

Nanotecnologia farmacêutica aplicada ao tratamento da malária

Lúcio Figueira Pimentel¹, Agenor Tavares Jácome Júnior¹, Vanessa Carla Furtado Mosqueira³,
Nereide Stela Santos-Magalhães^{1, 2*}

¹Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, Universidade Federal de Pernambuco, ²Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, ³Departamento de Farmácia, Universidade de Ouro Preto.

Apesar do desenvolvimento tecnológico e científico, a malária permanece como um dos maiores problemas de saúde a serem combatidos. As estratégias modernas para o controle da doença prevêm ações conjuntas, como o combate do inseto vetor, diagnóstico rápido e preciso, garantia de terapêutica adequada, redução dos casos de resistência, além do desenvolvimento de novos agentes terapêuticos e vacina e através da otimização da ação de fármacos utilizados na atualidade. Os sistemas de liberação controlada de fármacos vêm recebendo atenção especial nesta área de pesquisa, com o desenvolvimento de estratégias para a veiculação de agentes bioativos e vacinas na forma de nanodispositivos tais como lipossomas, nanopartículas e micropartículas. Diversos nanossistemas já demonstraram eficácia na otimização de vacinas e quimioterápicos destinados ao controle da malária. Este artigo de revisão tem por objetivo avaliar o estado da arte na terapêutica da malária e demonstrar o potencial da nanotecnologia farmacêutica como ferramenta destinada ao combate da doença.

Unitermos

- Malária
- Nanotecnologia
- Lipossomas
- Nanopartículas
- Micropartículas
- Vacinas

* Correspondência:

N. S. Santos Magalhães
Universidade Federal de Pernambuco
-UFPE
Grupo de Sistemas de Liberação
Controlada de Medicamentos
Laboratório de Imunopatologia Keizo
Asami - LIKA
Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade
Universitária.
50670-901 - Recife-PE - Brasil
E-mail: nssm@ufpe.br

INTRODUÇÃO

A malária humana, uma doença parasitária que tem como agentes etiológicos quatro espécies de protozoários do gênero *Plasmodium* (*P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* e *P. falciparum*), é transmitida ao homem através da picada de fêmeas do inseto do gênero *Anopheles* (Krettli *et al.*, 2001), sendo a infestação humana mais devastadora no mundo inteiro, com 300 a 500 milhões de casos clínicos e quase 3 milhões de óbitos a cada ano (Gomes *et al.*, 2001; Tracy, Webster Júnior, 2003).

Segundo Winstanley (2001), as falhas no tratamento da malária são devidas a múltiplos fatores. A complexidade dos esquemas implementados, que consistem geralmente em dois ou mais medicamentos, dificulta a adesão do paciente. O baixo índice terapêutico dos antimaláricos e algumas interações medicamentosas restringem a aplicação em alguns casos, comprometendo a eficácia do tratamento. Adicionalmente, falhas técnicas e operacionais na execução de campanhas de combate à doença, aliadas à redução de recursos financeiros governamentais a elas destinados, à resistência do vetor aos inseticidas utilizados, à re-

sistência do *Plasmodium* aos antimaláricos e às condições sócio-econômicas das populações atingidas, agravam as dificuldades para a erradicação da malária no mundo (Dias, 2002).

O uso racional de fármacos no combate à malária tornou-se crucial, pois a seleção adequada dos antimaláricos está diretamente relacionada ao futuro das políticas de combate, à prevenção de epidemias e ao controle da morbidade e mortalidade da doença (Wongsrichanalai *et al.*, 2002).

Pesquisas de novos compostos antimaláricos, desenvolvimento de uma vacina eficaz, além da nanotecnologia farmacêutica aplicada ao desenvolvimento de vacinas e medicamentos antimaláricos em nanossistemas, constituem-se em estratégias de valia na erradicação da malária.

Diversas pesquisas vêm demonstrando o grande potencial da nanotecnologia farmacêutica no tratamento, prevenção e diagnóstico de inúmeras patologias, dentre elas as parasitárias. Nesse contexto, técnicas inovadoras estão sendo aplicadas na obtenção de novas formas farmacêuticas de liberação controlada de fármacos capazes de manter ou ampliar a ação de agentes promissores utilizados no combate e controle da malária (Chedgzoy *et al.*, 2002; Chimanuka *et al.*, 2002). Nanodispositivos permitem o uso de antimaláricos potencialmente tóxicos e pouco utilizados devido a estas características (Mosqueira *et al.*, 2004), bem como o aumento na duração e eficácia da resposta imune a vacinas (Alving, 2002; Carcaboso *et al.*, 2003).

