Miltefosina e sistema fagocitário.....	19
4.3.4 Miltefosina e hemólise.....	20
4.4 Características das nanoformulações.....	20
4.5 Nanotecnologias empregas para encapsulação da miltefosina	22
4.5.1 Lipossomas	22
4.5.1.1 Atividade antitumoral da miltefosina em lipossomas	23
4.5.1.2 Miltefosina como adjuvante em lipossomas.....	27
4.5.1.3 Miltefosina lipossomal para tratamento de leishmaniose	28
4.6 Lipossomas termossensíveis (TSL)	30
4.7 Lipossomas peguilados	31
4.7.1 Miltefosina como adjuvante em lipossomas peguilados	33

4.8	Micelas	33
4.8.1	Micelas Mistas	34
4.8.2	Micelas Poliméricas	34
4.9	Lipoplexos	37
4.10	Nanopartículas	39
4.10.1	Nanopartículas de miltefosina para outras doenças	40
4.10.2	Miltefosina como adjuvante em nanopartículas	40
4.10.3	Nanopartículas lipídicas	41
4.10.4	Nanopartículas metálicas	44
4.10.5	Nanocápsulas redox-responsivas.....	45
4.11	Micropartículas.....	45
4.12	Nanoquelatos	46
4.13	Nanofibras	48
4.14	Nanoniossomas.....	49
4.15	Transferossomas	50
4.16	Nanovesículas	52
4.16.1	Nanovesículas catiônicas	52
5	Conclusão	54
6	Referências	55

LISTA DE ABREVIATURAS

AgNP	Nanopartículas de prata
AgNP-MF	Nanopartícula de prata em combinação com miltefosina
AmB	Anfotericina B
APC	Alquilfosfocolinas
AUC	Área sob a curva
Ch	Colesterol
cNV	Nanovesículas catiônicas
DCP	Dicetilfosfato
DOPC	1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfocolina
DOPS	Dioleoilfosfatidilserina
Dox	Doxorrubicina
EE%	Eficiência de encapsulação
EPC	Fosfatidilcolina de ovo
EPC	Eicosanilfosfocolina
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GSH	Glutathione
HePC ou HPC	Hexadecilfosfocolina
HePC-OG/HTSL	Lipossomas de HePC/DSPC/DPPGOG
HePC-OG/LTSL	Lipossomas de HePC/DPPC/DSPC/DPPGOG
HTSL	Lipossomas sensíveis a altas temperaturas
Imq	Imiquimode
IV	Intravenoso
LTSL	Lipossomas sensíveis a baixas temperaturas
LUV	Vesículas unilamelares
MAM	Antimoniato de meglumina
MF	Miltefosina
MF-CNP	Nanocápsulas de quitosana carregadas com miltefosina
MLV	Vesículas multilamelares
NMIL	Miltefosina niossomal
NO	Óxido nítrico
OMS	Organização Mundial da Saúde

OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
OPC	Octadecilfosfolina
PAMAM	Dendrímeros de poli(amidoamina)
PBMC	Células mononucleares do sangue periférico
PCL	Poli(ϵ -caprolactona)
PDI	Índice de polidispersão
PE	Fosfatidil etanolamina
PEG	Polietilenoglicol
PEG-DPPE ou PEG-PE	Polietilenoglicol derivado da dipalmitoilfosfatidiletanolamina
PEG-DSPE	Polietilenoglicol derivado de fosfatidiletanolamina distearóila
PEO	Óxido de polietileno
PET	Fosfatidiletanol
PG	Fosfatidil glicerol
PLA	Poli(lactídeo)
PLGA	Poli(lactídeo-co-glicol)
PPEM	Nanopartículas de miltefosina encapsuladas em PLGA-PEG
PPG3PG	1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoglicero
PPO	Óxido de polipropileno
PZQ	Praziquantel
SA	Estearilamina
SGUDL	Lipossomas ultra-deformáveis de segunda geração
SUS	Sistema Único de Saúde
SUV	Vesículas unilamelares pequenas
TPGS	Succinato de polietilenoglicol de D- α -tocoferila
VO	Via oral
WHO	<i>World Health Organization</i>
ZP ou ζ	Potencial Zeta

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Imagem representativa de: (A) mosquito-palha; (B) lesões causadas por leishmaniose cutânea.....	15
Figura 2: Esquema representativo do ciclo de transmissão da leishmaniose	16
Figura 3: Representação da estrutura química da miltefosina.....	18
Figura 4: Mecanismos de ação propostos para a atividade antileishmania da miltefosina	19
Figura 5: Estruturas representativas de: vesículas multilamelares - MLV (A), vesículas unilamelares grandes - LUV (B), e vesículas unilamelares pequenas - SUV (C).	23
Figura 6: Imagem ilustrativa da conversão dos lipossomas termossensíveis (TLS) em fase gel para a fase fluida sob efeito de temperatura.....	30
Figura 7: Esquema representativo da formação de lipossomas peguados	31
Figura 8: Mecanismo representativo da formação de micelas poliméricas	35
Figura 9: Esquema representativo da formação de micelas poliméricas de Tetronic, TPGS e miltefosina	37
Figura 10: Ilustração esquemática da formação de lipoplexos.....	38
Figura 11: Estrutura representativa do esquema de organização do nanoquelato	47
Figura 12: Representação das nanofibras formadas pelo método de eletrofiação...	48
Figura 13: Esquema representativo de nanovesícula catiônica com miltefosina.....	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Tabela com valores correspondentes de potencial Zeta e estabilidade do sistema.....	21
Tabela 2: Tabela contendo informações de método de preparação, linhagem celular analisada e tamanho dos lipossomas contendo miltefosina (HePC), OPC ou EPC. Os resultados de efeito observado são apenas dos lipossomas com miltefosina.	25
Tabela 3: Tabela contendo tipo de cinética, tempo de meia vida (h), tempo para concentração máxima (h), concentração máxima (mg/l) e alteração no peso corporal observado para os três grupos estudados: HePC livre, HePC - SUV via oral e HePC - SUV intravenoso	27
Tabela 4: Diferentes formulações contendo miltefosina como adjuvante; apresenta informações de composição da formulação, método de preparação, fármaco principal no lipossoma, tamanho, ZP, EE%, linhagens tumorais estudadas e efeitos observados para os lipossomas	28
Tabela 5: Tabela contendo a formulação, método de preparação, tamanho, ZP, PDI, EE% e IC ₅₀ dos lipossomas com miltefosina para tratamento de leishmaniose	29
Tabela 6: Tabela contendo a composição, método de preparação, tamanho, ZP e a temperatura de transição de fase de TSL contendo miltefosina.....	31
Tabela 7: Parâmetros farmacocinéticos para a formulação de PEG-HePC-SUV	32
Tabela 8: Tabela contendo composição, método de preparo e valores de tamanho de partícula, PDI, potencial hemolítico e IC ₅₀ de micelas poliméricas de polímeros como Pluronic, Tetronic e TPGS, contendo miltefosina.	37
Tabela 9: Tabela contendo composição, método de preparação e valores de tamanho de partícula, PDI, EE%, potencial hemolítico e IC ₅₀ de nanopartículas de miltefosina, tanto para tratamento de leishmaniose quanto de outras doenças	41
Tabela 10: Tabela contendo método de preparo e composição, além dos parâmetros de tamanho de partícula, potencial Zeta, PDI e EE% das nanopartículas lipídicas em que a miltefosina é utilizada como agente coadjuvante ou para tratamento de esquistossomose.....	44
Tabela 11: Valores de tamanho de partícula (nm) e PDI das microesferas com miltefosina carregada em albumina a depender da pressão aplicada no <i>spray drying</i>	46

Tabela 12: Tabela contendo composição, método de preparo, além dos parâmetros de tamanho de partícula, potencial Zeta, PDI, EE% e IC ₅₀ de nanoniossomas	50
Tabela 13: Tabela contendo composição, método de preparo, além dos parâmetros de tamanho de partícula, potencial Zeta, PDI, EE%, IC ₅₀ e elasticidade de membrana de transferssomas.....	52

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Representação da quantidade de estudos científicos publicados por ano, relacionados ao tema nanoformulações para encapsulação de miltefosina 17

RESUMO

PAIXÃO, J. S. **Nanoformulações desenvolvidas para encapsulação de miltefosina:** uma revisão. 2025. 65 f. Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia-Bioquímica – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2025.

Palavras-chave: leishmaniose; miltefosina; nanotecnologia; nanoformulação

A leishmaniose é uma doença tropical endêmica e negligenciada que afeta principalmente populações em situação de vulnerabilidade socioeconômica. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), mais de 12 milhões de pessoas estão infectadas no mundo, e, quando não tratada, a doença pode ser fatal em até 90% dos casos. No Brasil, o Sistema Único de Saúde (SUS) oferece gratuitamente o tratamento das formas cutânea e visceral com antimoniato de meglumina e anfotericina B (AmB), ambos de administração parenteral. Entretanto, esses tratamentos exigem supervisão médica, monitoramento contínuo e, em alguns casos, internação - dificultando o acesso entre populações carentes. A miltefosina, um alquilfosfolípido sintético com estrutura anfifílica, foi recentemente incorporada ao SUS para o tratamento da leishmaniose tegumentar, em cápsulas de 10 mg e 50 mg. Por ser de uso oral, apresenta vantagem sobre os tratamentos parenterais. Contudo, seu uso está frequentemente associado a efeitos adversos leves, como náuseas, vômitos e diarreia, além de sintomas incomuns, como dor epigástrica, anorexia e sonolência. Quando administrada por via parenteral, pode causar hemólise. Assim, a nanotecnologia surgiu como estratégia promissora para aprimorar as propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e farmacodinâmicas dos fármacos. Ao melhorar parâmetros como solubilidade, biodisponibilidade, estabilidade e perfil de segurança, os nanocarreadores podem superar limitações importantes associadas aos medicamentos convencionais. Nesse contexto, o presente estudo tem como objetivo revisar a literatura científica nacional e internacional acerca do uso de abordagens baseadas em nanotecnologia para a encapsulação da miltefosina, com o intuito de potencializar sua eficácia terapêutica e reduzir os efeitos adversos no tratamento da leishmaniose. Após analisar estudos com miltefosina incorporada em diferentes nanoestruturas, como lipossomas, micelas, lipoplexos, nanopartículas, micropartículas, nanoquelatos, nanofibras, nanoniossomas, transferossomas e nanovesículas verificou-se que a nanotecnologia potencializa sua ação terapêutica, aumentando a eficácia e reduzindo os efeitos adversos. Ademais, a miltefosina, quando veiculada por nanocarreadores ou usada como adjuvante, demonstrou melhora significativa no tratamento de doenças como esquistossomose e em linhagens tumorais. Assim, o uso dessas estratégias nanotecnológicas representa um avanço importante para ampliar o espectro de ação e a segurança do fármaco em diferentes contextos terapêuticos.

ABSTRACT

PAIXÃO, J. S. **Development of nanoformulations for miltefosine encapsulation: a review.** 2025. Pharmacy-Biochemistry Course Completion Work – Faculty of Pharmaceutical Sciences – University of São Paulo, São Paulo, 2025.

Keywords: Leishmaniasis; miltefosine; nanotechnology; nanoformulation.

Leishmaniasis is a neglected endemic tropical disease that primarily affects impoverished populations and individuals living in conditions of socioeconomic vulnerability. According to the World Health Organization (WHO), more than 12 million people are currently infected worldwide, and if left untreated, the disease can be fatal in up to 90% of cases. In Brazil, the Unified Health System (SUS) provides free treatment for both cutaneous and visceral forms of leishmaniasis using parenteral formulations of meglumine antimoniate and amphotericin B (AmB). However, these treatments require medical supervision, continuous monitoring and, in some cases, hospitalization—factors that hinder access for underserved populations. Miltefosine, a synthetic alkylphospholipid with an amphiphilic structure, was recently incorporated into SUS for the treatment of tegumentary leishmaniasis, available in 10 mg and 50 mg oral capsules. Due to its oral administration, it presents an advantage over parenteral therapies. Nevertheless, its use is frequently associated with mild adverse effects such as nausea, vomiting, and diarrhea, as well as less common symptoms including epigastric pain, anorexia, and drowsiness. When administered parenterally, miltefosine may cause hemolysis. In this context, nanotechnology has emerged as a promising strategy to enhance the physicochemical, pharmacokinetic, and pharmacodynamic properties of pharmaceutical agents. By improving parameters such as solubility, bioavailability, stability, and safety profile, nanocarriers can overcome major limitations associated with conventional drug formulations. Therefore, the aim of this study is to review national and international scientific literature addressing the use of nanotechnology-based approaches for the encapsulation of miltefosine, with the goal of enhancing its therapeutic efficacy and reducing adverse effects in the treatment of leishmaniasis. After analyzing studies involving miltefosine incorporated into liposomes, micelles, lipoplexes, nanoparticles, microparticles, nanochelates, nanofibers, nanoniosomes, transferosomes, and nanovesicles, it became evident that the use of nanotechnology can enhance the therapeutic effects of the drug, increasing its efficacy and reducing undesirable effects. Furthermore, miltefosine delivered by nanocarrier systems demonstrated significant improvement in the therapeutic activity of the treatment of other diseases, in addition to presenting good results when used as a membrane component or as an adjuvant. Thus, it is clear that the application of different nanotechnological strategies represents an important advance in expanding the spectrum of action and safety of miltefosine in different therapeutic contexts.

1 Introdução

A leishmaniose é uma doença parasitária característica endêmica em países tropicais subdesenvolvidos ou em desenvolvimento. É transmitida pelo mosquito palha infectado por protozoários do gênero *Leishmania*, vetor da leishmaniose. A doença apresenta duas formas: a forma cutânea ou tegumentar, caracterizada por feridas expostas na pele e mucosas semelhantes a úlceras, e a forma visceral ou calazar que acomete órgãos internos, e que pode levar o indivíduo a óbito (Brasil, 2017). De acordo com a Organização Panamericana de Saúde (OPAS, [s.d.]) a leishmaniose afeta quatro principais regiões socioeconomicamente desfavorecidas: as Américas, a África Oriental, o Norte de África e a Ásia Ocidental e Sudeste Asiático, tendo mais de 12 milhões de infectados ao redor do mundo. Dentre todos os casos mundiais notificados, 85% dos casos de leishmaniose cutânea estão concentrados em países Sul-Americanos: Brasil, Colômbia e Peru.

No Brasil, todo o tratamento de leishmaniose é disponibilizado gratuitamente pelo Sistema Único de Saúde (SUS). O tratamento oferecido conta com medicamentos específicos à base de antimônio, como o antimoniato de meglumina, administrado na forma intravenosa ou intramuscular, e outros fármacos, como a anfotericina B e anfotericina B lipossomal, o isetionato e a pentoxifilina como terapia adjuvante, todos de caráter parenteral com administração intravenosa ou intramuscular. Tais terapias causam, no entanto, efeitos indesejados nos pacientes, além de serem potenciais hepatotóxicos, cardiotoxicos e nefrotóxicos. Além disso, esses fármacos não são recomendados para gestantes, uma vez que atravessam a barreira placentária (Brasil, 2017).

Por conta de suas características antitumorais, inicialmente a miltefosina foi utilizada como tratamento tópico de metástases cutâneas do câncer de mama. Em 2002, porém, foi registrada pela Índia para tratamento de leishmaniose visceral, sendo, então, reposicionada para o tratamento de leishmaniose (Brasil, 2017). Assim, em 2018, a miltefosina foi incorporada no SUS, tornando-se a primeira opção de tratamento via oral para a leishmaniose tegumentar (BRASIL, 2018).

A miltefosina pode apresentar, no entanto, efeitos gastrointestinais dose-dependente indesejáveis como vômito, diarreia e náusea, além de redução na

penetração de barreiras lipídicas, diminuindo sua eficiência terapêutica. Pensando em controlar tais desafios, o uso de sistemas carreadores de nanoformulações podem contribuir para a melhoria do sistema de entrega de fármaco, melhorar a penetrabilidade em barreiras e reduzir efeitos adversos.

Embora o uso da nanotecnologia em fármacos seja recente e crescente, os estudos demonstram que fármacos nanoestruturados apresentam melhores resultados na resposta terapêutica. O primeiro nanofármaco aprovado para uso pela *Food and Drug Administration* (FDA) data de 1995. Trata-se da doxorubicina lipossomal peguilada, que se baseia em princípios como tempo prolongado de circulação, carga estável de doxorubicina e desvio do sistema fagocitário, em virtude do uso de ferramentas nanotecnológicas, para combater tumores (Barenholz, 2012). Desse modo, desenvolver e produzir nanoformulações envolvendo a miltefosina é de grande interesse para o futuro do tratamento da leishmaniose no Brasil.

2 Objetivo

Este projeto tem como objetivo avaliar artigos científicos envolvendo a encapsulação da miltefosina em nanoformulações visando ao aprimoramento de propriedades farmacocinética e farmacodinâmicas, bem como à manutenção ou à melhoria na eficácia terapêutica do ativo.

3 Material e Métodos

Foi realizada análise de base de dados como Scielo, NCBI, PubMed e Web of Science para busca e análise de artigos científicos a fim de obter informações cruciais, como tipo de nanoformulação, composição da nanoformulação, tamanho de partícula, índice de polidispersão, potencial *Zeta*, morfologia, propriedade farmacocinética e propriedades farmacodinâmicas modificadas (quando aplicável). Para a busca dos artigos nas bases utilizaram-se palavras-chave em associação como “*nanoformulation*”, “*miltefosine*”, “*nano**”, “*nanostruture*”, “*hexadecylphosphocholine*”

e "nm". As informações coletadas foram alocadas em planilhas e, a partir destas, foram construídos gráficos e figuras analisados e discutidos a seguir.

Além disso, também houve busca de informações sobre a leishmaniose através de base de dados, como a Biblioteca Virtual em Saúde, sites oficiais como Ministério da Saúde e Organização Mundial da Saúde, além de busca em repositórios de universidades e Estados brasileiros.

4 Resultados e Discussão

4.1 A doença: leishmaniose

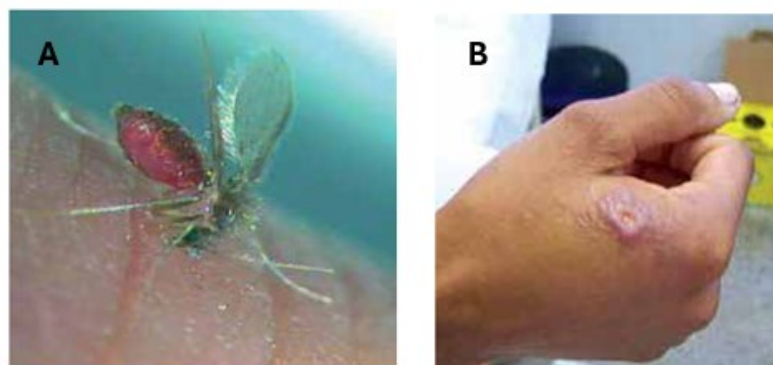
A leishmaniose é uma doença infecciosa e não contagiosa causada por protozoários intracelulares obrigatórios do gênero *Leishmania* e da família *Trypanosomatidae* (tripanossomídeos). A doença é transmitida a partir de insetos hematófagos fêmea (flebotomíneos) infectados, conhecidos popularmente como mosquito palha, asa branca ou birigui (cf. **Figura 1**). Tais insetos são bem pequenos, cerca de 2 a 3 mm de comprimento, com coloração amarelada e são capazes de atravessar telas e mosquiteiros. A transmissão ao ser humano ocorre quando o mosquito, que picou um animal infectado, ataca um ser humano sadio, transmitindo o protozoário. Nesse caso, os animais silvestres (como raposas e ratos) e/ou domésticos (como cachorro e gatos), podem ser considerados reservatórios da leishmaniose. No entanto, não existem evidências científicas claras do papel dos animais na transmissão da leishmaniose, sendo então considerados reservatório-acidentais do protozoário (Brasil, [s. d.]). Existem duas formas de manifestação da leishmaniose, sendo elas a de forma cutânea ou tegumentar e forma visceral.