Esta revisão tem como objetivo avaliar o estado da arte na terapêutica antimalárica e demonstrar o potencial da nanotecnologia farmacêutica como ferramenta destinada ao combate e controle da malária. Para tanto, abordam-se questões relevantes sobre a doença, tais como, medidas de prevenção, diagnóstico, terapêutica convencional e as alternativas nanotecnológicas para novas formas farmacêuticas contendo antimaláricos e vacinas.

Malária

A malária é uma doença infecciosa causada por um protozoário unicelular do gênero *Plasmodium*, podendo ser transmitida para o ser humano pela picada do mosquito do gênero *Anopheles*, por transfusão de sangue ou compartilhamento de agulhas e seringas infectadas com o parasita (Krettli *et al.*, 2001).

A malária ocorre com maior frequência nos países tropicais, onde quatro espécies infectam o homem: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* e *P. ovale* (Foley, Tilley, 1998; Krettli *et al.*, 2001). Cada espécie de *Plasmodium* produz um padrão de doença bastante característico, relacionado, em parte, com o momento de seu ciclo intra-

eritrocítico assexuado. As infecções por *Plasmodium vivax* e *P. ovale* raramente são fatais e caracterizam-se por picos febris com intervalos de cerca de 48 horas (malária terça benigna). Com o *P. malariae*, os picos febris ocorrem em intervalos de 72 horas (malária quarta benigna) (Kumar *et al.*, 2005; FUNASA, 2001). Por outro lado, a infecção causada pelo *P. falciparum* é responsável pelas mais altas parasitemias e pela maior parte da mortalidade. O ataque agudo de malária caracteriza-se por um conjunto de paroxismos febris, que apresentam quatro períodos sucessivos: o de frio, calor, suor e apirexia (Tracy, Webster Júnior, 1996).

No Brasil, prevalecem as infecções causadas pelo *P. vivax* e *P. falciparum* (Kumar *et al.*, 2005; FUNASA, 2002a,b). A natureza maligna do *P. falciparum* pode estar relacionada com o fato de que a parasitemia ocorre indiscriminadamente em todas as hemácias com receptores para glicoforina, resultando em parasitemias elevadas, que se instalam bruscamente. Adicionalmente, o *P. falciparum* induz a formação de proeminências nas membranas dos eritrócitos, responsáveis pela adesão ao endotélio dos microvasos. Esse processo causa obstrução vascular, hipoxia tecidual e/ou necrose isquêmica, especialmente em crianças de até 5 anos, produzindo a sintomatologia conhecida como malária cerebral (Coltel *et al.*, 2004). Essa forma frequentemente letal da doença caracteriza-se pelos seguintes elementos: acometimento cerebral com delírio evoluindo para o coma, choque hipotérmico (malária algida), edema pulmonar agudo, coagulação intravascular disseminada, insuficiência renal com hemoglobinúria e insuficiência hepática (Kumar *et al.*, 2005). Em todas as manifestações, a ruptura das hemácias resulta em anemia e, ao mesmo tempo, é liberado o pigmento malárico (produto da digestão do grupo heme por parte do parasita). As hemácias lesadas e o pigmento malárico são removidos do sangue pelo sistema fagocitário mononuclear, induzindo, assim, esplenomegalia e hepatomegalia.

Terapêutica

A quimioterapia é o principal fator para a redução da morbidade e mortalidade relacionada à malária, segundo Kremsner e Krishna (2004). A tomada de decisão para o tratamento adequado de um paciente com malária deve ser precedida de informações sobre a gravidade da doença, espécie de plasmódio, idade do paciente, histórico de exposição anterior à infecção e a suscetibilidade dos parasitas aos antimaláricos convencionais (Tabela I e II). Atualmente, tratamento único igualmente efetivo contra ambas as espécies de plasmódios prevalentes em nosso país (*P. vivax*

TABELA I - Classificação de antimaláricos de acordo com sua categoria química e mecanismo de ação (adaptado de FUNASA, 2001)

Composto	Categoria Química	Mecanismo de ação
Cloroquina e amodiaquina	4- aminoquinolina	Digestão de produtos da hemoglobina
Primaquina	8- aminoquinolina	Inibe a respiração mitocondrial do parasita
Quinina, mefloquina e halofantrina	quinolinametanóis e fenantrenometanol	Digestão de produtos da hemoglobina
Artemisinina e seus derivados	Éter de lactona sesquiterpênica	Metabolismo das proteínas do parasito
Tetraciclina e doxiciclina	Derivados de naftaceno	Síntese das proteínas do parasito
Clindamicina	Lincosaminas	Síntese das proteínas do parasito

e *P. falciparum*) ainda não foi estabelecido. Para cada espécie de plasmódio, vem sendo utilizado um medicamento ou associações de medicamentos específicos, em dosagens adequadas à situação particular de cada doente.