- Leishmaniose cutânea ou tegumentar: causa lesões na pele e mucosas, sendo mais comum no nariz, garganta e boca, e está associada a sete espécies de leishmania, sendo as mais importantes *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, *L. (Viannia) guyanensis* e *L. (V.) braziliensis*. As lesões podem ser únicas, difusas e/ou disseminadas e com aspecto de úlcera, podendo ser indolor. O diagnóstico é feito a partir de exames parasitológicos com apoio e confirmação

do exame laboratorial. Além disso, o tempo de incubação pode variar de dois a três meses (Brasil, 2017).

- Leishmaniose visceral ou calazar: é uma doença crônica e sistêmica causada por protozoários intracelulares do gênero *Leishmania*, sendo a principal causadora a *Leishmania chagasi*. Os infectados apresentam sintomas como febre de longa duração, aumento do tamanho do fígado e baço, perda de peso e fraqueza, associados a anemia. O diagnóstico é imunológico, a partir de achados de anticorpos antileishmania, e parasitológico, com achados de amastigotas do parasita (Brasil, [s. d.]).

Figura 1: Imagem representativa de: (A) mosquito-palha; (B) lesões causadas por leishmaniose cutânea.

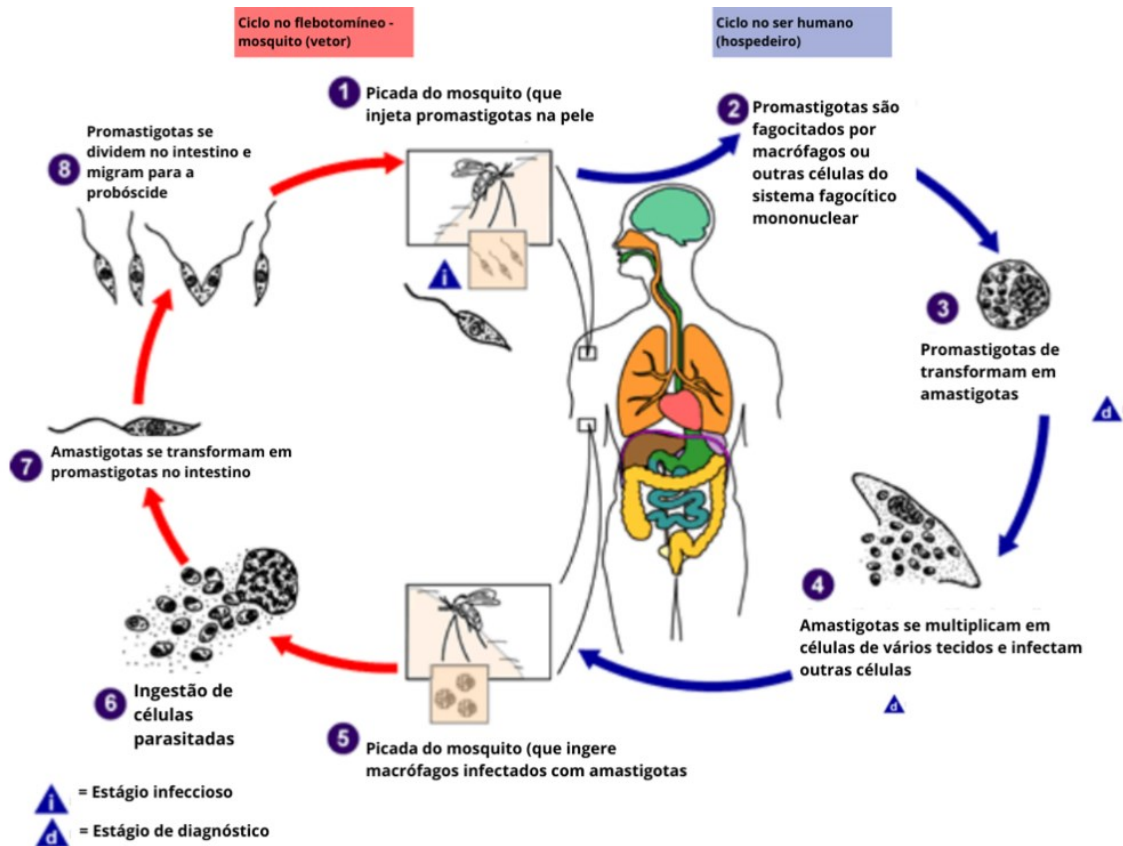


Fonte: Brasil, [s. d.], adaptado.

4.2 Ciclo de transmissão

O ciclo de vida da leishmaniose é complexo e envolve interações entre o parasita, os vetores e os hospedeiros. A **Figura 2** ilustra esquematicamente o ciclo de transmissão da leishmaniose. A transmissão inicia-se quando o vetor infectado pica o hospedeiro, inoculando promastigotas (forma flagelada e infecciosa) na pele. Esses protozoários são fagocitados por macrófagos, transformando-se em amastigotas (forma tecidual, sem flagelo), que se multiplicam e infectam outras células fagocíticas, disseminando a infecção. Quando um novo mosquito pica o hospedeiro, ingere os protozoários na forma amastigota (presentes em células infectadas), que se transformam na fase promastigotas no intestino do vetor. Essas formas se multiplicam por divisão binária, migram para a probóscide do mosquito e, ao ocorrer nova picada, o ciclo é reiniciado (CDC, 2024).

Figura 2: Esquema representativo do ciclo de transmissão da leishmaniose.



Fonte: CDC, 2024, adaptado.

4.3 A miltefosina

4.3.1 Cenário atual da miltefosina

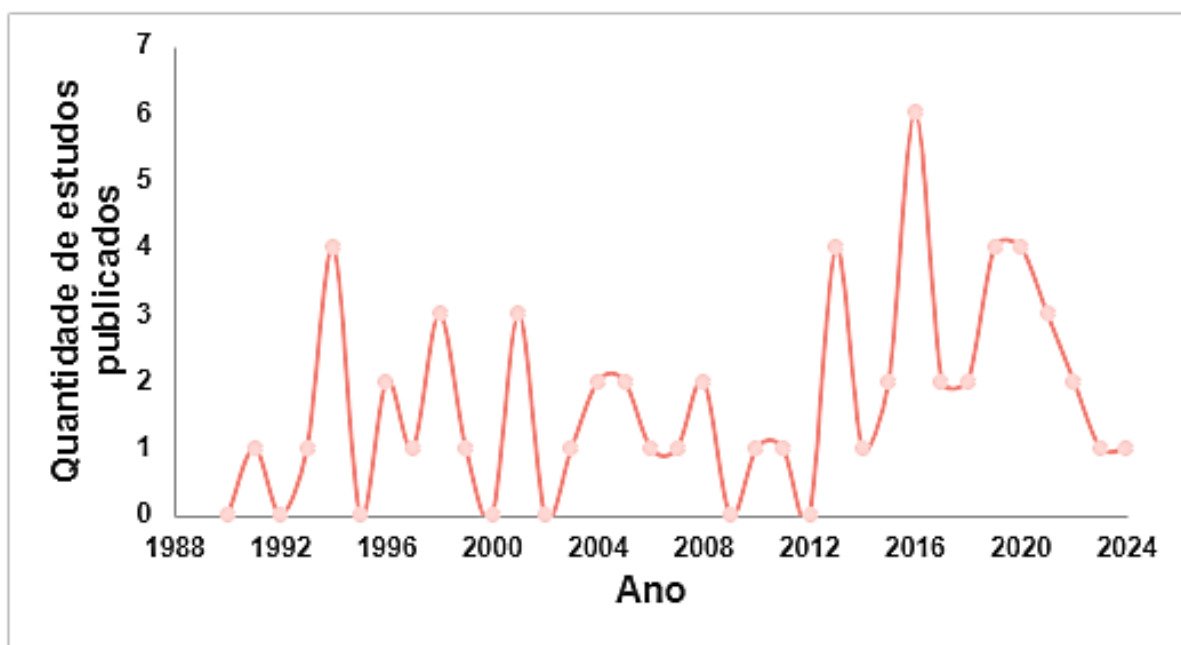
No Brasil, não há registro sanitário ativo para a miltefosina na ANVISA, fato que faz com que seja importada exclusivamente pelo Ministério da Saúde através da OPAS/OMS. O fármaco é oriundo da Alemanha, onde a empresa Paesel & Lorei GmbH & Co. possui licença de comercialização. No Brasil, a sua comercialização e distribuição pelo Ministério da Saúde é feita sob o nome de Impavido®. Para atender às necessidades de legislação brasileira, a miltefosina adquirida passa por processo de reembalagem pelo Instituto de Tecnologia em Fármacos (Farmanguinhos), uma parceria entre o Ministério da Saúde e a Fundação Osvaldo Cruz (Fiocruz), sendo disponibilizada pelo SUS em embalagem secundária contendo 42 cápsulas totais com 50 mg de miltefosina cada, sendo uma caixa com 6 blísteres, contendo 7 cápsulas cada (Brasil, 2020).

Já no âmbito veterinário, a miltefosina é comercializada pela empresa Virbrac Saúde Animal, com o nome comercial de Milteforan®, com indicação de tratamento de leishmaniose visceral canina, de acordo com a Nota Técnica Conjunta nº 001/2016 MAPA/MS (Brasil, 2016). O medicamento tem venda restrita para uso veterinário controlado e tem apresentações em frascos de 30 mL, 60 mL e 90 mL.

Como mencionado anteriormente, antes de ser reposicionada para tratamento de leishmaniose, a miltefosina era comercializada pelo nome de Miltex®, com indicação de tratamento tópico para lesões cutâneas decorrentes de metástase de câncer de mama. Porém, o registro do medicamento no Brasil pela Asta Médica Ltda expirou em 2006, e desde então o medicamento foi descontinuado, não estando mais disponível para comercialização (ANVISA, 2025).

O interesse pelo estudo da miltefosina iniciou-se por conta da atividade antitumoral do fármaco. Até pouco antes dos anos 2000, a maioria dos estudos era focada na atividade antineoplásica da miltefosina e sua interação com o sistema fagocitário. A partir de 2000, observou-se aumento de artigos científicos publicados correlacionando a miltefosina com a atividade antileishmania em nanocarreadores. O gráfico abaixo mostra a quantidade de artigos publicados/ano a partir dos artigos selecionados para essa revisão.

Gráfico 1: Representação da quantidade de estudos científicos publicados por ano, relacionados ao tema de nanoformulações para encapsulação de miltefosina.



Fonte: Autora.

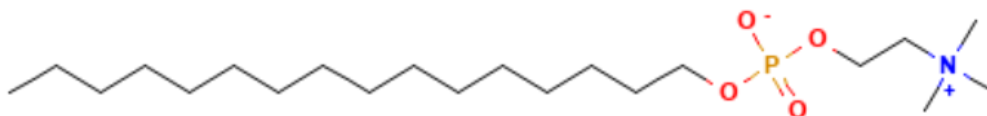
4.3.2 Características, propriedades e mecanismo de ação

A miltefosina é um alquilfosfolípídeo (APL) e pertence à classe das alquilfosfocolinas (APC), um grupo de ésteres de fosfocolina derivados de álcool alifáticos de cadeia longa. É uma molécula anfifílica e zwitteriônica, contendo um grupo amino carregado positivamente e um grupo fosforil carregado com carga negativa (Dorlo *et al.*, 2012).

Dentro do grupo da alquilfosfocolina, a miltefosina se enquadra como hexadecilfosfocolina (HePC) em razão da estrutura com 16 átomos de carbono. Existem outras classificações dentro do grupo das APCs, como octadecilfosfocolina (OPC), contendo 18 carbonos na estrutura, e eicosanilfosfocolina (EPC), com 20 carbonos na cadeia carbônica.

A estrutura química da miltefosina, mostrada na **Figura 3**, assemelha-se a componentes lipídicos de membranas celulares e pode estar relacionada com possíveis mecanismos de ação do fármaco contra atividade leishmania e tumoral (Dorlo *et al.*, 2012)

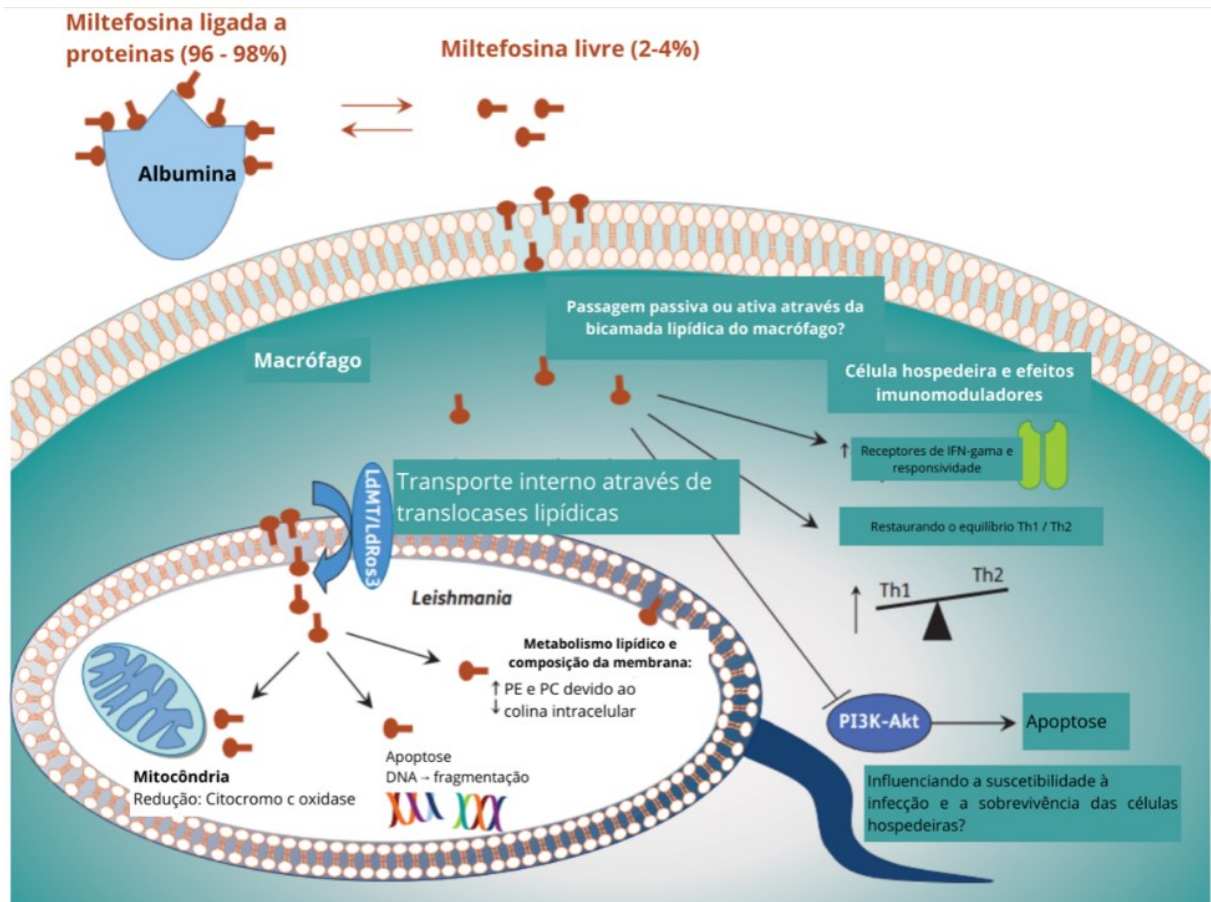
Figura 3: Representação da estrutura química da miltefosina.



Fonte: Pubchem (2025).

O mecanismo de ação da miltefosina contra a leishmania ainda não é bem estabelecida, mas alguns mecanismos são estudados e descritos, como: inibição da biossíntese de componentes da membrana celular, como a fosfatidilcolina (Urbina, 2006), inibição do citocromo C oxidase, interferindo no metabolismo mitocondrial (Luque-Ortega; Rivas, 2007), inibição da proteína quinase C (Tanabe, 2011), indução de morte semelhante a apoptose (Paris *et al.*, 2004). Estudos mais recentes demonstram que a miltefosina também pode estar envolvida em mecanismo de interrupção da homeostase do cálcio em tripanossomatídeos, levando o parasita à morte (Pinto-Martinez *et al.*, 2018). A **Figura 4** ilustra alguns dos mecanismos de ação propostos para a miltefosina.

Figura 4: Mecanismos de ação propostos para a atividade antileishmania da miltefosina.



Fonte: Dorlo *et al.*, 2012, adaptado.

4.3.3 Miltefosina e sistema fagocitário

Retomando ao ciclo de transmissão da leishmania retratado na **Figura 2**, é possível visualizar que o protozoário infecta células do sistema fagocitário, precisamente macrófagos, para que ocorra a passagem da fase promastigota para amastigota (CDC, 2024). Tendo em vista a necessidade dessa fase intracelular obrigatória, é importante que a miltefosina seja absorvida pelos macrófagos infectados para agir diretamente sobre o protozoário, causando efeito antileishmania. Além disso, a miltefosina pode induzir resposta fagocitária para produção de citocinas pró-inflamatórias, espécie reativa e oxigênio e NO para combater o parasita (Zeisig *et al.*, 1996; Tripathi *et al.*, 2017; Dar *et al.*, 2019).

4.3.4 Miltefosina e hemólise

A administração de miltefosina é indicada via oral (VO) na dose máxima diária de 150 mg (3 comprimidos). Quando aplicada por via intravenosa (IV) causa hemólise, uma vez que por ser um APL de caráter anfifílico, a miltefosina forma estruturas semelhantes a micelas que interagem com a membrana celular dos eritrócitos e resulta em solubilização e ruptura da membrana plasmática, causando ruptura (Moreira *et al.*, 2013). Por esse motivo, sistemas nanocarreadores são estudados para contornar o efeito hemolítico da miltefosina e propiciar formulações adequadas para possível tratamento intravenoso.

4.4 Características das nanoformulações

As características físicas das nanopartículas em sistemas coloidais são de suma importância, tanto para obtenção de uma formulação adequada quanto para eficiência final do medicamento. Tais propriedades estão intrinsecamente relacionadas com a atividade farmacocinética e farmacodinâmica, bem como eficiência terapêutica das nanopartículas. A partir da pesquisa dos artigos científicos, parâmetros importantes foram analisados, tais como:

- **Tamanho de partícula:** pode variar de acordo com a agência regulatória. No Brasil, de acordo com a RDC nº 751/2022, a ANVISA considera nanomaterial quando 50% ou mais das partículas estão com dimensão entre 1 e 100 nanômetros (nm) (Brasil, 2022). Após as análises dos artigos foi evidenciado que o menor tamanho de partícula encontrado foi de 5 nm, em micelas poliméricas, enquanto o maior foi de 3.430 nm, para micropartículas. O tamanho de partícula em um sistema coloidal é medido por meio do espalhamento de luz dinâmico (*DLS – dynamic light scattering*), ou um laser passa através da solução, e a modulação da luz é analisada em função do tempo. Quanto menor o tamanho de partícula, mais rapidamente ela é difundida (Raval *et al.*, 2019).
- **Índice de polidispersão ou PDI:** esse parâmetro mensura a variação dos tamanhos de partícula e sugere a homogeneidade do sistema. O PDI pode

variar de 0 a 1, e quanto menor o valor obtido, maior é a homogeneidade. (Raval *et al.*, 2019). Após análise dos estudos, verificou-se que o PDI variou de 0,04, em nanopartículas lipídicas, a 0,597 em micelas poliméricas.

- **Potencial Zeta (ZP, ζ):** parâmetro que mede o potencial elétrico superficial entre a partícula e o meio em que está dispersa. Quando em um sistema coloidal, a partícula carregada apresenta duas camadas de cargas, uma mais próxima ao núcleo e outra mais difusa, que facilmente pode perder carga. O *potencial Zeta* é a diferença entre o potencial elétrico da superfície da partícula e da solução em que está inserida (Raval *et al.*, 2019). A medição é feita a partir da aplicação de um campo elétrico e feixe luminoso em que a velocidade média é medida via efeito Doppler. A leitura do potencial Zeta é feita adicionando as amostras em células capilares para medidas de mobilidade eletroforética (Malvern Instruments, 2017).

A magnitude do potencial Zeta pode prever a estabilidade de nanoformulações. Isso porque, quando em um sistema coloidal, as partículas tendem a formar agregados, que são impedidos por meio das repulsões eletrostáticas. A **Tabela 1** mostra como a variação do potencial Zeta afeta a estabilidade da nanoformulação: valores altos de potencial Zeta mostram partículas altamente carregadas que impedem a agregação e garantem a redispersão devido a forças elétricas repulsivas, enquanto, em baixo potencial Zeta, a coagulação/agregação pode se formar (Németh *et al.*, 2022). Na avaliação dos estudos, o potencial Zeta variou de – 64,2 mV a + 38,7 mV (em lipossomas e nanopartículas lipídicas, respectivamente).

Tabela 1: Tabela com valores correspondentes de potencial Zeta e estabilidade do sistema.

Potencial Zeta (mV)	Comportamento do coloide (estabilidade)
< 5 mV	Tendência a formar agregados
±20	Estabilidade a curto prazo
≥ 30	Boa estabilidade
≤60	Excelente estabilidade

Fonte: Németh *et al.*, 2022, adaptado.

- **Eficiência de encapsulação (EE%):** está relacionada com o teor e impacta diretamente a entrega do fármaco e na melhora de parâmetros

farmacocinéticos e farmacodinâmicos. Uma boa eficiência de encapsulação pode proteger o ativo de degradação, melhorar a entrega do fármaco no alvo desejado, além de reduzir toxicidade e melhorar a biodisponibilidade. Os resultados encontrados para EE% foram satisfatórios para a maioria das nanoestruturas, sendo 54% a menor encontrada, em lipossomas.

- **Formato da nanopartícula:** a morfologia pode impactar significativamente as propriedades físico-químicas dos nanomateriais, assim o formato deve ser ideal para que apresentem as características desejadas (Alisson, 2019). A análise dos artigos demonstrou que a maioria das nanopartículas apresentou formato esférico, com exceção das nanofibras. O formato esférico pode favorecer longos tempos de circulação na corrente sanguínea e prevenir a toxicidade. Estudos relataram que nanopartículas pontiagudas podem estimular macrófagos dentro do tecido e nanoestruturas sem rugosidade ou bordas afiadas evitam a absorção pelo sistema retículo endotelial (Albanese *et al.*, 2010).
- **Concentração inibitória máxima 50% (IC₅₀):** é a concentração de um fármaco capaz de inibir, *in vitro*, um alvo terapêutico em 50% de sua atividade inicial. A redução da IC₅₀ variou de acordo com a nanotecnologia empregada.

4.5 Nanotecnologias empregadas para encapsulação da miltefosina

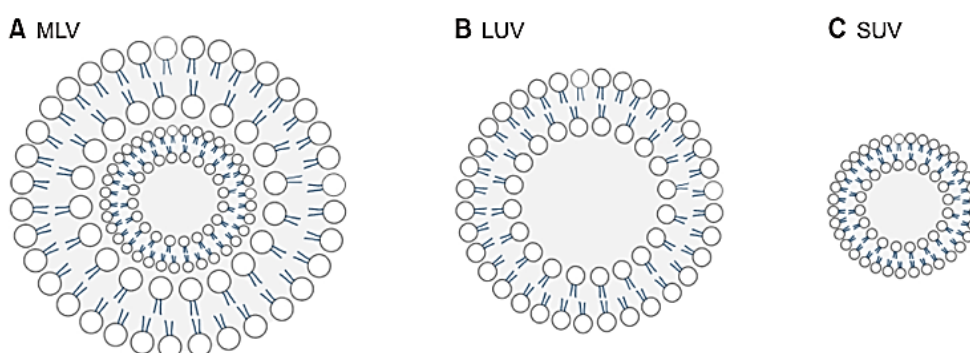
4.5.1 Lipossomas

Os lipossomas são vesículas constituídas por uma ou mais camadas fosfolipídicas concêntricas (de caráter natural ou sintética) com núcleo aquoso e podem servir como nanocarreadores de fármacos – nesse caso, a miltefosina. Os lipossomas podem apresentar potencial *Zeta* positivo, negativo ou neutro, e para evitar a captura pelo sistema fagocitário, pode ter a superfície modificada. Normalmente o método de preparação envolve hidratação de um filme lipídico seguida de sonificação ou extrusão para redução do tamanho das vesículas (Batista; Carvalho; Magalhães, 2007). Os lipossomas podem ser subclassificados quanto ao tamanho e ao número de bicamadas ao redor do compartimento aquoso, conforme mostrado na

Figura 5:

- *Multilamellar vesicles* (MLV): são vesículas multilamelares com tamanho > 500 nm
- *Unilamellar vesicles* (LUV): são vesículas unilamelares grandes com tamanho > 100 nm
- *Small unilamellar vesicles* (SUV): são vesículas unilamelares pequenas com tamanho < 100 nm.

Figura 5: Estruturas representativas de: vesículas multilamelares - MLV (A), vesículas unilamelares grandes - LUV (B), e vesículas unilamelares pequenas - SUV (C).



Fonte: Kim; Jeong, 2021, adaptado.

Estudos com nanoemulsões já haviam demonstrado a possibilidade de reduzir o potencial hemolítico da miltefosina por meio de sua incorporação nessas formulações (Bock; Muller, 1994). No entanto, os lipossomas foram um dos primeiros nanocarreadores investigados com o objetivo de contornar os desafios da hemólise associada à administração parenteral da miltefosina, além de buscar potencializar sua ação intramacrofágica, tanto em estudos antitumorais quanto para o tratamento da leishmaniose.

4.5.1.1 Atividade antitumoral da miltefosina em lipossomas

Inicialmente, por conta da indicação primária da miltefosina (*i.e.* tratamento de lesões cutâneas causadas por metástase de câncer de mama), estudos envolvendo a atividade antineoplásica em células de linhagens tumorais eram realizados com frequência.

As pesquisas de Zeisig *et al.* (1991, 1993, 1994) analisaram os efeitos antitumorais de diferentes APCs, como miltefosina (HePC), OPC e EPC, em modelos

murinos e linhagens celulares. Os estudos demonstraram que a miltefosina aumentou o tempo de sobrevivência, reduziu o volume tumoral e apresentou menor citotoxicidade e efeito hemolítico em comparação com seus análogos, além de se mostrar eficaz contra células P388 resistentes à mitoxantrona. Em contrapartida, OPC e EPC revelaram alta toxicidade e efeitos adversos. A citotoxicidade e o efeito antiproliferativo aumentaram proporcionalmente ao comprimento da cadeia carbônica dos APCs. Os estudos de Zeisig *et al.* (1993) mostraram que linhagens KB e M22 foram as mais sensíveis – especialmente KB, que apresentou maior citotoxicidade. Em ensaios com macrófagos peritoniais ativados (Zeisig *et al.*, 1994), observou-se aumento da especificidade para células tumorais (cerca de 30%) e maior liberação de óxido nítrico (NO) com MLV, embora a liberação de TNF tenha sido modesta. Os principais dados de efeitos observados para a miltefosina, linhagem celular analisada, tamanho de partícula e PDI estão resumidos na **Tabela 2**.

O estudo de Fichtner *et al.* (1994) utilizou dos lipossomas para avaliar a atividade antitumoral *in vitro* e *in vivo* de APCs contra 10 linhagens de carcinoma de mama experimentais (cf. **Tabela 2**), sendo eles positivos e/ou negativos para receptores de estrógeno e progesterona. Dentre as linhagens, MT-1 foi mais sensível à miltefosina e OPC, mostrando remissão completa após 10 dias de tratamento, enquanto miltefosina (lipossomal e em solução) apresentou alta atividade antitumoral para a linhagem MaTu. É interessante notar que as linhagens positivas para receptores não responderam bem ao tratamento com APC, mostrando a importância de considerar pacientes positivos/negativos para o tratamento correto. O estudo ainda indicou que, no grupo tratado com lipossomas SUV contendo miltefosina, a alteração de peso foi reduzida, além disto, esta nanoformulação apresentou hemólise reduzida.

A pesquisa de Arndt *et al.* (1997) investigou o efeito da estabilização estérica de lipossomas peguilados na atividade antitumoral de HePC. Diferentes lipossomas MLV e SUV com PEG-DSPE e PEG-DPPE foram produzidos, o que pode ser visto na **Tabela 2**. Adicionalmente na nanoformulação MLV, testes de citotoxicidade *in vitro* foram realizados e os resultados mostraram que, com exceção da linhagem MT-3, as demais apresentaram sensibilidade semelhante entre a lipossomas de HePC peguilada e a formulação apenas lipossomal. Em estudos *in vivo*, a mensuração da depuração de carbono indicou que os lipossomas peguilados foram menos fagocitados pelo sistema mononuclear, evidenciando que o poli(etilenoglicol) (PEG) conferiu proteção contra fagocitose. Nos ensaios de atividade antitumoral, observou-

se que não houve diferença significativa entre as formulações para as linhagens MT-1 e MT-3. Entretanto, para a linhagem MaTu, houve inibição significativa de atividade antitumoral com a formulação SUV-PEG₂₀₀₀-DSPE com miltefosina. A alteração no peso corporal foi utilizada como parâmetro de toxicidade gastrointestinal, sendo que os lipossomas causaram menor perda de peso (menor toxicidade).

Tabela 2: Tabela contendo informações de método de preparação, linhagem celular analisada e tamanho dos lipossomas contendo miltefosina (HePC), OPC ou EPC. Os resultados de efeito observado são apenas dos lipossomas com miltefosina.

APCs comparadas	Método de preparação	Efeito observado para HePC	Linhagem celular	Tamanho (nm)	PDI	Referência
HePC, OPC e EPC	MLV: Método de cama lipídica SUV: Sonificação	Sem atividade antitumoral	P388 leucemia, B16 melanoma e Ca 755	-	-	(Zeisig <i>et al.</i> , 1991)
		Atividade antitumoral	Carcinoma mamário C3H, MT-1 tumor mamário e P388/Miltex	-	-	
HePC, OPC e EPC	MLV: Método de cama lipídica SUV: Sonificação	Aprisionamento de mitoxantona, Redução de IC50, aumento da citotoxicidade	KB e M22	MLV: 500 SUV: 47	-	(Zeisig <i>et al.</i> , 1993)
HePC, OPC e EPC	MLV: Método de cama lipídica SUV: Sonificação	Aumento de citotoxicidade, maior liberação de NO, pouca liberação de TNF, ativação de macrófagos	MethA sarcoma e C6 cólon adenocarcinoma	MLV: 1281	0,86	(Zeisig <i>et al.</i> , 1994)
				SUV: 77	0,24	
HePC, OPC e EPC	MLV: Método de camada lipídica SUV: Sonificação	Crescimento do tumor →	BO (+) e 3366(+)	-	-	(Fichtner <i>et al.</i> , 1994)
		Atividade antitumoral →	MT-1 (-), MT-3 (-), MaTu(-),			
		Sem atividade antitumoral →	MCF-7(+) e 4049 (+)			
		Atividade não indicada →	4296(-), 4000 (-), 4151 (-)			
		Foi observado efeito hemolítico reduzido				
HePC lipossomal peguilada e HePC lipossomal	MLV: Método de camada lipídica SUV: Sonificação	Maior redução tumoral para MaTu, menor perda de peso corpóreo, menor captura pelo sistema fagocitário	MaTu, MT-1 e MT-3, MCF-7	HPC/Ch/PEG ²⁰⁰⁰ DSPE/DC P: 897 HPC/Ch/PEG ²⁰⁰⁰ DSPE: 1487 HPC/Ch/PEG ²⁰⁰⁰ DPPE: 1013	-	(Arndt <i>et al.</i> , 1997)
				SUV-PEG 2000-DSPE: 84		

HePC: miltefosina. **Fonte:** Autora.

Os estudos de Eue (2001) também sugerem que, além da atividade antitumoral da miltefosina, os macrófagos ativados por miltefosina também participam no mecanismo antitumoral para linhagens de carcinoma mamário (MDA MB 435 e 231). Isso porque, no grupo tratado com miltefosina lipossomal IV, houve redução significativa do volume tumoral e as análises histológicas mostraram grande infiltração de macrófagos no tecido mamário. O estudo ainda revelou que a toxicidade da miltefosina pode ser mediada por IL-6 e TNF α , mas não mediada por NO e IFN-1 α , contradizendo outros estudos que mostram a participação do NO no mecanismo de toxicidade.

Kaufmann-Kolle *et al.* (1994) analisaram de forma comparativa a farmacocinética e a atividade de miltefosina livre e em SUVs administrados por VO e IV. Os lipossomas foram preparados por meio do método de célula de prensa francesa e apresentaram tamanho de partícula de 70 nm. Os melhores resultados foram obtidos para a administração IV, mas a administração VO também apresentou resultados satisfatórios, podendo ser observada na **Tabela 3**. O $t_{(1/2)}$ para IV seguiu duas ordens: 0,5 h para distribuição, seguido de fase mais lenta (16 h) para eliminação, com concentração máxima de 73 mg/L. Já a área sob a curva (AUC) para IV foi ligeiramente mais efetiva que as encontradas para a forma livre. Curiosamente, porém, para a administração VO, os valores de AUC foram maiores. O estudo também mostrou que o grupo tratado com miltefosina-SUV VO não apresentou alterações drásticas de peso corporal, enquanto o grupo miltefosina livre mostrou redução do peso corporal, danos gastrointestinais macroscópicos e pele enrugada. Os testes com miltefosina IV mostraram redução no volume do tumor com remissão completa em alguns casos. Após o término da terapia, entretanto, o tumor voltou a crescer. É interessante notar que a formulação lipossomal causou alterações de peso e aumento de mortalidade em 20%.

Tabela 3: Tabela contendo tipo de cinética, tempo de meia vida (h), tempo para concentração máxima (h), concentração máxima (mg/l) e alteração no peso corporal observado para os três grupos estudados: HePC livre, HePC - SUV via oral e HePC - SUV intravenoso.

	HePC livre (VO)	HePC - SUV (VO)	HePC - SUV (IV)
Cinética	1ª ordem	1ª ordem	Bifásica
t_(1/2) (h)	48	120	$t\alpha = 0,5$ $t\beta = 16$
t_{max} (h)	24	24	0
C_{max} (mg/l)	22	14	73
Alteração de peso corporal	Observado	Não observado	Observado

HePC: miltefosina. **Fonte:** Kaufmann-Kolle *et al.*, 1994.

4.5.1.2 Miltefosina como adjuvante em lipossomas

Diversos estudos investigaram a miltefosina como componente de nanoformulações lipossomais com outros fármacos de interesse antitumoral. Arndt *et al.* (2001) avaliaram lipossomas de bleomicina contendo miltefosina como lipídio de membrana. Embora as formulações peguilladas apresentassem melhora no tamanho de partícula e na eficiência de encapsulação (EE%), os resultados mostraram aumento da toxicidade para algumas linhagens tumorais, porém não aumentou significativamente a eficácia terapêutica.

Papagiannaros *et al.* (2005a) investigaram a atividade sinérgica entre miltefosina e lipossomas de doxorrubicina (Dox), incorporando a Dox em complexos dendrímeros PAMAM (de poli(amidoamina)) e associando-os a lipossomas contendo miltefosina e EPC. A formulação com miltefosina apresentou liberação mais lenta da Dox, melhor índice de inibição de crescimento (IG₅₀), menor concentração de inibição total (TGI) — com exceção da linhagem HCT116 — e valores reduzidos de LC₅₀, indicando maior citotoxicidade, citostaticidade e capacidade inibitória de crescimento (cf. **Tabela 4**). Em continuidade, Papagiannaros *et al.* (2006) aprofundaram os estudos com lipossomas de Dox contendo miltefosina. A formulação apresentou melhor perfil de liberação e retenção da Dox, com dependência de temperatura e tempo. Os ensaios *in vivo* demonstraram melhora na atividade antitumoral da Dox para linhagens humanas, e, embora a eficácia tenha sido reduzida em células PBMCs (células mononucleares do sangue periférico) ativadas, observou-se aumento no índice terapêutico da formulação.

Tabela 4: Diferentes formulações contendo miltefosina como adjuvante; apresenta informações de composição da formulação, método de preparação, fármaco principal no lipossoma, tamanho, ZP, EE%, linhagens tumorais estudadas e efeitos observados para os lipossomas.

Composição da formulação	Método de preparação	Fármaco principal	Tamanho (nm)	ζ (mV)	EE (%)	Linhagens tumorais	Efeitos observados	Referência
Bleomicina, EPC, HePC, Ch, DCP, PEG-PE	MLV: Camada lipídica fina SUV: Sonificação LUV: Extrusão	Bleomicina	110	-	47	Carcinoma pulmonar de Lewis, P388 leucemia, melanoma B16	Aumento da toxicidade e letalidade sem aumento de eficácia	(Arndt <i>et al.</i> , 2001)
Dox, HePC, EPC, SA	Hidratação de filme fino	Dox	114,9	-22,0	91	HT29, HCT116, NCI-H460, DMS114, MDA-MB435, MCF-7, DU145 e SF268	IG ₅₀ reduzido, TGI otimizados, LC ₅₀ favoráveis. Linhagens DMS114, NCI-H460 e MB435 foram mais sensíveis	(Papagiannaros <i>et al.</i> , 2005a)
Dox, HePC, EPC, SA	Lipossoma: Evaporação em fase reversa Adição de Dox: gradiente de pH	Dox	306,9	-8,4	98,5	DMS114, NCI-H460, U251, SF268, MDA-MB435, MCF7, DLD1, HCT116, PC3, UACC 62, OVCAR5, HL60, MOLT4, K562 e PBMCs*	Maior atividade de Dox para as linhagens tumorais, menor atividade para PBMC, índice terapêutico melhorado	(Papagiannaros <i>et al.</i> , 2006)

HePC: miltefosina. **Fonte:** Autora.