Entre os agentes terapêuticos eficazes com ação contra os parasitas da malária estão as famílias das quinolinas (quinina, cloroquina, primaquina, mefloquina, amodiaquina, halofantrina), diclorobenzilidina (lumefantrina), biguanidas (proguanil, clorproguanil), diaminopiridinas (pirimetamina), sulfonas (dapsona), hidroxinaftoquinonas (atovaquona) e lactonas sesquiterpênicas (derivados da artemisinina, artesunato e artemeter) segundo Loiseau e Le Bras (2007). Os antimaláricos são rotineiramente utilizados em associação com outros quimioterápicos tais como sulfonamidas (sulfadoxina), tetraciclina (tetraciclina, doxiciclina) e lincosaminas (clindamicina e lincomicina). Estes agentes terapêuticos apresentam muitos inconvenientes relacionados ao seu uso, pois eles compreendem complexos regimes de administração e muitos efeitos colaterais, o que contribui para interrupção do tratamento e o possível desenvolvimento de resistência pelo parasita (Crawley, 1999; Winstanley, 2001). O tratamento adequado e oportuno da malária constitui hoje o principal alicerce para o controle da doença.

A resistência do *Plasmodium* aos antimaláricos é considerada o maior problema no controle da malária (Crawley, 1999). O *P. falciparum* desenvolveu resistência à cloroquina e à 4-aminoquinolina há mais de 50 anos. Atualmente, a resistência do *P. falciparum* se estende a muitos antimaláricos, incluindo a sulfadoxina associada à pirimetamina e à mefloquina, determinando o aparecimento de áreas em que a multi-resistência a fármacos é predominante (Wongsrichanalai *et al.*, 2002). O desenvolvimento de multi-resistência aos antimaláricos determina a urgência de novos regimes de tratamento visando ao controle da propagação da doença. Para estes autores, a combinação de antimaláricos pode ser utilizada para o tratamento de infecções de *P. falciparum* multi-resistentes. Com o surgimento da resistência múltipla a fármacos pelo *P. falciparum*, no-

vos fármacos e combinações de fármacos são urgentemente necessários para o controle da malária. Pesquisas com inibidores da protease MSP-1, combinação de antifolatos de terceira geração, inibidores da biossíntese de ácidos graxos, inibidores da lactato desidrogenase, além de inibidores do metabolismo de fosfolípidios e inibidores de transferase, como a proteína farnesil de *P. falciparum*, estão sendo realizadas para o desenvolvimento de novos antimaláricos (Wilairatana *et al.*, 2002). O seqüenciamento do genoma do *Plasmodium* permite a identificação de alvos potenciais para o desenvolvimento rápido de novos fármacos de baixo custo para utilização no controle da malária (Florens *et al.*, 2002).

A toxicidade induzida pelo uso da maioria dos antimaláricos utilizados no tratamento e na profilaxia da malária é outro problema a ser minimizado para garantir a observância do paciente e assegurar o controle adequado da doença. Os antimaláricos frequentemente causam efeitos gastrointestinais adversos sem gravidade clínica, mas que irritam o paciente, tais como náuseas e vômitos causados pelo uso de mefloquina ou o prurido causado pelo uso de cloroquina, comprometendo a adesão do paciente e a eficácia do regime adotado. Efeitos mais graves podem ser observados quando o tratamento ocorre em dose única (Winstanley, 2001).

O desenvolvimento de novos regimes de utilização de antimaláricos em combinação e o uso de informações moleculares, obtidas dos estudos de seqüenciamento do genoma de plasmódios, serão de vital importância para a identificação de alvos para o desenvolvimento de novas formas farmacêuticas sítio-específico contendo antimaláricos.