4.5.1.3 Miltefosina lipossomal para tratamento de leishmaniose

Posteriormente, estudos envolvendo lipossomas de miltefosina para tratamento antileishmania começaram a ser elaborados. Papagiannaros *et al.* (2005b) realizaram testes com lipossomas com miltefosina HePC em concentrações diferentes de estearilamina (SA) (cf. **Tabela 5**). Pode-se observar que as formulações 1 e 2 foram mais ativas contra a forma promastigota selvagem de *Leishmania donovani*, enquanto os lipossomas 3 foram três vezes mais ativos contra a linhagem promastigota de *L. donovani* resistente à miltefosina. No entanto, nenhuma das três formulações tiveram ação contra amastigotas intramacrófagos. O estudo analisou que mesmo as formulações 1 e 2 sendo mais eficazes contra a forma promastigota selvagem, o tamanho de partícula não estava envolvido na atividade antileishmania por ser muito

grande para ser fagocitado. Entendeu-se, então, que os lipossomas podem ter sido adsorvido na superfície do parasita, liberando miltefosina gradualmente.

Já os lipossomas construídos por Momeni *et al.* (2013) visaram o estudo dos lipossomas de miltefosina para tratamento de leishmaniose cutânea causada por *L. major* em modelos murinos. Como resultado, obteve-se redução significativa do tamanho das lesões, redução na contagem de amastigotas e melhora do efeito terapêutico para as formulações contendo miltefosina. A **Tabela 5** mostra os parâmetros de tamanho de partícula, ZP e EE% para as formulações 8 e 16, contendo miltefosina. Resultados semelhantes foram obtidos por Najafian *et al.* (2016), ao elaborarem lipossomas com miltefosina para o tratamento de leishmaniose cutânea. Os resultados revelaram IC₅₀ e IC₉₀ reduzidos (indicando maior eficácia contra o parasita) para amastigotas de *L. major* quando comparado com lipossomas convencionais e miltefosina livre. Além disso, o índice de seletividade (IS) (CC₅₀/IC₅₀) para os lipossomas com miltefosina foi superior (> 12,5) aos resultados obtidos para lipossomas e miltefosina livre, com o CC₅₀ representando a concentração necessária para causar 50% de morte celular. O IS relaciona a citotoxicidade associada à eficácia biológica do fármaco (se IS >10) e os parâmetros podem ser visualizados na **Tabela 5**.

Tabela 5: Tabela contendo a formulação, método de preparação, tamanho, ZP, PDI, EE% e IC₅₀ dos lipossomas com miltefosina para tratamento de leishmaniose.

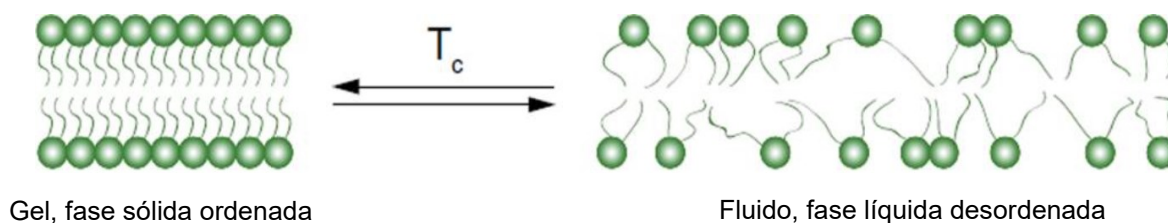
Formulação	Método de preparação	Tamanho (nm)	ζ (mV)	PDI	EE (%)	IC ₅₀ (μM)	Referência
HePC, EPC, SA 1 - 10:10:0,1	Evaporação de fase reversa	103,7*	-3,2*	0,16*	-	5,6	(Papagiannaros <i>et al.</i> , 2005b)
2 - 10:10:0,5		77,3*	1*	0,34*	-	6,2	
3 - 10:10:1		127,5*	1,3*	0,2*	-	22,3	
HePC, EPC, PE, PG e Ch	Dupla emulsão de liofilização modificada	Formulação 8: 123	- 65,7	-	54	-	(Momeni, 2013)
		Formulação 16: 125	- 64,2	-	57	-	
HePC, Ch, SA, vitamina E e DOPC	Hidratação e extrusão de filme lipídico	56,72	15,5	0	95,53	1,6	(Najafian <i>et al.</i> , 2016)

HePC: miltefosina, *antes da reconstituição. **Fonte:** Autora.

4.6 Lipossomas termossensíveis (TSL)

Os lipossomas termossensíveis (TSL) são compostos por lipídeos que passam por transição de fase em resposta ao aquecimento. As membranas lipídicas apresentam temperatura de transição de fase (T_c) característica, na qual passam por transição de fase de gel para fase líquida. Na fase gel, as cadeias lipídicas são orientadas ao plano bidimensional. Após o aquecimento, porém, a mobilidade da cabeça polar ganha dinâmica e, quanto mais próximo à T_c , maior mobilidade da região polar. Ao superar T_c , a bicamada existe na fase líquida, possibilitando maior permeabilidade, movimentação livre e fluidez. Desse modo, o fármaco que se encontra dentro do lipossoma pode extravasar (Ta; Porter, 2013). A **Figura 6** mostra um esquema resumido de formação de TSLs.

Figura 6: Imagem ilustrativa da conversão dos lipossomas termossensíveis (TSL) em fase gel para a fase fluida sob efeito de temperatura.



Fonte: Ta; Porter, 2013, adaptado.

Nos testes de miltefosina em TLS formulados por Lindner *et al.* (2008), os TLS foram preparados por meio da técnica de hidratação e extrusão de filme lipídico. Duas formulações distintas continham miltefosina e, apesar das diferenças na composição lipídica, os resultados encontrados para ZP e tamanho de partículas foram semelhantes, e mostrados na **Tabela 6**. O estudo revelou que a citotoxicidade tumoral *in vitro* e a captação celular de miltefosina foram induzidas pelo calor.

Tabela 6: Tabela contendo a composição, método de preparação, tamanho, ZP e a temperatura de transição de fase de TSL contendo miltefosina.

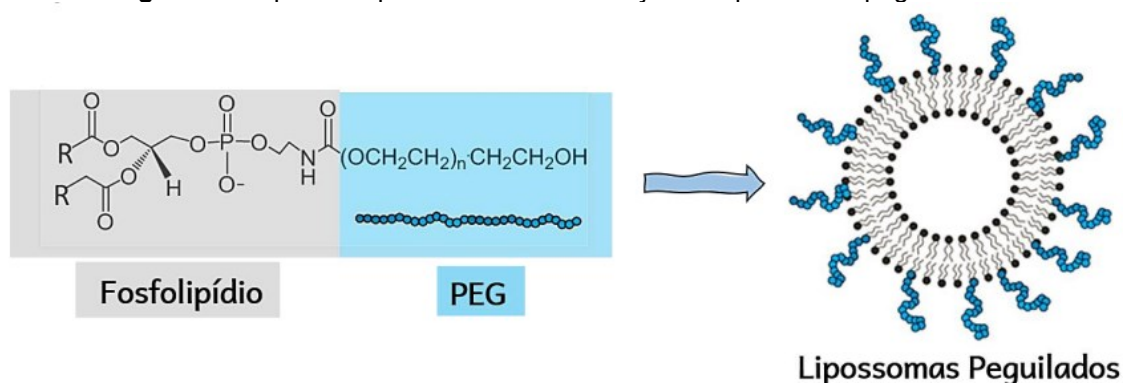
Composição	Método de preparação	Tamanho (nm)	ζ (mV)	T _c (°C)	Referência
HePC-OG/LTSL	Hidratação e extrusão de filme lipídico	174	-38,6	42,9	(Lindner <i>et al.</i> , 2008)
HePC-OG/HTSL		170	-37,4	48,5	

Fonte: Autora.

4.7 Lipossomas peguilados

Os lipossomas peguilados apresentam lipídeos modificados com adição covalente de cadeias de PEG na face externa, conforme mostrado na **Figura 7**. Vantagens podem ser obtidas como proteção ao fármaco internalizado, maior tempo de circulação e prevenção no reconhecimento pelo sistema fagocitário em razão da estabilização estérica conferida pelo PEG adicionado (Freitas *et al.*, 2020; Torchilin, 2005).

Figura 7: Esquema representativo da formação de lipossomas peguilados.



Fonte: Freitas *et al.*, 2020, adaptado.

Os estudos de Zeisig *et al.* (1996a) buscaram entender a influência dos lipossomas peguilados na ativação dos macrófagos, utilizando diferentes tipos de PEGs para as formulações de lipossomas com miltefosina. Dentre as formulações elaboradas, a PEG-MLV com miltefosina foi utilizada para testes *in vitro* de ativação de macrófagos, com avaliação da liberação de NO e de TNF (marcadores citotóxicos).

Os lipossomas foram preparados pelo método de hidratação de camada lipídica seguido por sonificação, e foi observado que a formulação de PEG-MLV com miltefosina não alterou a liberação de NO e não teve efeitos significativos na liberação de TNF pelos macrófagos quando comparados com grupo controle. Além disso, os resultados mostraram atividade do sistema mononuclear fagocítico reduzido. Estudos posteriores dos mesmos autores (Zeisig *et al.*, 1996b) reforçaram que lipossomas peguilados reduzem em mais de 50% a absorção e internalização por macrófagos do sistema fagocitário.

O estudo de Eue (1998) também mostrou que a peguilação, independentemente do tamanho da cadeia de PEG, reduziu a fagocitose por conta do efeito estérico em comparação com miltefosina lipossomal convencional (sem peguilação). Os lipossomas peguilados utilizados nos ensaios de fagocitose tinham tamanho de partícula de 1.267 nm e PDI 0,55, e foram preparados da mesma maneira que o anterior (hidratação de camada lipídica seguido por sonificação).

Já os estudos de Arndt *et al.* (1999) demonstram os efeitos da peguilação em parâmetros farmacocinéticos em tumores de modelos murinos. A Tabela 7 resume os valores encontrados para AUC, clearance e tempo de meia vida para a formulação PEG-SUV com miltefosina. Em suma, houve aumento da área sob a curva que pode significar maior exposição do fármaco ao organismo, o que corrobora os dados de clearance reduzido para PEG-SUV. Os dados também mostraram um aumento do pico do fármaco na concentração plasmática (menor volume de distribuição), além melhorar a distribuição de miltefosina em tumores intestinais, renais, mamários e do baço e aumentar a atividade antitumoral. O tempo de meia vida foi reduzido, mas acredita-se que tenha ocorrido por uma troca de miltefosina dependente do tempo de PEG-SUV para proteínas e lipídios plasmáticos, em conjunto com a localização dos lipossomas peguilados na pele.

Tabela 7: Parâmetros farmacocinéticos para a formulação de PEG-HePC-SUV.

Composição	Método de preparação	Pico de fármaco na concentração plasmática (h)		AUC (mmolh ⁻¹)	Clearance	t _(1/2) (h)	Referência
DCP, Ch, miltefosina, PEG ₂₀₀₀ DSPE,	Hidratação de filme fino + sonificação	IV: ~0,25	VO: 4	7.499,41	0,1531	60,51	(Arndt <i>et al.</i> , 1999)

Fonte: Autora.

4.7.1 Miltefosina como adjuvante em lipossomas peguilados

A miltefosina pode ser utilizada como adjuvante em formulações lipossomais contendo Dox com objetivo de promover efeito sinérgico antitumoral. Teymouri *et al.* (2015) investigaram essa associação em modelos de carcinoma de cólon C26 e melanoma B16F0, utilizando técnicas de hidratação e extrusão de filme lipídico fino para produção dos lipossomas, com encapsulamento da Dox por gradiente de sulfato de amônio. Os estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram melhora farmacocinética, aumento da eficiência antiproliferativa e redução tumoral. No entanto, a combinação de 4% de miltefosina em lipossomas peguilados de Dox a 10 e 15 mg/kg causou letalidade em todos os animais, revelando riscos do efeito sinérgico em determinadas concentrações. A estabilidade física das formulações (tamanho, ZP e PDI) não foi significativamente alterada pela presença de miltefosina.

Em estudo subsequente, Teymouri *et al.* (2016) avaliaram a inserção do peptídeo Tat na formulação lipossomal com miltefosina. A técnica envolveu a pós-inserção de micelas Tat-PEG-DSPE à membrana lipídica, e os lipossomas foram novamente preparados por hidratação e extrusão, com encapsulamento da Dox por gradiente de sulfato de amônio. Os resultados mostraram que a introdução do Tat comprometeu a eficácia terapêutica, promovendo remoção de Dox das áreas-alvo e reduzindo seu acúmulo em tecidos tumorais. A miltefosina, por sua vez, não apresentou efeito sinérgico ou acúmulo nos tecidos, indicando limitações na formulação proposta.

4.8 Micelas

As micelas são agregados supramoleculares anfifílicos formados de maneira espontânea. As moléculas anfifílicas possuem cabeça polar e cauda apolar, e estão dispersos em líquido formando estruturas coloidais (Maniasso, 2001). A parte polar se dispõe na superfície a fim de interagir com o meio aquoso e com os contra íons (Moutinho *et al.*, 2004). Dentre os artigos analisados, foram encontrados estudos que retratam do uso de micelas mistas e micelas poliméricas para encapsulação miltefosina, descritos a seguir.

4.8.1 Micelas Mistas

As micelas mistas são agregados supramoleculares cuja estrutura é formada pela combinação de moléculas anfifílicas diferentes (Moutinho *et al.*, 2004). Ménez *et al.* (2007) desenvolveram estudo de caracterização para avaliar a interação de micelas mistas de miltefosina e anfotericina B (AmB) para possível tratamento em biterapia para leishmaniose visceral. As micelas foram preparadas por adição de AmB em solução de miltefosina e ficou evidenciado que a miltefosina, em concentrações acima da sua concentração micelar crítica (CMC), é capaz de solubilizar e incorporar AmB dentro de suas micelas.

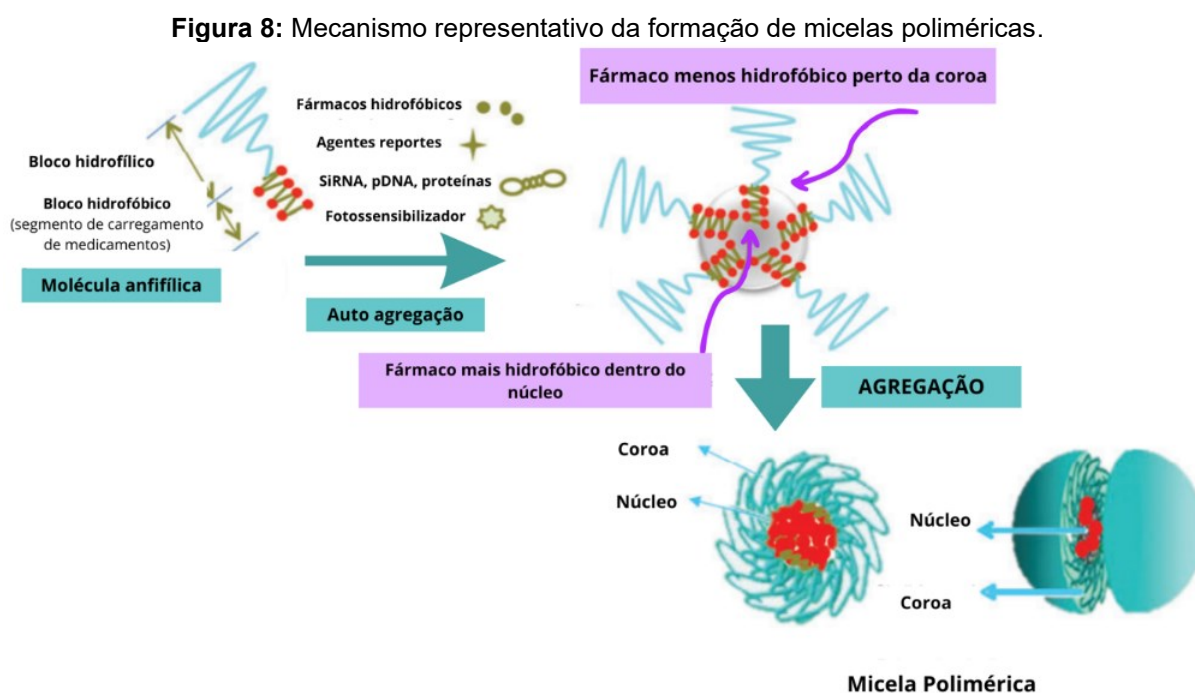
Carregal *et al.* (2019) também realizaram estudos com micelas mistas utilizando miltefosina e complexos anfifílicos de antimônio pentavalente (precisamente o SbL8) para a formação das micelas. O antimônio pentavalente também é utilizado para tratamento de leishmaniose. Apresenta, contudo, desvantagens, como efeitos adversos graves, administração parenteral lenta com necessidade de apoio hospitalar e resistência medicamentosa. Assim, a partir de modelos murinos, buscou-se estudar como a terapia combinada de miltefosina e SbL8 afeta o tratamento de leishmaniose cutânea. As micelas mistas foram preparadas pela adição simples de miltefosina à solução concentrada de SbL8, e o complexo apresentou tamanho de 134 nm, PDI 0,597 e ZP -29,4 mV. Após 30 dias de tratamento, o grupo de animais tratados com o complexo miltefosina/SbL8 não somente mostrou redução no tamanho das lesões, mas também redução de carga parasitária nos locais lesionados.

4.8.2 Micelas Poliméricas

As micelas poliméricas são agregados macromoleculares formados a partir de copolímeros em blocos ou copolímeros de enxerto, que se agregam em solução por possuírem caráter anfifílico. As micelas formadas possuem estrutura com um núcleo interno hidrofóbico e um revestimento externo hidrofílico (Yokoyama, 2014). O núcleo hidrofóbico favorece a incorporação de moléculas pouco solúveis em água enquanto a porção hidrofílica confere estabilidade estérica (Sant; Smith; Leroux, 2005).

Alguns polímeros, como PEO (poli (óxido de polietileno)), PPO (poli(óxido de polipropileno)) PLA (poli (lactídeo)), PCL (Poli(ϵ -caprolactona)), e poloxâmeros, como

Pluronic®, são biocompatíveis (Mora-Huertas; Fessi; Elaissari, 2010) e bastante utilizados para a formação de micelas poliméricas. A **Figura 8** mostra um esquema de formação de micelas poliméricas.



Fonte: Movassaghian; Merkel; Torchilin, 2015, adaptado.

O encapsulamento de fármacos em micelas poliméricas tem mostrado benefícios principalmente no que diz respeito à redução de efeitos adversos e no aumento da biodisponibilidade dos fármacos. Outro ponto importante no uso de micelas poliméricas é o tamanho de partícula: enquanto lipossomas convencionais podem ter tamanho entre 100 – 200 nm, os sistemas poliméricos micelares têm tamanho reduzido entre 10 – 80 nm (Feitosa *et al.*, 2019).

Dos estudos analisados, os copolímeros Pluronic, Tetronic® e o TPGS (succinato de polietilenoglicol de D- α -tocoferila) foram predominantemente utilizados para a formação das micelas poliméricas. A variação na polimerização dos blocos de PEO e PPO conferem polímeros distintos com diferentes pesos moleculares, propriedades físico-químicas e perfis de solubilidade (Feitosa *et al.*, 2019). O Pluronic é um copolímero tribloco de PEO-PPO-PEO, enquanto o Tetronic é um polímero com oito blocos de PEO e PPO distribuídos em quatro segmentos diferentes e separados por etileno diamina. É importante ressaltar que o Tetronic é sensível à variação de pH,

abrindo possibilidade para que a liberação do fármaco ocorra mediante gatilho de pH (Puig-Rigall *et al.*, 2020).

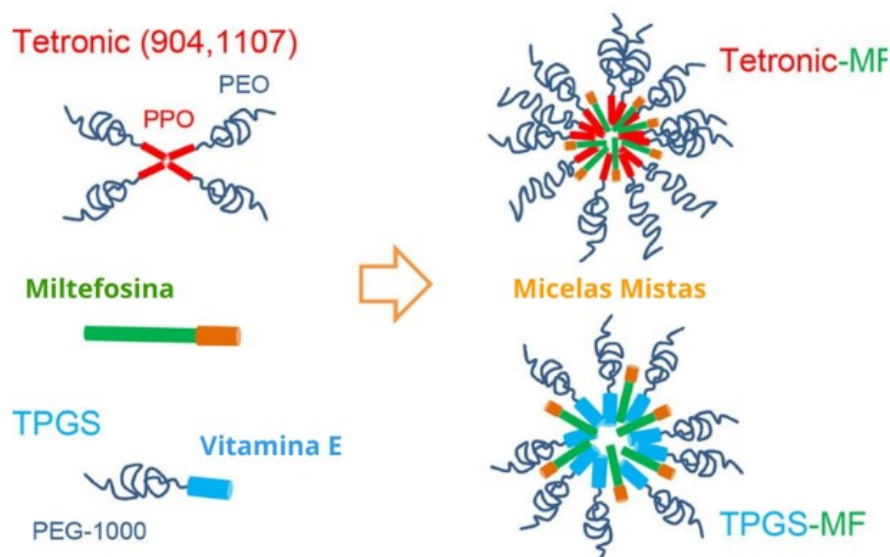
Valenzuela-Oses *et al.* (2017) realizaram os primeiros estudos utilizando micelas poliméricas de Pluronic com miltefosina a fim de avaliar o potencial hemolítico e as vantagens da formulação para o tratamento oncológico. As micelas foram preparadas pelo método de hidratação de filme fino e apresentaram formato esférico. O estudo mostrou que o potencial hemolítico é dependente da dose de miltefosina, e em doses de até 125 μM o potencial hemolítico da formulação é muito inferior quando comparado ao fármaco livre. Além disso, a incorporação da miltefosina em micelas de Pluronic preservou a atividade antitumoral do fármaco em linhagem de células HeLa (linhagem celular de carcinoma cervical humano). A **Tabela 8** demonstra os dados encontrados para as micelas poliméricas de miltefosina e Pluronic para esse estudo.

Os estudos de Feitosa *et al.* (2019) também avaliaram a capacidade anti-hemolítica da miltefosina quando incorporada às micelas poliméricas de Pluronic. Para as análises e caracterizações, Pluronic de diferentes tamanhos moleculares foram testados em conjunto com miltefosina, a partir de micelas poliméricas preparadas por método de dissolução direta, porém o Pluronic F127 mostrou melhores resultados de tamanho de partícula, PDI e potencial hemolítico. Os estudos *in vitro* revelaram que micelas de Pluronic F127 inibiram completamente a hemólise da miltefosina. Além disso, Pluronic F127 a 3% pode carregar até 300 $\mu\text{g/mL}$ de miltefosina sem a ocorrência de hemólise, fato que pode propiciar possíveis usos parenterais de miltefosina. A **Tabela 8** mostra o tamanho de partícula, PDI e potencial hemolítico das micelas analisadas.

Puig-Rigall *et al.* (2020) elaboraram estudos envolvendo a caracterização estrutural por meio de espalhamento de luz e de nêutrons de pequeno ângulo, e a avaliação biológica tanto de Tetronic 904 e 1107 (T904 e T1107) quanto de TPGS como nanocarreadores de miltefosina, a **Figura 9** mostra a representação da formação dessas micelas. Os tamanhos de partícula das três formulações são mostrados na **Tabela 8**, e pode-se observar que a variação dependeu do tipo de polímero utilizado, da temperatura e da porcentagem de surfactante na formulação. Nos estudos biológicos em modelos murinos infectados por *L. major*, as micelas de Tetronic e miltefosina (T904-MF) mostraram redução da concentração efetiva 50% (EC_{50}) (cf. **Tabela 8**) contra promastigotas extracelulares e amastigotas intracelulares, enquanto as micelas de T1104 e TPGS não mostraram resultados significantes.

Assim, os estudos envolvendo micelas poliméricas mostrou as vantagens de uma possível formulação tópica gel para o tratamento de leishmaniose cutânea.

Figura 9: Representação da formação de micelas poliméricas de Tetronic, TPGS e miltefosina.



Fonte: Puig-Rigall *et al.*, 2020, adaptado.

Tabela 8: Tabela contendo composição, método de preparo e valores de tamanho de partícula, PDI, potencial hemolítico e IC₅₀ de micelas poliméricas de polímeros como Pluronic, Tetronic e TPGS, contendo miltefosina.

Composição	Método de preparação	Tamanho (nm)	PDI	Potencial hemolítico (%)	IC ₅₀ ou EC ₅₀ (μM)	Referência adaptada
Miltefosina, Pluronic127	Hidratação de filme fino	29-40	-	< 50	8,1	Valenzuela-Oses <i>et al.</i> (2017)
Miltefosina, Pluronic	Dissolução direta	27,5	0,15	~0	-	Feitosa <i>et al.</i> (2019)
Miltefosina, TPGS	-	5-5,5	0,15	-	6,82	Puig-Rigall <i>et al.</i> (2020)
Miltefosina, Tetronic 904		3,5-5,5	0,15	-	6,13	
Miltefosina, Tetronic 1107		3,3-5,5*	0,15	-	7,01	

* Tamanho de partícula aumenta com o aumento de temperatura. **Fonte:** Autora.

4.9 Lipoplexos

Os lipoplexos são lipossomas catiônicos carreadores sintéticos lipídicos não virais de DNA. Por conta da carga positiva, formam complexos estruturais com o DNA, que é carregado negativamente. O complexo lipossoma-DNA entra na célula por

endocitose ou por fusão com a membrana celular, e, dentro da célula, o DNA é liberado para que ocorra a expressão gênica. A **Figura 10** demonstra representativamente a formação de um lipoplexo. Os lipoplexos protegem o ácido nucleico da degradação enzimática e da ativação do sistema imune propiciando vantagem para terapia gênica (Ostróžka-Cieślik; Sarecka-Hujar., 2017).

Figura 10: Ilustração esquemática da formação de lipoplexos.



Fonte: Thapa; Narain, 2016, adaptado.

Nesse contexto, Zeisig *et al.* (2003) realizaram estudo utilizando APCs como componentes estruturais da nanoformulação, uma vez que interagem com a membrana celular alterando sua organização. Assim, o uso de APCs pode promover o transporte transmembrana do lipoplexo. O plasmídeo pSV40-bGal foi complexado externamente com os lipídios catiônicos para formar os lipoplexos e a expressão gênica *in vitro* foi marcada pela atividade enzimática de LacZ, o gene repórter, em linhagens de célula de carcinoma colorretal humano. O lipoplexo mais eficiente, com maiores níveis de transfecção, foi usado para testes de transferência gênica *in vivo* do gene da citosina desaminase em células de carcinoma de cólon humano C26. Nesse estudo, os lipossomas de diversos APC, incluindo a miltefosina (HePC), foram preparados pela técnica de filme lipídico/hidratação, e, em todos, o nível máximo de transfecção de LacZ ocorreu dentro de 8 horas. Contudo, os resultados mostraram que o lipossoma de miltefosina tiveram baixa taxa de transfecção, enquanto o APC mais eficiente foi o de tetradecilfosfolina de cadeia curta. Foi observado também que houve atraso no crescimento tumoral, porém o crescimento retornou após o 17º dia.

4.10 Nanopartículas

As nanopartículas são estruturas de tamanho entre 1 e 100 nm que apresentam propriedades físicas, químicas e biológicas relacionadas com seu tamanho reduzido. No campo da ciência biológica, diversos tipos de nanopartículas podem ser produzidos, a fim de proporcionar melhoria tanto das características físico-químicas quanto das biológicas, além de reduzir/evitar problemas com solubilidade, entrega de fármaco, efeitos tóxicos, biodisponibilidade etc.

Pensando nisso, Kumar *et al.* (2016) elaboraram estudo a fim de avaliar um sistema de entrega de miltefosina encapsulada em nanocarreadores de PLGA (poli(lactídeo-co-glicol)) e PEG a fim de melhorar a terapia contra leishmaniose visceral. O objetivo desse estudo foi melhorar a absorção da miltefosina em macrófagos de tecido infectados com *L. donovani*. As nanopartículas PPEM (nanopartículas de miltefosina encapsuladas em PLGA-PEG) foram sintetizadas por nanoprecipitação e obtiveram-se partículas esféricas com distribuição de tamanho de partícula mostrada na **Tabela 9**. Para amparar a eficácia na miltefosina encapsulada foram realizados testes de sensibilidade em parasitas *L. donovani*, obtendo um resultado de redução de IC₅₀ quando comparado tanto com a miltefosina convencional quanto com AmB. Os testes *in vivo* em modelos de hamster mostraram que PPEM reduziu a carga parasitária amastigota hepática, mostrando-se eficaz contra leishmaniose visceral em comparação com a terapia convencional.

Khokhar *et al.* (2022) também desenvolveram nanopartícula com miltefosina, porém revestida de quitosana a fim de avaliar a citotoxicidade e a eficácia *in vitro*. A nanocápsulas de quitosana carregadas com miltefosina (MF-CNPs) foram produzidas pelo método de gelificação iônica e tinham formato esférico. A **Tabela 9** mostra os dados de tamanho de partícula, ZP e EE%. Os testes *in vivo* mostraram que o perfil de liberação de miltefosina da formulação MF-CNPs segue em duas fases, sendo na primeira fase uma liberação mais rápida, e, na segunda fase, uma liberação gradual (em torno de 48h). Além disso, a formulação nanoencapsulada mostrou redução na atividade hemolítica (cf. **Tabela 9**) quando comparada com miltefosina livre. O IC₅₀ foi reduzido (cf. **Tabela 9**), corroborando com o ensaio de toxicidade que mostra que MF-CNPs são mais tóxicos tanto para amastigotas quanto para promastigotas, reduzindo a viabilidade dos parasitas.

4.10.1 Nanopartículas de miltefosina para outras doenças

Nanopartículas com miltefosina também foram avaliadas para outras doenças. Spadari *et al.* (2019) desenvolveram nanopartículas de alginato com miltefosina para tratamento de candidíase e criptococose. A **Tabela 9** mostra os valores encontrados para tamanho de partícula, PDI, ZP e EE%. O estudo mostrou que a formulação não apresentou efeito hemolítico e aumentou o tempo de vida de larvas infectadas, além de mostrar liberação sustentada de miltefosina, mostrando que miltefosina também pode ser opção de tratamento antifúngico para candidíase e criptococose.

Barreto *et al.* (2021) também estudaram a eficácia de miltefosina em combinação com voriconazol em nanocarreadores de alginato – porém, para tratamento de aspergilose. Foi observado efeito sinérgico entre a miltefosina e o voriconazol em análises *in vivo*. Houve redução da carga fúngica e aumento de sobrevida em larvas infectadas por fungos.

4.10.2 Miltefosina como adjuvante em nanopartículas

A miltefosina também pode ser coadjuvante em nanopartículas. Soudi *et al.* (2019) delinearam um estudo de efeito protetor de nanopartículas de berberina, em que a miltefosina foi utilizada como revestimento das nanopartículas. A berberina é um agente protetor contra distúrbios neurodegenerativos, no entanto apresenta baixa biodisponibilidade oral e dificuldade em atravessar a barreira hematoencefálica. Assim, desenvolveram-se nanopartículas de berberina encapsulada em diferentes insumos de revestimento, incluindo a quitosana, miltefosina, Tween 80® e PEG. As formulações foram preparadas por meio de gelificação iônica e a formulação revestida com miltefosina apresentou tamanho de partícula e ZP aumentado quando comparado com a nanopartícula pura berberina-quitosana, mostrado na **Tabela 9**. Os estudos com a nanopartícula revestida com miltefosina mostraram que a formulação equilibrou os níveis de acetilcolina no cérebro para perto da normalidade, além de melhorar a entrega do fármaco no tecido cerebral. No entanto, a formulação de miltefosina como revestimento não restaurou os níveis normais de glicose no cérebro quando comparados com berberina livre, e induziu infiltração linfocítica moderada em tratos portais. Ademais, as nanoformulações com os diferentes revestimentos citados

inibiram o efeito hepatoprotetor observado em nanoformulações puras de berberina-quitosana.

Tabela 9: Tabela contendo composição, método de preparação e valores de tamanho de partícula, PDI, EE%, potencial hemolítico e IC₅₀ de nanopartículas de miltefosina, tanto para tratamento de leishmaniose quanto de outras doenças.

Composição	Método de preparação	Tamanho (nm)	ζ (mV)	PDI	EE (%)	Potencial hemolítico (%)	IC ₅₀ (µg/mL)	Referência
PLGA, PEG e miltefosina	Nanoprecipitação	10-25	-	-	-	-	0,1	(Kumar <i>et al.</i> , 2016)
Miltefosina, quitosana	Gelificação iônica	91,4	- 28	-	97	<5	Amastigota: 0,1008 Promastigota: 0,0218	(Khokhar <i>et al.</i> , 2022)
Alginato, miltefosina, Span 80, poloxâmero 407	Emulsificação/gelificação externa	279,1*	-39,7*	0,42	81,7	-	-	(Spadari <i>et al.</i> , 2019)
Quitosana, berberina e miltefosina	Gelificação iônica	187,7	36,33	0,35	-	~0	-	(Soudi <i>et al.</i> , 2019)

* Valor após liofilização. **Fonte:** Autora.

4.10.3 Nanopartículas lipídicas

As nanopartículas lipídicas são sistemas carreadores coloidais compostos de um ou mais lipídios de alto ponto de fusão (como triglicerídeos, glicerídeos parciais, ácidos graxos), formando um núcleo sólido revestido por surfactante (Mandawgade; Patravale, 2008). Geralmente, escolhem-se lipídios biocompatíveis e biodegradáveis para que seja viável a distribuição da encapsulação no organismo. Assim como outras nanoformulações, as nanopartículas lipídicas também foram desenvolvidas para suprir limitações físico-químicas e biológicas encontradas em moléculas livres, como, por exemplo, baixa disponibilidade oral, entrega de fármaco reduzida, efeitos indesejados, entre outros (Lima; Renzi; Campos, 2021).

Desse modo, Bitencourt *et al.* (2016) produziram nanopartículas lipídicas com miltefosina e avaliaram a suas características e estabilidade. O tamanho de partícula, assim como o PDI, dependeu da quantidade de miltefosina adicionada. Entendeu-se que, em altas concentrações de miltefosina, houve organização diferenciada dos lipídios, levando à formação de lipossomas ao invés de nanopartículas lipídicas, fato

que proporcionou as alterações observadas. Assim, a concentração de 15 mg/mL de miltefosina foi escolhida como ideal para os testes *in vitro* posteriores. Para essa formulação, foi encontrado tamanho médio de partícula de 54 nm, PDI 0,06 e ZP -50,4 mV, com boa estabilidade e sem formação de agregados. O teste de efeito hemolítico em eritrócitos de sangue humano indicou que a miltefosina encapsulada reduziu a hemólise. Além disso, a citotoxicidade em macrófagos murinos também foi reduzida. Ademais, a citotoxicidade da miltefosina aprisionada para formas promastigotas e amastigotas de *L.chagasi* foi semelhante à da miltefosina livre, indicando que não houve perda do efeito antileishmania, mesmo com a formação de nanopartícula. Testes de simulação em camundongos mostraram que houve redução na irritação no tecido gastrointestinal.

A miltefosina, também pode ser utilizada como auxiliar em nanoformulações lipídicas, como parte contribuinte da membrana lipídica ou como veículo coadjuvante de entrega de surfactantes, além de atuar como ação sinérgica para efeitos de outros fármacos. Tripathi *et al.* (2017), por exemplo, utilizaram a miltefosina como agente estabilizador em anfíliposferas revestidas de quitosana carregadas com AmB, a fim de melhorar a entrega de fármacos para tratamento de leishmaniose. As análises foram feitas em comparação com formulações contendo Tween 80 como estabilizante. Não houve diferenças significativas entre as duas formulações no que toca o tamanho de partícula e ZP. Os ensaios, contudo, mostraram que as formulações revestidas com miltefosina apresentaram liberação *in vitro* sustentada e maior taxa de captação por macrófagos. As análises *in vitro* mostraram que formulações contendo miltefosina como agente estabilizante apresentam maior atividade contra amastigotas intracelulares de macrófagos. Revelaram ainda maior captação pelo baço, fígado e maior liberação de NO devido ao efeito sinérgico dos fármacos. Mostraram, ademais, maior efeito antileishmania e capacidade hemolítica baixa. Os parâmetros de tamanho de partícula, ZP, PDI e EE% podem ser vistos na **Tabela 10**.

Amara *et al.* (2018) estudaram nanopartículas lipídicas de praziquantel (PZQ) modificadas. Nesse estudo, a miltefosina foi incorporada para melhorar a integridade estrutural da nanopartícula e conferir atividade à membrana, sendo mais interessante a formulação contendo 25 mg de miltefosina por reter maior carga de PZQ. As análises da formulação contendo miltefosina mostraram maior atividade antiparasitária, melhora na patologia hepática além de danos em estruturas tegumentares dos vermes. A **Tabela 10** mostra os parâmetros de tamanho de partícula, ZP, PDI e EE%.

Os estudos de Eissa *et al.* (2015, 2020) e El-Moslemany *et al.* (2016) foram feitos a fim de entender como a miltefosina poderia favorecer as formulações para tratamento de esquistossomose, doença negligenciada que afeta particularmente populações vulneráveis, com prevalência de saneamento básico precário (Brasil, 2023). Atualmente, a esquistossomose possui apenas um tratamento medicamentoso, o PZQ, que apresenta desvantagens como baixa solubilidade e biodisponibilidade, tempo de meia vida curta e falha na prevenção de reinfeção, o que torna válida a reposição de fármacos. Desse modo, Eissa *et al.* (2015) estudaram a miltefosina em nanoformulações lipídicas para possível tratamento de esquistossomose mansônica, em dose única. A miltefosina foi encapsulada em diferentes formulações, mas apenas a formulação lipídica com miltefosina, ácido oleico e CTAB⁺ (MF-LNC-OA-CTAB⁺) impediu a hemólise em 100%. Essa mesma formulação resultou em liberação mais lenta de miltefosina. Além disso, testes em modelos murinos mostraram que as nanoformulações lipídicas reduziram a carga parasitária e o tamanho do granuloma hepático quando comparada com o grupo controle (miltefosina livre) ou no grupo não tratado, principalmente a formulação nanoencapsulada de miltefosina e ácido oleico.