NANOTECNOLOGIA FARMACÊUTICA APLICADA AO TRATAMENTO DA MALÁRIA

A nanotecnologia farmacêutica é a área das ciências farmacêuticas envolvida no desenvolvimento, caracterização e aplicação de sistemas terapêuticos em escala nanométrica ou

TABELA II – Fármacos antimaláricos: vantagens e desvantagens de seu uso clínico

Composto	Vantagens	Desvantagens
Cloroquina	Rápida atividade esquizontocida; atividade gametocitocida para <i>P. vivax</i> e <i>P. malariae</i> ; ação antipirética e antiinflamatória	Poucas cepas de <i>P. falciparum</i> são, ainda, sensíveis à cloroquina
Amodiaquina	Rápida atividade esquizontocida; atividade gametocitocida para <i>P. vivax</i> e <i>P. malariae</i> ; ação antipirética e antiinflamatória	<i>P. falciparum</i> já é resistente em todas as áreas endêmicas do mundo
Primaquina	Ação profilática causal, sendo altamente ativa contra gametócitos de todas as espécies de plasmódios e contra hipnozoítos do <i>P. vivax</i>	Alta toxicidade em uso prolongado necessário para atuar contra as fases assexuadas sanguíneas; contra-indicada na gravidez (hemólise em fetos) e para crianças menores de 6 anos (hipoplasia e aplasia medular)
Quinina	Eficaz contra <i>P. falciparum</i> (fármaco de escolha para a malária <i>falciparum</i> em associação com doxiciclina ou tetraciclina)	Alta capacidade de se ligar a proteínas; distribui-se por todos os fluidos do corpo; atravessa a barreira placentária e a hematoencefálica; necessidade de uso associado a outros fármacos, devido à baixa adesão quando em uso isolado; muitos efeitos colaterais (chinchonismo)
Mefloquina	Potente esquizontocida sanguíneo, altamente ativo contra <i>P. vivax</i> e <i>P. malariae</i> ; eficaz contra os gametócitos de <i>P. vivax</i>	Alta capacidade de ligação à proteínas; meia vida muito longa (10–40 dias); esofagite após ingestão; potencial para induzir manifestações neuropsiquiátricas graves
Halofantrina	Ação esquizontocida sanguínea sobre todas as espécies de plasmódio	Não atua sobre gametócitos e hipnozoítos; custo elevado; variabilidade de sua biodisponibilidade; resistência cruzada com a mefloquina; cardiotoxicidade em certos grupos de risco após dosagem padrão; não deve ser usada por gestantes ou lactentes
Artemisinina e derivados	Esquizontocidas sanguíneos potentes de ação rápida	Neurotoxicidade dose/dependente
Tetraciclina	Antimicrobiano de amplo espectro com ação potente contra as fases sanguíneas e intra-hepáticas do <i>P. falciparum</i> (em combinação com a quinina)	Contra-indicado na gravidez e em crianças menores de 8 anos, pois prejudica a calcificação óssea no feto, pode resultar em osteogênese anormal e hipoplasia do esmalte dentário, atravessam a barreira placentária e são encontradas no leite materno; deve ser sempre empregada em combinação com outro antimalárico
Doxiciclina	Difere das tetraciclinas pelo fato de ser mais completamente absorvida, mais lipossolúvel e meia vida mais longa; usada no tratamento da malária por <i>P. falciparum</i>	Mesmas contra-indicações da tetraciclina; deve ser sempre empregada em combinação com outro agente antimalárico
Clindamicina	Antimicrobiano de amplo espectro esquizontocida sanguíneo eficiente; tratamento da malária por <i>P. falciparum</i>	Mais cara e mais tóxica que doxiciclina e tetraciclina; deve ser sempre empregada em combinação com outro agente antimalárico

micrométrica. Estudos de tais sistemas têm sido realizados ativamente no mundo com o propósito de direcionar e controlar a liberação de fármacos (Sakata *et al.*, 2007). A aplicação

da nanotecnologia para o tratamento, diagnóstico, monitoramento e controle de sistemas biológicos foi recentemente denominada “Nanomedicina” pelo *National Institute of*