Posteriormente, El-Moslemany *et al.* (2016) deram continuidade ao estudo anterior, e analisaram o reposicionamento de fármaco em dose oral única de 20 mg/kg de miltefosina nanoencapsulada (MF-LNC-OA-CTAB⁺). A análise mostrou que os tamanhos de partículas foram semelhantes (cf. **Tabela 10**), 40,9 nm para a formulação MF-LNC-CTAB⁺ e 54,8 nm para MF-LNC-OA, porém com ZP distintos. A avaliação da carga de vermes apontou que ambas as formulações têm efeito favorecido em momentos distintos: enquanto MF-LNC-CTAB⁺ induz maior redução na carga parasitária no dia inicial da infecção, MF-LNC-OA tem maior papel inibitório quando administrado no 21º dia pós infecção. Além disso, as análises histopatológicas revelaram que, enquanto a MF-LNC-OA reduz o número de granulomas hepáticos, MF-LNC-CTAB⁺ reduziu o tamanho dos granulomas.

Estudos mais recentes de Eissa *et al.* (2020) combinaram PZQ e miltefosina (LNC-PZQ-MF) para terapia profilática de esquistossomose, em dose oral. Obtiveram-se nanoesferas com tamanho de partícula, ZP e PDI mostrados na **Tabela 10**. A avaliação parasitológica mostrou redução na contagem de vermes adultos e melhora nas lesões hepáticas, com cura dos granulomas no grupo tratado com LNC-PZQ-MF, além de não provocar efeitos tóxicos renais e hepáticos em modelos murinos. Assim, a nanocombinação apresentou efeito profilático significativo.

Tabela 10: Tabela contendo método de preparo e composição, além dos parâmetros de tamanho de partícula, potencial Zeta, PDI e EE% das nanopartículas lipídicas em que a miltefosina é utilizada como agente coadjuvante ou para tratamento de esquistossomose.

Composição	Método de preparação	Tamanho (nm)	ζ (mV)	PDI	EE (%)	Aplicação	Referência
Quitosana, AmB e miltefosina	Emulsificação + homogeneização de alta pressão	150,8	28,2	0,180	85,3	Coadjuvante	(Tripathi <i>et al.</i> , 2017)
PZQ, AO e miltefosina	Inversão de fase	50,8	- 8,9	0,04	99,8	Coadjuvante	(Amara <i>et al.</i> , 2018)
Miltefosina, AO e CTAB catiônico	Inversão de fases	39	38	0,082	> 97,5	Esquistossomose	(Eissa <i>et al.</i> , 2015)
Miltefosina, AO e CTAB catiônico	Inversão de fase	40,9	38,7	0,147	> 98	Esquistossomose	(El-Moslemany <i>et al.</i> , 2016)
Miltefosina e AO		54,8	12,5	0.057	> 98		
Span 80, PZQ, AO, miltefosina	Inversão de fase modificado	61,1	-6,2	0,09	> 95	Esquistossomose	(Eissa <i>et al.</i> , 2020)

Fonte: Autora.

4.10.4 Nanopartículas metálicas

As nanopartículas metálicas têm ganhado espaço em estudos envolvendo a nanotecnologia. Isso porque, em tamanho reduzido, as propriedades físico-químicas e biológicas são diferenciadas, possibilitando diversas aplicações. Além disso, a síntese de nanopartículas metálicas (normalmente de prata e ouro) se enquadra na “síntese verde” ao utilizar biomateriais de origem natural, em contraste com as sínteses químicas convencionais que podem ter efeitos tóxicos e incompatíveis para uso biológico (Kalangi *et al.*, 2016).

Kalangi *et al.* (2016) investigaram a atividade antileishmania da miltefosina em combinação com nanopartículas de prata (AgNP) utilizando extrato de endro (*Anethum graveolens*) como agente redutor. O AgNP sozinho não apresenta efeito antileishmania e, por isso, o estudo foi feito em combinação com a miltefosina (AgNP-MF). A síntese foi feita em etapa única e as fases de caracterização mostraram tamanho médio de partícula de 35 nm (entre 8 e 100 nm) e estrutura cristalina cúbica. As análises biológicas realizadas mostraram que AgNP-MF (concentrações de 12,5 e 25 μ M) induziram mais mortes de promastigotas em doses mais baixas quando comparados com a miltefosina sozinha, ou seja, a combinação reduziu o IC₅₀. Além

disso, análises morfológicas de promastigotas tratados com AgNP-MF indicam perda de integridade estrutural, como dano no flagelo e forma alterada, indicando possível morte, semelhante à apoptose. O estudo também verificou que a combinação entre AgNP-MF 12,5 μ M induziu quebras no DNA genômico, demonstrando morte por apoptose, semelhante à miltefosina isolada. Além disso, a combinação também reduziu a infecção de amastigotas em macrófagos. É interessante notar que AgNP sozinhos não mostraram toxicidade e ampliaram os efeitos antileishmania da miltefosina.

4.10.5 Nanocápsulas redox-responsivas

As nanocápsulas redox-responsivas são nanocarreadores reativos a estímulos biológicos que possibilitam a entrega do fármaco de forma mais eficiente em organelas específicas. No estudo de Tiwari *et al.* (2021), micelas poliméricas responsivas a GSH (glutathione) contendo miltefosina foram produzidas pelo método de miniemulsão inversa interfacial. A liberação é feita a partir da clivagem oxidativa de pontes dissulfeto induzida por GSH a fim de liberar o fármaco especificamente em lisossomos de macrófagos. Após caracterização, o tamanho médio das partículas esféricas foram de 160 nm, PDI \sim 0,07 e ZP de $-23,7$ mV, com EE% de 95%. Os testes antileishmania foram realizados em macrófagos infectados por promastigotas de *L. donovani* e os resultados indicaram redução de parasitas dependente de dose de miltefosina e redução de células infectadas por promastigotas. A morte dos parasitas por mecanismos semelhantes à apoptose foi avaliada pelo aumento de espécies reativas a oxigênio e de NO.

4.11 Micropartículas

As micropartículas apresentam tamanho em torno de 1 μ m a 10 μ m e podem ser utilizadas como nanocarreadores de fármacos (Kreuter, 1996). Pensando nisso, Das *et al.* (2011) analisaram *in vitro* de micropartículas de albumina carregadas com miltefosina para o tratamento de leishmaniose visceral. As micropartículas contendo miltefosina e albumina foram preparadas pelo método de *spray drying* seguido de

estabilização térmica. A **Tabela 11** mostra o tamanho de partícula e PDI que variou, a depender da pressão utilizada no *spray drying*. No entanto, a maioria das microesferas tinham tamanho entre 2 e 5 µm. O estudo também mostrou que a faixa de tempo de estabilização térmica afeta a taxa de liberação de miltefosina das microesferas de albumina: quanto maior a extensão da estabilização térmica, menor a taxa de liberação do fármaco. Além disso, verificou-se que cerca de 65% dos macrófagos engolfaram as microesferas em 90 minutos. Também foi observada redução da hemólise, em menos de 10%, mesmo em alta concentração de miltefosina carregada.

Tabela 11: Valores de tamanho de partícula (nm) e PDI das microesferas com miltefosina carregada em albumina a depender da pressão aplicada no *spray drying*.

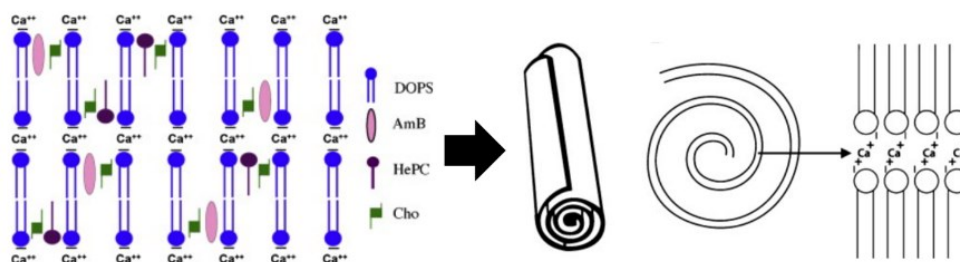
	Pressão (kg/cm ²)	
	2	2,5
Tamanho de Partícula (nm)	3.430	3.300
PDI	0,695	0,801

Fonte: Das *et al.*, 2011, adaptado

4.12 Nanoquelatos

Os nanoquelatos são estruturas em forma de charuto de bicamadas lipídicas carregadas negativamente e enroladas, unidas por cálcio, preparadas a partir de dioleoilfosfatidilserina (DOPS) e colesterol, e são capazes de acomodar medicamentos, como a miltefosina (Pham *et al.*, 2013). Os nanoquelatos possuem o interior livre de água e devido à sua estrutura não aquosa possibilitam liofilização. Dessa forma, são menos suscetíveis à oxidação dos fosfolipídios e podem manter sua estrutura após a liofilização, dando-lhes propriedades úteis de armazenamento (Pham *et al.*, 2014). A AmB é medicamento de segunda linha de tratamento para leishmaniose visceral. No entanto, apresenta efeitos indesejáveis, como alta toxicidade renal, resistência e baixa biodisponibilidade oral. Assim, a terapia combinada visa a contornar tais obstáculos. As análises de Pham *et al.* (2013) envolvendo a caracterização de AmB e miltefosina em nanoquelatos mostraram que ambas estão alocadas na interface entre as moléculas lipídicas (**Figura 11**).

Figura 11: Estrutura representativa do esquema de organização do nanoquelato.



Fonte: Pham *et al.*, 2013, adaptado.

Para a formação dos nanoquelatos, primeiro foram produzidas MLV de DOPS e colesterol contendo AmB e miltefosina. Após o processo de sonificação, foram obtidas LUV de 80 nm. A formulação final foi obtida após a adição de íons cálcio ao SUV carregado negativamente.

Posteriormente Pham *et al.* (2014) analisaram nanoquelatos de AmB e miltefosina visando à administração oral. A preparação dos lipossomas seguiu o método de hidratação de filme fino, com a incorporação de miltefosina e AmB em SUV, e posterior conversão em nanoquelatos pelo método de hidrogel. A preparação segue três passos, mostrados em sequência:

- I. Formação de MLV pelo método de hidratação de filme fino, no qual são incorporadas AmB e miltefosina.
- II. Formação de SUV por sonificação e extrusão (SUV carregado negativamente).
- III. Incorporação de Ca^{2+} para agregação de SUV em folhas → nanoquelato

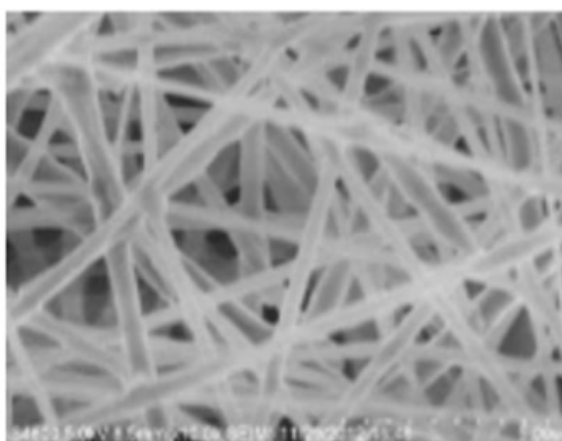
As análises mostraram tamanho de partícula de 80 nm para SUV e 252 ± 2 nm para os nanoquelatos, enquanto o ZP para SUV foi de -40 mV e para os nanoquelatos, $-2,3 \pm 0,6$ mV. A EE% dependeu da fase de preparação e do fármaco. A eficiência de encapsulação geral foi, porém, de 75%. A formulação de nanoquelatos passaram por liofilização, mas não perderam as propriedades físico-químicas, mantendo a estabilidade. Ocorreram, ademais, testes de estabilidade em meios gastrointestinais simulados. Os diâmetros dos nanoquelatos sofreram variação no decorrer do tempo, sendo explicada pelo desenrolamento das folhas em meio gastrointestinal, assim como o deslocamento de íon Ca^{2+} . A formulação foi resistente à degradação intestinal, além de mostrar entrega lenta e gradual no intestino e ser estável após a liofilização, mostrando que pode ser reconstituída.

4.13 Nanofibras

A técnica de eletrofiação tem ganhado espaço no estudo e desenvolvimento tecnológico principalmente no que diz respeito à capacidade de formação de fibras de diferentes composições, morfologias e diâmetros, podendo chegar à escala nano (Mercante *et al.*, 2021). Na eletrofiação para a formação de nanofibras, uma solução de polímeros inserida em um tubo capilar é submetida a campo elétrico. Quando o campo elétrico aplicado atinge um valor crítico, as forças elétricas repulsivas superam as forças de tensão superficial e um jato carregado da solução é ejetado da ponta do tubo, e o jato ocorre no espaço entre a ponta capilar e o coletor, o que leva à evaporação do solvente, deixando o polímero para trás (nanofibra), depositado no coletor (Bhardwaj; Kundu, 2010).

Wang, Li e Jia (2013) utilizaram da técnica de eletrofiação para gerar nanofibras de PCL juntamente com miltefosina e colesterol, que resultaram em esteiras fibrosas brancas puras. A **Figura 12** mostra as nanofibras formadas por miltefosina, colesterol e PCL. É interessante notar que, em meio aquoso, a miltefosina e o colesterol contidos nas nanofibras se desprendem e formam micelas. Foi descoberto que o tamanho de partículas foi < 200 nm. No entanto, as vesículas aumentaram de tamanho, a depender da quantidade de colesterol adicionado. Ou seja, além de serem matriz de aprisionamento da miltefosina (permitindo liberação sustentada do fármaco), as nanofibras também agiram como suporte em nanoescala que, ao ser lavado, produz micelas.

Figura 12: Representação das nanofibras formadas pelo método de eletrofiação.



Fonte: Wang; Li; Jia, 2013, adaptado.

4.14 Nanoniossomas

Diferentemente das micelas convencionais, formadas por surfactantes anfifílicos, os niossomas são formados por vesículas bicamadas obtidas pela mistura de surfactantes não-iônicos e colesterol. Com a posterior hidratação do meio aquoso, também são capazes de aprisionar moléculas hidrofílicas no núcleo aquoso, ou lipofílicas na casca lipídica. Os niossomas também apresentam vantagens como custo reduzido, maior estabilidade e melhor estabilidade química (Nazari-Vanani *et al.*, 2018).

Nazari-Vanani *et al.* (2018) realizaram os primeiros estudos de atividade antileishmania da miltefosina carregada em gel nanoniossomal. Os nanoniossomas foram preparados utilizando o surfactante não-iônico Span® pelo método de hidratação de película fina. O estudo de toxicidade mostrou que a amostra de niossoma formada por Span 65, colesterol e miltefosina (M-Span 65) resultou em diminuição acentuada da viabilidade de *L. major*. Por esse motivo, os testes posteriores foram realizados apenas para essa formulação niossomal. Os valores de parâmetros como tamanho de partícula, ZP e EE% podem ser visualizados na **Tabela 12**. Os testes de toxicidade resultaram em redução de IC₅₀ (quando comparado com miltefosina em forma livre) com diminuição significativa de crescimento de amastigotas intramacrófagos de forma dose-dependente, além disso, os ensaios de dissolução mostraram liberação controlada e sustentada.

Os niossomas também têm sido avaliados para a leishmaniose durante a gravidez pois, ainda que seja o padrão ouro para o tratamento oral de leishmaniose, a miltefosina é contraindicada para gestantes e classificada como categoria D pela FDA, ou seja, pode causar dano à fetos, incluindo morte fetal (BRASIL, 2018). Os estudos mais recentes de Seyedi *et al.* (2024) analisaram de forma comparativa a citotoxicidade de miltefosina e de miltefosina niossomal (NMIL) em modelo de embrião de galinha. Testes *in silico* foram elaborados a fim de entender a ligação de miltefosina e NMIL com proteínas importantes para o ciclo da leishmaniose, como o VEGF-A, KDR1 e proteínas reguladoras apoptóticas. Testes práticos e testes gênicos foram realizados em órgãos fetais de embriões de galinha a fim de analisar a citotoxicidade fetal, a expressão gênica e alterações patológicas potenciais. Os niossomas foram preparados pelo método de evaporação em camada fina e tinham o formato esférico.

Os valores de tamanho de partícula, ZP, PDI e EE% podem ser observadas na **Tabela 12**. Os estudos *in vitro* mostraram que a liberação de NMIL foi mais lenta, tendo o conteúdo descarregado totalmente em cerca de 48 horas. Já os estudos *in silico*, foram realizados a fim de simular a ligação de NMIL com mediadores importantes, e mostrou-se menor afinidade de ligação para Bcl-2 e VEGF-A, e maior energia de interação com BAX e Caspase-8. Os resultados obtidos mostram que NMIL foi mais eficaz quando comparado com miltefosina livre. Já as análises ADMET indicaram que NMIL atravessou a barreira hematoencefálica, não inibe CYP450, apresenta menor teratogenicidade e menor toxicidade em dose oral. Já os estudos de expressão gênica mostraram que no grupo NMIL a expressão de genes mediadores de apoptose foi menor, enquanto a expressão de mediadores de angiogênese foi maior. O estudo *in vivo* mostrou que os embriões de galinha sob tratamento de miltefosina livre apresentaram menos massa vascular e mais alterações degenerativas e apoptóticas do que aqueles tratados com NMIL. O estudo de Seyedi *et al.* (2024) apontou pontos importantes e cruciais para a melhoria de propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas da miltefosina, ainda que sejam necessários estudos para desenvolvimento de possível terapia para leishmaniose durante a gravidez.

Tabela 12: Tabela contendo composição, método de preparo, além dos parâmetros de tamanho de partícula, potencial Zeta, PDI, EE% e IC₅₀ de nanoniossomas.

Composição	Método de praparação	Tamanho (nm)	ζ (mV)	PDI	EE (%)	IC ₅₀ (%)	Referência
Miltefosina, Span 65 e colesterol	Hidratação de película fina	87	8,97	-	88	53,39	(Nazari-Vanani <i>et al.</i> , 2018)
Miltefosina, Span 60, Tween 60, colesterol	Evaporação em camada fina	119,5	-15,7	0,163	94,4	-	(Seyedi <i>et al.</i> , 2024)

Fonte: Autora.

4.15 Transferossomas

Os transferossomas convencionais são lipossomas ultra-deformáveis formados por fosfolípidios e um ativador de borda (normalmente um surfactante de cadeia única), que confere flexibilidade à membrana. O desenvolvimento de lipossomas ultra-

deformáveis de segunda geração (SGUDL) incluem medicamentos juntamente com o ativador de borda tradicional e o fosfolípido (Dar *et al.*, 2019). Os transferossomas são desenvolvidos para entrega de substâncias através da pele. Por esse motivo, os estudos se utilizam dessa tecnologia para tratamento de leishmaniose cutânea.

Dar *et al.* (2019) desenvolveram SGUDL co-carregados de miltefosina e AmB (AmB-MF) para potencial tratamento tópico de leishmaniose cutânea. Os SGUDLs co-carregados foram preparados de acordo com o mostrado na **Tabela 13**. A formulação de Tween 80 a 10% foi escolhida para os testes, e a **Tabela 13** mostra o tamanho de partícula, ZP e EE%. Os transferossomas apresentaram elasticidade de membrana de 73,1%. O estudo demonstrou que a incorporação de miltefosina e AmB em SGUDL aumentou a quantidade de fármaco permeado e a deposição em diferentes camadas da pele, além de mostrar interação sinérgica entre os fármacos, ser mais citotóxica para macrófagos infectados e reduzir significativamente o IC₅₀ em comparação às soluções simples dos fármacos. Estudos de atividade anti-amastigota mostraram que, para os macrófagos infectados e tratados com SGUDL, foram encontrados apenas vacúolos vazios (o que indica infecção anterior) sem a presença de amastigotas, demonstrando a atividade anti-amastigota dos SGUDL co-carregados com AmB-MF. Estudos de avaliação *in vivo* indicaram que o gel tópico de SGUDLs co-carregado com AmB-MF administrado duas vezes ao dia resultou em redução e resolução completa da lesão em modelos murinos, além de redução na quantidade parasitária nas lesões quando tratada com SGUDL co-carregado. A medição de citocinas resultou em níveis aumentados de NO, IL-12 e IFN- γ no grupo SGUDL co-carregados, mostrando efeito antileishmania.