Health nos Estados Unidos (Moghimi et al., 2005). Esta tecnologia surgiu nos anos 1960 com o desenvolvimento inicialmente da microencapsulação, técnica de transformação de líquidos (polímeros e outras substâncias) em pós com tamanho de partículas micrométricas. A microencapsulação é bastante utilizada nas indústrias alimentícia, têxtil, farmacêutica e cosmética por permitir a proteção de substâncias lábeis e voláteis, o controle da liberação do fármaco, contribuindo para a melhoria na biodisponibilidade e redução da dose terapêutica e toxicidade. A microencapsulação serviu de modelo para técnicas mais sofisticadas, agora em escala nanométrica, permitindo o desenvolvimento de nanopartículas. A descoberta dos lipossomas nos anos 1960 veio aumentar a variedade de ferramentas para o desenvolvimento da nanotecnologia farmacêutica com sistemas lipídicos para vetorização de fármacos (Lasic, 1998). Atualmente são desenvolvidos nanossistemas, tais como lipossomas e nanopartículas, e microssistemas, como micropartículas, emulsões múltiplas e microemulsões (Silva, 2004). Lipossomas são vesículas aquosas circundadas por bicamada lipídica podendo servir como veículo de fármacos a serem encapsulados na cavidade aquosa da vesícula ou na bicamada lipídica (Lasic, 1998). Nanopartículas são partículas poliméricas na forma de reservatório (cápsulas) ou matricial (matriz polimérica) nas quais o fármaco está encapsulado ou adsorvido na malha polimérica (Brigger et al., 2002). Nos anos 1990 surgiram nanossistemas mais sofisticados revestidos por polímeros hidrofílicos, denominados sistemas furtivos, que permitem um tempo de circulação maior no organismo (Gref et al., 1994). Além dos sistemas furtivos, sistemas contendo moléculas sinalizadoras na superfície denominados sítio-específicos foram desenvolvidos com a finalidade do direcionamento específico de fármacos para células alvo (Barrat, 2000).

Entre as vantagens que os nanossistemas podem oferecer destacam-se: a proteção do fármaco no sistema terapêutico contra possíveis instabilidades no organismo, promovendo manutenção de níveis plasmáticos em concentração constante; o aumento da eficácia terapêutica; a liberação progressiva e controlada do fármaco pelo condicionamento a estímulos do meio em que se encontram (sensíveis a variação de pH ou de temperatura); a diminuição expressiva da toxicidade pela redução de picos plasmáticos de concentração máxima; a diminuição da instabilidade e decomposição de fármacos sensíveis; a possibilidade de direcionamento a alvos específicos (sítio-especificidade); a possibilidade de incorporação tanto de substâncias hidrofílicas quanto lipofílicas nos dispositivos; a diminuição da dose terapêutica e do número de administrações e aumento da aceitação da terapia pelo paciente. Embora estas vantagens sejam significativas, alguns inconvenientes plausíveis não podem ser ignorados, como por exemplo, uma possível toxicidade, ausência de biocompatibilidade dos materi-

ais utilizados e o elevado custo de obtenção dos nanossistemas comparados com as formulações farmacêuticas convencionais (Verma, Garg, 2001; Dunne et al., 2003; Tao, Desai, 2003).

Lipossomas

Lipossomas, vesículas aquosas formadas por bicamadas concêntricas de fosfolípidios (Figura 1), são uma excelente forma de sistema de liberação controlada de fármacos devido à sua flexibilidade estrutural (tamanho, composição e fluidez da bicamada lipídica), como à sua capacidade de incorporar variedade de compostos hidrofílicos (Andrade et al., 2004) e hidrofóbicos (Pontes et al., 1999), sendo os sistemas nanométricos mais estabelecidos clinicamente para a entrega de fármacos citotóxicos, genes e vacinas (Diebold et al., 2006). Os lipossomas podem ter tamanhos variados (20 nm até alguns micrometros) com espessura de bicamada lipídica em torno de 6 nm. Os lipossomas como sistemas de liberação controlada de fármacos não apenas possibilitam a vetorização e a proteção do fármaco, como também permitem o possível direcionamento para sítios específicos de células ou órgãos (sítio-específicos) (Bergstrand et al., 2003; Sapra, Allen, 2003).

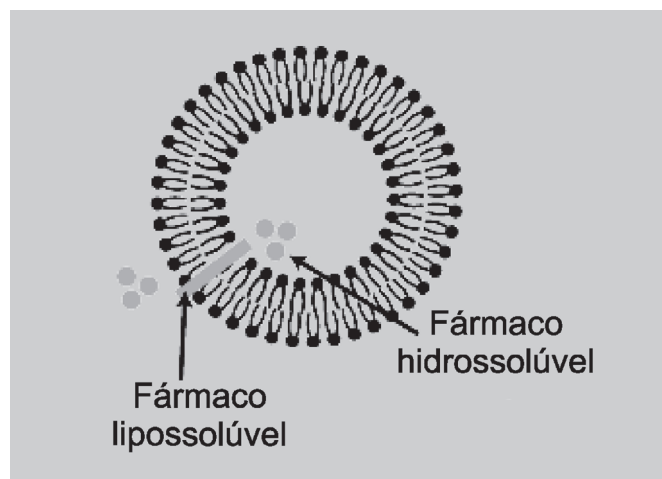


FIGURA 1 - Esquema ilustrativo do corte transversal de um lipossoma, que pode conter fármacos hidrofílicos na cavidade aquosa interna, enquanto fármacos hidrofóbicos ficam retidos na bicamada lipídica (modificado de <http://www.endovasc.com/imagens/graphics/liposome1.gif>).