Já Batool *et al.* (2021) realizaram um estudo objetivando desenvolver gel transferossomal carregado com miltefosina (HePCTG) a base de carbopol para o tratamento da leishmaniose cutânea por meio do direcionamento eficiente de macrófagos infectados por leishmania. A **Tabela 13** traz a composição e o método de preparação dos transferossomas, além de dados como tamanho de partícula, ZP, PDI e EE% para a formulação transferossomal otimizada de miltefosina. O estudo mostra que HePCTG não foi irritante, não alterou a estrutura cutânea e foi menos tóxica, além de aumentar a permeação na pele. O estudo com macrófagos indicou aumento na absorção de miltefosina carregada em transferossomas quando comparado com miltefosina comum e redução no IC₅₀, mostrando alta eficiência antileishmania da formulação. Os estudos antileishmania *in vivo* em modelos murinos infectados

mostraram que, no grupo tratado com HePCTG, houve redução significativa no tamanho das lesões.

Tabela 13: Tabela contendo composição, método de preparo, além dos parâmetros de tamanho de partícula, potencial Zeta, PDI, EE%, IC₅₀ e elasticidade de membrana de transferssomas.

Composição	Método de preparação	Tamanho (nm)	ζ (mV)	PDI	EE (%)	IC ₅₀ (µg/mL)	Referência
Phospholipon 90G, Tween 80, miltefosina, AmB	Hidratação de filme fino	139,7	-27,3	0,126	77,8	0,21	(Dar <i>et al.</i> , 2019)
Carbopol, Phospholipon 90 G, Tween 80, miltefosina	Hidratação de filme fino + método de injeção de etanol	168,1	- 16,7	0,103	92%	7,133	(Batoool <i>et al.</i> , 2021)

Fonte: Autora.

4.16 Nanovesículas

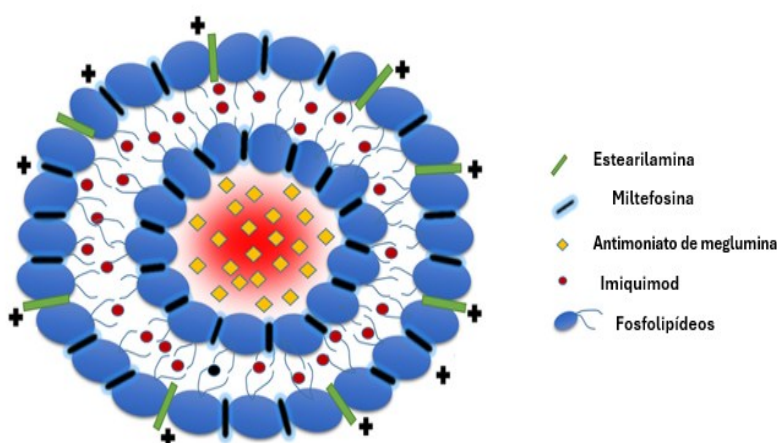
As nanovesículas são misturas de lipídeos com surfactantes, em que o surfactante atua como desestabilizante de membrana, possibilitando potencial de penetração na pele melhorado.

4.16.1 Nanovesículas catiônicas

As nanovesículas catiônicas (cNV) têm capacidade de encapsulamento aprimorada, boa estabilidade física, aumento de afinidade para a membrana aniônica da pele e promovem a permeação do fármaco para camadas cutâneas mais profundas, sendo boas opções como carreadores dérmicos (para esse caso, interessante para tratamento de leishmaniose cutânea). Os cNV possuem a capacidade de carrear fármacos hidrofílicos (no núcleo aquoso), lipofílicos (aprisionados na parte não polar da bicamada), anfifílicos (alocados na interface hidrofílica-lipofílica), mostrados na **Figura 13**. No entanto, o uso de cNV pode causar irritação pelo uso do surfactante (Khalid *et al.*, 2022). Assim, Khalid *et al.* (2022) desenvolveram e avaliaram cNV livres de surfactantes carregados com três fármacos:

miltefosina, antimoniato de meglumina (MAM) e imiquimode (Imq) para o tratamento tópico combinado de leishmaniose cutânea. As vesículas mistas foram preparadas pelo método de hidratação-extrusão de película fina, utilizando Phospolipon G® como fosfolípideo, estearilamina como indutor catiônico e miltefosina como substituto ao surfactante (e como agente antileishmania), uma vez que possui caráter de zwitterion que se assemelha surfactantes, além de MAM e Imq (formulação MAM-Imq-MIL). O estudo revelou que o tamanho de partícula e a EE% sofrem variação a depender da quantidade de miltefosina adicionada. Contudo, a formulação MAM-Imq-MIL com 20% de miltefosina como surfactante apresentou resultados otimizados como tamanho de partícula de 86,2 nm, ZP de +11,7 mV, PDI 0,098 e deformidade de 51%. Os estudos de permeação cutânea demonstraram que as nanovesículas híbridas carregadas com MAM, Imq e miltefosina (cNV MAM/Imq/MIL) promoveram aumento da penetração e retenção cutânea, apresentando menor potencial de irritação em comparação aos géis convencionais, sem afetar a estrutura anatômica da pele. Além disso, os testes de captação celular indicaram maior absorção pelos macrófagos tanto para MAM quanto para Imq, enquanto o ensaio de seletividade evidenciou que as cNV foram mais eficazes contra amastigotas intracelulares do que as formulações em solução simples. Os testes *in vivo* revelaram resolução completa das lesões cutâneas e significativa redução da carga parasitária no grupo tratado com as cNV MAM/Imq/MIL.

Figura 13: Esquema representativo de nanovesícula catiônica com miltefosina.



Fonte: Khalid *et al.*, 2022, adaptado.

Já Thakur *et al.* (2013) se utilizaram de nanovesículas de miltefosina para testar o efeito pró-apoptótico sinérgico com paclitaxel, visando ao tratamento de

glioblastoma multiforme quimiorresistente, tipo comum e agressivo de tumor cerebral. As nanovesículas foram preparadas por método de hidratação de filme fino modificado e eram constituídas de paclitaxel, miltefosina (razão molar variando de 10 a 40%) e fosfatidilcolina de soja. No entanto, somente a formulação com 40%mol de miltefosina obteve resultados promissores como tamanho de partícula 195 nm, ZP -25 e EE% de 94%. Os testes seguiram com administração intranasal e as formulações apresentaram liberação sustentada de paclitaxel *in vitro*. Foi observado que, apesar da liberação no fluido nasal simulado diminuir, houve aumento de liberação de paclitaxel no líquido cefalorraquidiano simulado na medida em que a concentração de miltefosina aumenta. Ademais, o estudo de captação cerebral *in vivo* mostrou que os lipossomas com 40% de miltefosina atingiram o cérebro rapidamente sem atingir outros órgãos, como o pulmão. Além disso, o estudo mostrou IC₅₀ reduzido para a formulação de miltefosina otimizada (162 nM), que indica citotoxicidade melhorada, quando comparado com o paclitaxel livre (765 nM) e o taxol (727,9 nM), forma comercial de paclitaxel. Outro ponto interessante são os achados que confirmam o papel da miltefosina como agente indutor de apoptose e como facilitador de captação celular.

5 Conclusão

O presente trabalho teve como objetivo analisar as principais nanotecnologias utilizadas com a finalidade de aprimorar a eficiência e a eficácia da miltefosina no tratamento da leishmaniose. A partir da revisão dos estudos selecionados, foi possível constatar que a incorporação da miltefosina em sistemas nanotecnológicos, como lipossomas, nanofibras, nanoquelatos e micelas poliméricas, tem demonstrado resultados positivos. Esses sistemas apresentaram parâmetros favoráveis, como tamanho de partícula reduzido, potencial Zeta e PDI adequados, os quais contribuíram para melhorias significativas em testes *in vitro* e *in vivo*. Tais melhorias incluíram aumento do tempo de circulação do fármaco, redução do tamanho das lesões e da carga parasitária, maior captação pelo sistema fagocitário, redução do efeito hemolítico e aprimoramento dos valores de IC₅₀, entre outros.

Ressalta-se, entretanto, a necessidade de investigações adicionais, especialmente em relação à aplicação dessas formulações em gestantes, tendo em vista a possibilidade de toxicidade fetal causada pela administração da miltefosina. Observou-se ainda que, em lipossomas peguillados, embora reduzam a toxicidade sistêmica, podem prejudicar a fagocitose por macrófagos, fator relevante na infecção por parasitas intracelulares, devido à proteção estérica promovida pelo PEG.

Adicionalmente, verificou-se que a miltefosina apresenta potencial para aplicação combinada com outros fármacos (a fim de tratar diferentes doenças), atuando como agente coadjuvante ou componente de formulação, contribuindo para a ampliação da eficácia de substâncias como doxorrubicina, praziquantel, paclitaxel e anfotericina B. Somente para a bleomicina os resultados foram insatisfatórios.

Contudo, a maioria dos estudos analisados ainda se restringe a ambientes laboratoriais e modelos animais, sendo imprescindível o avanço das pesquisas para a realização de ensaios clínicos em seres humanos. Além disso, faz-se necessária a continuidade do desenvolvimento de novas formulações nanotecnológicas que possam minimizar os principais efeitos adversos associados à miltefosina, como a toxicidade gastrointestinal, a hemólise e o risco fetal, bem como viabilizar novas formas de administração, como a intravenosa.

Dessa forma, conclui-se que as nanoformulações contendo miltefosina representam alternativas terapêuticas promissoras e inovadoras para o tratamento da leishmaniose, com potencial para contribuir significativamente na superação das limitações presentes na forma convencional de tratamento.

6 Referências

ALBANESE, A.; SYKES, E. A.; CHAN, W. C. W. Rough around the Edges: The Inflammatory Response of Microglial Cells to Spiky Nanoparticles. **ACS Nano**, [s. l.], v. 4, n. 5, p. 2490-2493, 25 maio 2010. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/nn100776z>. Acesso em: 5 fev. 2025.

ALISSON, Elton. Formato influencia propriedades de nanomateriais. **Portal USP São Carlos**, [São Carlos], 14 jun. 2019. Disponível em: <https://saocarlos.usp.br/formato-influencia-propriedades-de-nanomateriais/>. Acesso em: 6 fev. 2025.

AMARA, R. O. *et al.* Praziquantel-lipid nanocapsules: um nanoterapêutico oral com potencial direcionamento tegumentar de *Schistosoma mansoni*. **International Journal of Nanomedicine**, [s. l.], v. 13, p. 4493-4505, 2018. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6084080/>. Acesso em: 10 mar. 2025.

ARNDT, D. *et al.* Antineoplastic activity of sterically stabilized alkylphosphocholine liposomes in human breast carcinomas. **Breast Cancer Research and Treatment**, [s. l.], v. 43, n. 3, p. 237-246, 1997. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9150903/>. Acesso em: 11 de março de 2025.

ARNDT, D. *et al.* Liposomal bleomycin: increased therapeutic activity and decreased pulmonary toxicity in mice. **Drug Delivery**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 177, 2001. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/10.1080/107175401300002685?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed. Acesso em: 24 mar. 2025.

ARNDT, D. *et al.* Pharmacokinetics of sterically stabilized hexadecylphosphocholine liposomes versus conventional liposomes and free hexadecylphosphocholine in tumor-free and human breast carcinoma bearing mice. **Breast Cancer Research and Treatment**, [s. l.], v. 58, n. 1, p. 71-80, nov. 1999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10634520/>. Acesso em: 10 fev. 2025.

BARENHOLZ, Y. Doxil® – the first FDA-approved nano-drug: lessons learned. **Journal of Controlled Release**, [s. l.], v. 160, n. 2, p. 117-134, jun. 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22484195/>. Acesso em: 9 jan. 2025.

BARRETO, T. L. *et al.* Sinergismo in vivo de miltefosina livre ou em nanocarreador à base de alginato combinado com voriconazol na aspergilose. **Future Microbiology**, [s. l.], v. 16, n. 15, p. 1153-1160, 2021. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/10.2217/fmb-2021-0056?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed. Acesso em: 23 mar. 2025.

BATISTA, C. M.; CARVALHO, C. M. B. DE; MAGALHÃES, N. S. S. Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, [s. l.], v. 43, n. 2, p. 167-179, jun. 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbcf/a/mr6XKhDw6NbBMwSTKdZRjfp/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 9 fev. 2025.

BATOOL, S. *et al.* Alvo de macrófagos com o novo gel transfersomal carregado com miltefosina à base de carbopol para o tratamento da leishmaniose cutânea: análises in vitro e in vivo. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, [s. l.], v. 47, n. 3, p. 440-453, 2021. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/10.1080/03639045.2021.1890768?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed. Acesso em: 4 mar. 2025.

BHARDWAJ, N.; KUNDU, S. C. Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique. **Biotechnology Advances**, [s. l.], v. 28, n. 3, p. 325–347, maio 2010. Disponível em em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975010000066?via%3Dihub>. Acesso em: 20 fev. 2025.

BITENCOURT, J. J. da G. *et al.* Nanopartículas lipídicas carregadas com miltefosina: melhorando a estabilidade da miltefosina e reduzindo seu potencial hemolítico em relação aos eritrócitos e seu efeito citotóxico em macrófagos. **Química Biofísica**, [s. l.], v. 217, p. 20-31, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301462216301211?via%3Dihub>. Acesso em: 13 mar. 2025

BOCK, T. K.; MÜLLER, B. W. A novel assay to determine the hemolytic activity of drugs incorporated in colloidal carrier systems. **Pharmaceutical Research**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. 589-591, 1994. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1018987120738>. Acesso em: 10 fev. 2025.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Consulta de medicamentos**: Miltex. Registro nº 1508200290013. [Brasília, DF: Ministério da Saúde, s. d.]. Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/medicamentos/q/?nomeProduto=miltex>. Acesso em: 30 mar. 2025.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diretoria Colegiada. Resolução RDC nº 751, de 15 de setembro de 2022. Dispõe sobre a classificação de risco, os regimes de notificação e de registro, e os requisitos de rotulagem e instruções de uso de dispositivos médicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, seção 1, n. 180, p. 172, 21 set. 2022. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-751-de-15-de-setembro-de-2022-430797145>. Acesso em: 3 fev. 2025.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Nota Técnica nº 11/2016/CPV/DFIP/SDA/GM/MAPA**: autoriza o registro do produto Milteforan para tratamento da leishmaniose visceral canina. [Brasília, DF. S. n.], 1 set. 2016. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/produtos-veterinarios/legislacao-1/notas-tecnicas/nota-tecnica-no-11-2016-cpv-dfip-sda-gm-mapa-de-1-09-2016.pdf>. Acesso em: 30 mar. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis. Coordenação-Geral de Vigilância de Zoonoses e Doenças de Transmissão Vetorial. **Nota Informativa nº 13/2020-CGZV/DEIDT/SVS/MS**. [Brasília, DF. S. n.: s. d.]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/estudos-e-notas-informativas/2020/nota-informativa-miltefosina.pdf>. Acesso em: 3 de fevereiro de 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS – CONITEC. **Miltefosina no Tratamento da Leishmaniose Tegumentar**. [Brasília, DF. Ministério da Saúde], 2018. (Relatório de Recomendação, n. 365.) Disponível em: https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/relatorios/2018/relatorio_miltefosina_leishmaniosetegumentar.pdf. Acesso em: 28 fev. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Esquistossomose**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/brasil-saudavel/esquistossomose>. Acesso em: 14 mar. 2025

BRASIL. Ministério da Saúde. **Saúde de A a Z: Leishmaniose visceral**. [Brasília, DF, s.d.]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z//leishmaniose-visceral>. Acesso em: 30 mar. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2017. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_leishmaniose_tegumentar.pdf. Acesso em: 24 fev. 2025.

CARREGAL, V. M. *et al.* Combination oral therapy against *Leishmania amazonensis* infection in BALB/c mice using nanoassemblies made from amphiphilic antimony(V) complex incorporating miltefosine. **Parasitology Research**, [s. l.], v. 118, n. 10, p. 3077-3084, 10 ago. 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00436-019-06419-2>. Acesso em: 13 fev. 2025.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Leishmaniasis**. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/>. Acesso em: 30 mar. 2025.

DAR, M. J. *et al.* Topical treatment of cutaneous leishmaniasis with novel amphotericin B-miltefosine co-incorporated second generation ultra-deformable liposomes. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 573, p. 118900, 22 nov. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517319309457?via%3Dihub>. Acesso em: 27 fev. 2025.

DAS, S. *et al.* Miltefosine loaded albumin microparticles for treatment of visceral leishmaniasis: formulation development and *in vitro* evaluation. **Polymers for Advanced Technologies**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 172–179, 26 abr. 2010. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pat.1710>. Acesso em: 9 fev. 2025.

DORLO, T. P. C. *et al.* Miltefosine: a review of its pharmacology and therapeutic efficacy in the treatment of leishmaniasis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [s. l.], v. 67, n. 11, p. 2576–2597, 1 nov. 2012. Disponível em: <https://academic.oup.com/jac/article-abstract/67/11/2576/709249?redirectedFrom=fulltext&login=false>. Acesso em: 5 fev. 2025.

EISSA, M. M. *et al.* Evaluation of prophylactic efficacy and safety of praziquantel-miltefosine nanocombination in experimental Schistosomiasis mansoni. **Acta Tropica**, [s. l.], v. 212, n. 105714, p. 105714, 2020. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001706X20303193?via%3Dihub>. Acesso em: 19 mar. 2025.

EISSA, M. M. *et al.* Miltefosine lipid nanocapsules for single dose oral treatment of schistosomiasis mansoni: a preclinical study. **PloS One**, [s. l.], v. 10, n. 11, p. e0141788, 2015. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0141788>. Acesso em: 17 mar. 2025.

EL-MOSLEMANY, R. M. *et al.* Miltefosine lipid nanocapsules: intersection of drug repurposing and nanotechnology for single dose oral treatment of pre-patent schistosomiasis mansoni. **Acta Tropica**, [s. l.], v. 159, p. 142-148, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0001706X1630153X?via%3Dihub>. Acesso em: 13 mar. 2025.

EUE, I. Differential uptake of conventional and polyethylene glycol modified-alkylphosphocholine-liposomes by J 774A.1 murine macrophages. **Drug Delivery**, [s. l.], v. 5, n. 4, p. 265–73, 1998. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/10.3109/10717549809065757?url_ver=Z39.88-2003&rft_id=ori:rid:crossref.org&rft_dat=cr_pub%20%20pubmed. Acesso em: 10 fev. 2025.

EUE, I. Growth inhibition of human mammary carcinoma by liposomal hexadecylphosphocholine: Participation of activated macrophages in the antitumor mechanism. **International Journal of Cancer**, [s. l.], v. 92, n. 3, p. 426-433, 2001. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ijc.1201>. Acesso em: 9 de abril de 2025.