Bayomi e colaboradores (1998) desenvolveram formulações lipossômicas contendo artemeter, uma substância semi-sintética, derivada de artemisinina, efetivo contra os estágios eritrocíticos de *P. falciparum* resistente à cloroquina e à mefloquina (Brossi et al., 1988). Dentre as formulações desen-

volvidas, aquela composta por dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), diberenoilfosfatidilcolina (DBPC), colesterol e artemeter na proporção de 1:1:2:1, foi a selecionada para ensaios *in vivo*, utilizando coelhos machos “Nova Zelândia”, que receberam os lipossomas por via oral e intravenosa. Os resultados mostraram aumento significativo da biodisponibilidade do fármaco, quando administrado em lipossomas por via oral (97,91%), comparado com os 31,83% quando administrado sob a forma de suspensão oral. O artemeter em lipossomas administrados por via intravenosa resultou em aumento no tempo de meia-vida, quando comparado com aqueles de outros derivados da artemisinina, como a própria artemisinina e o artemeter.

O antimalárico artemeter foi encapsulado em lipossomas compostos de fosfatidilcolina de ovo e colesterol, sendo caracterizados quanto à sua capacidade de encapsulamento, estabilidade química e sua eficácia terapêutica em camundongos infectados pelo *P. chabaudi*. Uma eficiência de encapsulamento próxima a 100% foi observada com o fármaco localizado na bicamada lipídica e estabilidade de três meses, quando estocados a 4 °C. A formulação demonstrou ainda eficácia terapêutica de 100% de cura após 22 dias de infecção (Chimanuka *et al.*, 2002).

Lipossomas contendo artesunato, outro derivado da artemisinina, foram desenvolvidos à base de fosfatidilcolina de ovo e colesterol. Na caracterização da nova forma farmacêutica, foram realizados ensaios de microscopia, capacidade de incorporação e estabilidade química, além do perfil de liberação do fármaco a partir dos lipossomas. Os resultados evidenciaram a obtenção de um sistema estável por 10 dias a 25 °C, contendo 1 mg de artesunato e 300 mg de lipídios por mL de tampão com pH 5,0 e taxa de encapsulamento de 100% (Gabriels, Plaizier-Vercanmen, 2003).

Um 19-amino peptídeo extraído de uma proteína do esporozoítio de *P. berghei* foi preparado e ligado quimicamente à superfície de lipossomas furtivos de fosfatidilcolina marcados com lipídeos fluorescentes (Longmuir *et al.*, 2006). Os resultados de biodistribuição indicaram a acumulação desses lipossomas pilotados nos hepatócitos e nas células não-parenquimais do fígado, centenas de vezes maior do que no coração, pulmão, rins e dez vezes maior que no baço. Esses resultados indicam que é possível direcionar fármacos incorporados nesse tipo de lipossomas para o combate as formas do parasita no interior dos hepatócitos.

Nanocápsulas

As nanocápsulas são sistemas coloidais vesiculares de tamanho nanométrico, em que o fármaco está confinado em uma cavidade oca ou oleosa, estabilizada por mem-

brana polimérica (Legrand *et al.*, 1999; Brigger *et al.*, 2002). As nanocápsulas são utilizadas para vetorização de fármacos hidrofóbicos, que são incorporados na cavidade interna oleosa (Santos *et al.*, 2005).

Mosqueira e colaboradores (2004, 2006) desenvolveram formulações de nanocápsulas contendo halofantrina para a avaliação da eficiência e farmacocinética em estudos com camundongos infectados pelo *P. berghei*. Neste trabalho foram utilizadas nanocápsulas furtivas de polímero de ácido láctico, com superfície modificada por polietilenoglicol, com a finalidade de reduzir a captura pelo sistema fagocitário mononuclear e proporcionar o aumento do tempo na circulação sanguínea. As nanocápsulas demonstraram a capacidade de modificar o perfil farmacocinético da halofantrina no plasma, mantendo as concentrações plasmáticas do fármaco por mais de 70 h, indicando aumento no tempo de circulação das nanocápsulas furtivas. As nanocápsulas induziram rápido controle do desenvolvimento dos parasitas nas primeiras 48 horas pós-tratamento, com resultados estatisticamente significativos comparados ao controle. Os resultados mostraram que a nanoencapsulação da halofantrina promoveu perfil farmacocinético mais favorável e reduziu a cardiotoxicidade (Leite *et al.*, 2007), sugerindo o uso de halofantrina nanoencapsulada, por via parenteral, para o tratamento da malária grave com menores efeitos adversos.