FEITOSA, V. A. *et al.* Polymeric micelles of pluronic F127 reduce hemolytic potential of amphiphilic drugs. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s. l.], v. 180, p. 177–185, 1 ago. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927776519302760?via%3Dihub>. Acesso em: 17 fev. 2025

FICHTNER, I. *et al.* Antineoplastic activity of alkylphosphocholines (APC) in human breast carcinomas in vivo and in vitro; use of liposomes. **Breast Cancer Research and Treatment**, [s. l.], v. 32, n. 3, p. 269–279, 1994. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7865855/>. Acesso em: 8 abr. 2025.

FREITAS, C. F. de *et al.* Lipossomas de longa-circulação como estratégia promissora para o transporte e biodisponibilização de fármacos no tratamento do câncer. **Revista UNINGÁ Review**, [s. l.], v. 35, p. 1-23, 30 jan. 2020. Disponível em: <https://revista.uninga.br/uningareviews/article/view/3400/2209>. Acesso em: 10 fev. 2025.

KALANGI, S. K. *et al.* Biocompatible silver nanoparticles reduced from Anethum graveolens leaf extract augments the antileishmanial efficacy of miltefosine. **Experimental Parasitology**, [s. l.], v. 170, p. 184–192, nov. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014489416301837?via%3Dihub>. Acesso em: 18 fev. 2025.

KAUFMANN-KOLLE, P. *et al.* Pharmacokinetic behavior and antineoplastic activity of liposomal hexadecylphosphocholine. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, [s. l.], v. 34, n. 5, p. 393–398, 1994. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00685563>. Acesso em: 24 mar. 2025.

KHALID, S. *et al.* Surfactant free synthesis of cationic nano-vesicles: a safe triple drug loaded vehicle for the topical treatment of cutaneous leishmaniasis. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, [s. l.], v. 40, n. 102490, p. 102490, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1549963421001337?via%3Dihub>. Acesso em: 4 mar. 2025.

KHOKHAR, M. *et al.* *In vitro* efficacy of polymer coated miltefosine drug against leishmania tropica. **Journal of Parasitic Diseases: Official Organ of the Indian Society for Parasitology**, [s. l.], v. 46, n. 2, p. 366–376, 2022. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9177920/>. Acesso em: 11 mar. 2025.

KIM, E.-M.; JEONG, H.-J. Liposomes: biomedical applications. **Chonnam Medical Journal**, [s. l.], v. 57, n. 1, p. 27, 2021. Disponível em: <https://cmj.ac.kr/DOIx.php?id=10.4068/cmj.2021.57.1.27>. Acesso em: 9 de fevereiro de 2025.

KREUTER, J. Nanoparticles and microparticles for drug and vaccine delivery. **Journal of Anatomy**, [s. l.], v. 189, pt. 3, p. 503–505, 1996. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1167690/>. Acesso em: 26 mar. 2025.

KUMAR, R. *et al.* Development of PLGA-PEG encapsulated miltefosine based drug delivery system against visceral leishmaniasis. **Materials Science & Engineering: C, Materials for Biological Applications**, [s. l.], v. 59, p. 748–753, fev. 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26652429/>. Acesso em: 11 mar. 2025.

LIMA, T. W. K. de; RENZI, D. F.; CAMPOS, L. de A. Nanopartículas sólidas lipídicas e sua aplicação na entrega de compostos ativos naturais. **Revista Brasileira de Desenvolvimento**, [s. l.], v. 12, pág. 110306–110330, 2021. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/40461>. Acesso em: 14 mar. 2025.

LINDNER, L. H. *et al.* Dual role of hexadecylphosphocholine (miltefosine) in thermosensitive liposomes: Active ingredient and mediator of drug release. **Journal of Controlled Release**, [s. l.], v. 125, n. 2, p. 112–120, jan. 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168365907005652?via%3Dihub>. Acesso em: 9 fev. 2025

LUQUE-ORTEGA J. R.; RIVAS, L. Miltefosine (Hexadecylphosphocholine) Inhibits Cytochrome c Oxidase in Leishmania donovani Promastigotes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [s. l.], v. 51, n. 4, p. 1327–1332, 5 fev. 2007. Disponível em: https://journals.asm.org/doi/10.1128/aac.01415-06?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed. Acesso em: 5 fev. 2025.

MALVERN INSTRUMENTS LIMITED. **Zeta potential**: introduction in 30 minutes. [Malvern (Reino Unido): Malvern Instruments Limited, 2015]. Disponível em: <https://www.research.colostate.edu/wp-content/uploads/2018/11/ZetaPotential-Introduction-in-30min-Malvern.pdf>. Acesso em: 2 dez. 2024.

MANDAWGADE, S. D.; PATRAVALE, V. B. Development of SLNs from natural lipids: application to topical delivery of tretinoin. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 363, n. 1-2, p. 132-138, 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378517308004651?via%3Dihub>. Acesso em: 13 mar. 2025.

MANIASSO, N. Ambientes micelares em química analítica. **Química Nova**, [s. l.], v. 24, n. 1, p. 87-93, fev. 2001. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/YJY8D7gPbFthRVTJdS3cssp/>. Acesso em: 13 fev. 2025.

MÉNEZ, C. *et al.* Physicochemical characterization of molecular assemblies of miltefosine and amphotericin B. **Molecular Pharmaceutics**, [s. l.], v. 4, n. 2, p. 281-288, 2007. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/mp0601143>. Acesso em: 5 fev. 2025.

MERCANTE, L. *et al.* Nanofibras eletrofiadas e suas aplicações: avanços na última década. **Química Nova**, [s. l.], v. 44, n. 6, jun. 2021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/pyPdBqm8bxhT5dzhqCv6HVM/>. Acesso em: 20 fev. 2025.

MOMENI, A. *et al.* Development of liposomes loaded with anti-leishmanial drugs for the treatment of cutaneous leishmaniasis. **Journal of Liposome Research**, [s. l.], v. 23, n. 2, p. 134-144, 2013. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/10.3109/08982104.2012.762519?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%200pubmed. Acesso em: 13 abr. 2025.

MORA-HUERTAS, C. E.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 385, n. 1-2, p. 113-142, jan. 2010. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378517309007273?via%3Dihub>. Acesso em: 17 fev. 2025.

MOREIRA, R. A. *et al.* Interaction of miltefosine with the lipid and protein components of the erythrocyte membrane. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 102, n. 5, p. 1661-1669, maio 2013. Disponível em: [https://jpharmsci.org/article/S0022-3549\(15\)31114-X/abstract](https://jpharmsci.org/article/S0022-3549(15)31114-X/abstract). Acesso em: 15 abr. 2025.

MOUTINHO, C. *et al.* Moléculas anfífilas - lípidos - e formação de agregados supramoleculares: micelas e lipossomas. **Revista da Faculdade de Ciências da Saúde**, [s. l.], v. 1, p. 1-26, 2004. Disponível em: <https://bdigital.ufp.pt/entities/publication/64016116-d409-49c2-8584-492dec499491>. Acesso em: 13 fev. 2025.

MOVASSAGHIAN, S.; MERKEL, O. M.; TORCHILIN, V. P. Applications of polymer micelles for imaging and drug delivery. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology**, [s. l.], v. 7, n. 5, p. 691-707, 13 fev. 2015. Disponível em: <https://wires.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/wnan.1332>. Acesso em: 17 fev. 2025.

NAJAFIAN, H. R. *et al.* Nanoliposomal miltefosine for the treatment of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER): the drug preparation and in vitro study. **International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences**, [s. l.], v. 5, n. 3, p. 97-107, 2016. Disponível em: <http://ijpras.com/article/nanoliposomal-miltefosine-for-the-treatment-of-cutaneous-leishmaniasis-caused-by-leishmania-major-mrhoir75er-the-drug-preparation-and-in-vitro-study>. Acesso em: 13 abr. 2025.

NAZARI-VANANI, R. *et al.* Investigação da eficácia anti-leishmania de miltefosina e cetoconazol carregados em nanoniossomas. **Acta Tropica**, [s. l.], v. 185, p. 69-76, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0001706X18303620?via%3Dihub>. Acesso em: 24 fev. 2025.

NÉMETH, Z. *et al.* Quality by Design-Driven Zeta Potential Optimisation Study of Liposomes with Charge Imparting Membrane Additives. **Pharmaceutics**, [s. l.], v. 14, n. 9, p. 1798, 26 ago. 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4923/14/9/1798>. Acesso em: 2 dez. 2024.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Leishmaniose**. [S. l.]: OPAS, [s. d.]. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/leishmaniose>. Acesso em: 30 mar. 2024.

OSTRÓŽKA-CIEŚLIK, A.; SARECKA-HUJAR, B. The use of nanotechnology in modern pharmacotherapy. In: GRUMEZESCU, A. M. (ed.). **Multifunctional systems for combined delivery, biosensing and diagnostics**. Cambridge: Academic Press, 2017, p. 139–158. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323527255000071?via%3Dihub>. Acesso em: 11 fev. 2025.

PAPAGIANNAROS, A. *et al.* A liposomal formulation of doxorubicin, composed of hexadecylphosphocholine (HePC): physicochemical characterization and cytotoxic activity against human cancer cell lines. **Biomedecine & Pharmacotherapie**, [s. l.], v. 60, n. 1, p. 36–42, 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0753332205002015?via%3Dihub>. Acesso em: 11 abr. 2025.

PAPAGIANNAROS, A. *et al.* Antileishmanial and trypanocidal activities of new miltefosine liposomal formulations. **Biomedecine & pharmacotherapie**, [s. l.], v. 59, n. 10, p. 545–550, 2005b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0753332205001915?via%3Dihub>. Acesso em: 13 abr. 2025.

PAPAGIANNAROS, A. *et al.* Doxorubicin-PAMAM dendrimer complex attached to liposomes: cytotoxic studies against human cancer cell lines. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 302, n. 1-2, p. 29-38, 2005a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378517305004102?via%3Dihub>. Acesso em: 10 abr. 2025.

PARIS, C. *et al.* Miltefosine induces apoptosis-like death in *Leishmania donovani* promastigotes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [s. l.], v. 48, n. 3, p. 852-859, 2004. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/aac.48.3.852-859.2004>. Acesso em: 28 mar. 2025.

PHAM, T. T. H. *et al.* Development of antileishmanial lipid nanocomplexes. **Biochimie**, [s. l.], v. 107, p. 143–153, 1 dez. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0300908414001503?via%3Dihub>. Acesso em: 20 fev. 2025.

PHAM, T. T. H. *et al.* Interactions of antileishmanial drugs with monolayers of lipids used in the development of amphotericin B–miltefosine-loaded nanocochleates. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s. l.], v. 106, p. 224-233, 29 jan. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0927776513000635?via%3Dihub>. Acesso em: 19 fev. 2025.

PINTO-MARTINEZ, A. K. *et al.* Mechanism of action of miltefosine on *Leishmania donovani* involves the impairment of acidocalcisome function and the activation of the sphingosine-dependent plasma membrane Ca^{2+} channel. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [s. l.], v. 62, n. 1, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29061745/>. Acesso em: 28 mar. 2025.

PUBCHEM. **Miltefosine**. [S. l.: National Library of Medicine, s. d.]. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Miltefosine>. Acesso em: 19 maio 2025.

PUIG-RIGALL, J. *et al.* Structural characterization by scattering and spectroscopic methods and biological evaluation of polymeric micelles of poloxamines and TPGS as nanocarriers for miltefosine delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 578, p. 119057–119057, 25 jan. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378517320300417?via%3Dihub>. Acesso em: 17 fev. 2025.

RAVAL, N.; MAHESHWARI, R.; KALYANE, D.; YOUNGREN-ORTIZ, S. R.; CHOUGULE, M. B.; TEKADE, R. K. Importance of physicochemical characterization of nanoparticles in pharmaceutical product development. In: TEKADE, R. K. (ed.). **Basic fundamentals of drug delivery**. Cambridge: Academic Press, 2019. p. 369–400. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128179093000108?via%3Dihub>. Acesso em: 12 dez. 2024.

SANT, V. P.; SMITH, D.; LEROUX, J.-C. Enhancement of oral bioavailability of poorly water-soluble drugs by poly(ethylene glycol)-block-poly(alkyl acrylate-co-methacrylic acid) self-assemblies. **Journal of Controlled Release**, [s. l.], v. 104, n. 2, p. 289–300, maio 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813019318999?via%3Dihub>. Acesso em: 17 fev. 2025.

SEYEDI, F. *et al.* Comparação da citotoxicidade da Miltefosina e sua forma niossomal em modelo de embrião de galinha. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 1-16, 2024. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-024-52620-4>. Acesso em: 24 fev. 2025.

SOUDI, S. A. *et al.* Protective effect of surface-modified berberine nanoparticles against LPS-induced neurodegenerative changes: a preclinical study. **Drug Delivery and Translational Research**, [s. l.], v. 9, n. 5, p. 906-919, 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13346-019-00626-1>. Acesso em: 13 mar. 2025.

SPADARI, C. DE C. *et al.* Alginate nanoparticles as non-toxic delivery system for miltefosine in the treatment of candidiasis and cryptococcosis. **International Journal of Nanomedicine**, [s. l.], v. 14, p. 5187-5199, 2019. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6636311/>. Acesso em: 23 mar. 2025.

TA, T.; PORTER, Tyrone M. Thermosensitive liposomes for localized delivery and triggered release of chemotherapy. **Journal of Controlled Release**, [s. l.], v. 169, n. 1-2, p. 112-125, 10-28 jul. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168365913001958?via%3Dihub>. Acesso em: 19 maio 2025.

TANABE, Camila Ayami Yamamoto. **Estudo da síntese de análogos da miltefosina como potenciais agentes antineoplásicos**. 2011. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciências: Fármaco e Medicamentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011. Disponível em: https://teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9138/tde-13032013-161330/publico/Dissertacao_Camila_2011.pdf. Acesso em: 5 fev. 2025.

TEYMOURI, Manouchehr *et al.* Investigation of Hexadecylphosphocholine (miltefosine) usage in Pegylated liposomal doxorubicin as a synergistic ingredient: *in vitro* and *in vivo* evaluation in mice bearing C26 colon carcinoma and B16F0 melanoma. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 80, p. 66-73, 1 dez. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0928098715003668?via%3Dihub>. Acesso em: 10 fev. 2025.

TEYMOURI, M. *et al.* Tat peptide and hexadecylphosphocholine introduction into pegylated liposomal doxorubicin: an *in vitro* and *in vivo* study on drug cellular delivery, release, biodistribution and antitumor activity. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 511, n. 1, p. 236-244, 27 jun. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S037851731630607X?via%3Dihub>. Acesso em: 9 jan. 2025.

THAKUR, A. *et al.* Proapoptotic miltefosine nanovesicles show synergism with paclitaxel: implications for glioblastoma multiforme therapy. **Cancer Letters**, [s. l.], v. 334, n. 2, p. 274-283, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304383512005101>. Acesso em: 11 abr. 2025.

THAPA, B.; NARAIN, R. Mechanism, current challenges and new approaches for non viral gene delivery. **Polymers and Nanomaterials for Gene Therapy**, [s. l.], p. 1-27, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780081005200000011?via%3Dihub>. Acesso em: 11 fev. 2025.

TIWARI, R. *et al.* Redox-responsive nanocapsules for the spatiotemporal release of miltefosine in lysosome: protection against Leishmania. **Bioconjugate Chemistry**, [s. l.], v. 32, n. 2, p. 245-253, 2021. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.bioconjchem.0c00667>. Acesso em: 19 fev. 2019.

TORCHILIN, V. P. Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers. **Nature Reviews Drug Discovery**, [s. l.], v. 4, n. 2, p. 145-160, fev. 2005. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrd1632>. Acesso em: fev. 2025.

TRIPATHI, P. *et al.* Hexadecylphosphocholine (Miltefosine) stabilized chitosan modified Ampholipospheres as prototype co-delivery vehicle for enhanced killing of *L. donovani*. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 105, pt. 1, p. 625-637, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813017314277?via%3Dihub>. Acesso em: 18 mar. 2025.

URBINA, J. A. Mechanisms of action of lysophospholipid analogues against trypanosomatid parasites. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, [s. l.], v. 100, p. S9-S16, 25 ago. 2006. Disponível em: https://academic.oup.com/trstmh/article-abstract/100/Supplement_1/S9/1886353?redirectedFrom=fulltext. Acesso em: 12 dez. 2024.

VALENZUELA-OSES, J. K. *et al.* Development and characterization of miltefosine-loaded polymeric micelles for cancer treatment. **Materials Science and Engineering C**, [s. l.], v. 81, p. 327-333, 29 jul. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28887980/>. Acesso em: 18 fev. 2025.

YOKOYAMA, M. Polymeric micelles as drug carriers: their lights and shadows. **Journal of Drug Targeting**, [s. l.], v. 22, n. 7, p. 576-583, 11 jul. 2014. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/10.3109/1061186X.2014.934688?url_ver=Z39.88-2003&rft_id=ori:rid:crossref.org&rft_dat=cr_pub%20%20pubmed. Acesso em: 17 fev. 2025.

WANG, H.; LI, Y.-Q.; JIA, Y.-H. Vesicle-formation of hexadecyl phosphatidyl choline released from ϵ -caprolactone electrospun fibrous mats: preparation and characterization. **Colloid and Polymer Science**, [s. l.], v. 291, n. 10, p. 2475-2479, 29 maio 2013. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00396-013-2990-1>. Acesso em: 20 fev. 2025.

ZEISIG, R. *et al.* Antineoplastic activity in vitro of free and liposomal alkylphosphocholines. **Anti-cancer Drugs**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 57-64, 1993. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8457716/>. Acesso em: 8 abr. 2025.

ZEISIG, R. *et al.* Antitumor effects of alkylphosphocholines in different murine tumor models: use of liposomal preparations. **Anti-cancer Drugs**, [s. l.], v. 2, n. 4, p. 411-418, 1991. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1797199/>. Acesso em: 23 mar. 2025.

ZEISIG, R. *et al.* Cytotoxic effects of alkylphosphocholines or alkylphosphocholine-liposomes and macrophages on tumor cells. **Anticancer Research**, [s. l.], v. 14, n. 5A, p. 1785-1789, 1994. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7847811/>. Acesso em: 24 mar. 2025.

ZEISIG, R. *et al.* Effect of sterical stabilization on macrophage uptake in vitro and on thickness of the fixed aqueous layer of liposomes made from alkylphosphocholines. **Biochimica et Biophysica Acta**, [s. l.], v. 1285, n. 2, p. 237-245, 1996b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005273696001678?via%3Dihub>. Acesso em: 26 de março de 2025

ZEISIG, R. *et al.* Lipoplexes with alkylphospholipid as new helper lipid for efficient *in vitro* and *in vivo* gene transfer in tumor therapy. **Cancer Gene Therapy**, [s. l.], v. 10, n. 4, p. 302-11, abr. 2003. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/7700572>. Acesso em: 24 mar. 2025.

ZEISIG, R. *et al.* Preparation and properties of sterically stabilized hexadecylphosphocholine (miltefosine)-liposomes and influence of this modification on macrophage activation. **Biochimica et Biophysica Acta**, [s. l.], v. 1283, n. 2, p. 177-184, 1996a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0005273696000909>. Acesso em: 24 mar. 2025.

Jenniffer da Silva Falcão

20/05/2025

Data e assinatura do aluno(a)

Documento assinado digitalmente
gov.br VALKER ARAUJO FEITOSA
Data: 21/05/2025 16:35:13-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Data e assinatura do orientador(a)