Bhadra e colaboradores (2006) desenvolveram nanopartículas baseadas em dendrímeros de PEG-poli-L-lisina recobertas por sulfato de condroitina. O fosfato de cloroquina foi encapsulado e as partículas apresentaram reduzida capacidade hemolítica, reduziram o nível de trofozoítos jovens em cultura de *P. falciparum* e prolongaram a permanência da cloroquina no sangue de ratos em estudos de biodistribuição, após administração intravenosa, sem que efeitos adversos tenham sido observados.

Micropartículas

Micropartículas são partículas poliméricas esféricas matriciais (microesferas) ou reservatórios (microcápsulas) (Figura 2), que promovem a liberação controlada de fármacos ou substâncias biologicamente ativas hidrofílicas (Ahsan *et al.*, 2002) ou hidrofóbicas (Ribeiro-Costa *et al.*, 2004). O processo de microencapsulação possui larga aplicação industrial e para desenvolvimento de novas formas farmacêuticas devido às suas características de biocompatibilidade e biodegradabilidade (Mandal *et al.*, 2001; Vandenberg *et al.*, 2001; Youan *et al.*, 2001).

Schlicher e colaboradores (1997) desenvolveram microesferas de co-polímero de ácido láctico e glicólico (PLGA) contendo desferrioxamina (DFO), um agente quelante de ferro com atividade antimalárica *in vitro* e *in*

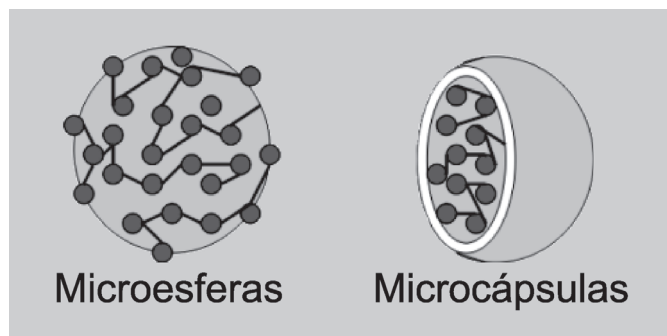


FIGURA 2 - Esquema ilustrativo diferenciando os tipos de micropartículas: microesferas (matriz polimérica) e microcápsulas (cápsulas com parede polimérica e cavidade oca ou aquosa).

vivo, desprovido o parasita de ferro essencial para seu desenvolvimento (Chabantchick, 1995; Mabeza *et al.*, 1996). O DFO apresenta tempo de meia-vida curto (Keberle, 1964) e a sua biodisponibilidade poderia ser modificada pela microencapsulação. De fato, a formulação de micropartículas apresentou taxa de encapsulamento superior a 70%, perfil cinético caracterizado por rápida liberação inicial, seguida de taxa marginal de liberação controlada.

Vacinas para malária encapsuladas em lipossomas e microesferas

Pesquisas para o desenvolvimento de vacina eficaz contra a malária estão em andamento. Uma das barreiras a serem vencidas é a associação das vacinas com adjuvantes, que permitam estímulo da resposta imune com níveis de anticorpos elevados por períodos de tempo prolongado (Gupta, 1998; Cui, Mumper, 2003). O uso de técnicas de microencapsulação tem permitido a indução de potente resposta imune humoral, quando modelos de antígenos são utilizados para o desenvolvimento de vacinas (Igartua *et al.*, 1998).

Segundo Moorthy e colaboradores (2004), há aumento no número de grupos de pesquisa na área do desenvolvimento de vacinas eficazes contra a malária, já que novos métodos de liberação controlada da vacina e uso de novos adjuvantes podem elevar os níveis de anticorpos. Os autores argumentam, ainda, que a necessidade de vacina efetiva é urgente e que o seu desenvolvimento é tecnicamente possível na visão da maioria dos pesquisadores.

O antígeno de merozoíto MAS-2, um candidato a vacina contra a malária, foi testado com o uso de diferentes adjuvantes, FCA/FIA, ISA 720, SAF-1 e LIPO/LA em Alhidrogel[®], utilizando a resposta isolada deste último

como padrão. O adjuvante LIPO/LA consiste em lipossomas compostos de dimiristoilfosfatidilcolina, dimiristoilfosfatidilglicerol e colesterol na proporção de 0,9:0,1:0,75. Os resultados mostraram que o uso de LIPO/LA induziu respostas tão elevadas quanto aquelas baseadas nas formulações de Alhidrogel[®] isolado (Pye *et al.*, 1997).

Técnicas de nanotecnologia farmacêutica também foram utilizadas para a encapsulação do antígeno recombinante R32NSI em lipossomas, no desenvolvimento de vacina para a malária pelo Instituto de Pesquisa Walter Reed do Exército Americano. Neste projeto, o lipídio monofosforila A foi incluído na bicamada lipídica como adjuvante. O estudo clínico de fase I em voluntários humanos demonstrou indução promissora de anticorpos antimalária em níveis elevados (Alving, 2002).

A procura de novos adjuvantes para vacinas levou Thomasin e colaboradores (1996) a testar microesferas biodegradáveis de PLGA como adjuvante para um peptídeo sintético da malária com fraco poder imunogênico, o P30B2, em ensaios *in vivo* utilizando camundongos. Os resultados demonstraram a propriedade das microesferas em induzir a produção de anticorpos e o seu potencial em prolongar os níveis de anticorpos por períodos de até 45 semanas.

Um peptídeo sintético obtido de proteínas do circumesporozoíto de *P. berghei* (Pb) 252-260 foi utilizado em diferentes formulações de microesferas de PLGA, para o estudo da indução de resposta antígeno-específica dos linfócitos T citotóxicos (CTL). Os resultados obtidos de ensaios *in vitro* e *in vivo*, utilizando camundongos Balb/C, indicaram que as microesferas constituem potentes sistemas de liberação de antígenos imunoestimulantes para uma resposta CTL, sendo úteis no desenvolvimento de subunidades de vacinas contra a malária (Men *et al.*, 1997).

Microesferas de PLGA foram utilizadas para encapsular o antígeno sintético SPf66. O objetivo do trabalho foi avaliar a capacidade do SPf66 encapsulado de induzir resposta imune superior àquela de SPf66 administrado com alúmen, um adjuvante tradicional em vacinas. No estudo de imunização *in vivo* por via subcutânea utilizando camundongos, o antígeno encapsulado induziu maiores níveis de anticorpos anti-SPf66 do que aqueles em que o peptídeo estava adsorvido no alúmen. Segundo os autores, este resultado se deve principalmente à capacidade do sistema em otimizar a penetração do antígeno nas células imunocompetentes (Rosas *et al.*, 2001).

Carcaboso e colaboradores (2003) estudaram o uso de microesferas de PLGA contendo o peptídeo sintético SPf66 encapsulado, para a indução de resposta imune protetora parcial contra a malária, utilizando camundongos

Balb/C. A vacina encapsulada em microesferas foi capaz de induzir, após administração oral, resposta imune sistêmica comparável àquela observada no esquema que utiliza o alumínio por via subcutânea.

Outros polipeptídeos candidatos a vacinas contra a malária em desenvolvimento como o RTS/AS02 (Bojang *et al.*, 2001), o Pvs25h (Miles *et al.*, 2002), ou a combinação de MSP1, MSP2, RESA (Genton *et al.*, 2003) estão sendo testados em protocolos tradicionais de imunização.

Edwards e colaboradores (2005) desenvolveram micropartículas de 1-5 µm de diâmetro para administração pulmonar contendo DNA, peptídeos e antígenos da malária, que promoveram a liberação sustentada desses agentes. As partículas degradaram no corpo e liberaram as proteínas MSP-1 e AMA-1 no sangue estimulando a resposta imune humoral. Partículas menores, da ordem de 0,1 µm foram preferencialmente fagocitadas pelos APCs, que expressaram as proteínas AMA-1 and MSP-1 codificadas pelos plasmídeos do DNA, iniciando a resposta imune celular necessária para a imunidade completa.

CONCLUSÕES

Nos últimos anos, numerosos estudos demonstraram que a distribuição de um fármaco no organismo pode ser modificada pelo uso de nanossistemas tais como lipossomas, nanopartículas ou micropartículas. Estes carreadores podem proteger o princípio ativo da degradação e/ou inativação; melhoram a biodisponibilidade por aumento da penetração celular e proporcionam a liberação do fármaco no sítio de ação desejado, eliminando ou minimizando os efeitos colaterais da terapêutica convencional.

O desenvolvimento de formas farmacêuticas de liberação controlada por micro e nanossistemas poderá permitir um melhor controle da cinética de liberação do fármaco, resultando em níveis plasmáticos terapêuticos, com menores efeitos tóxicos, representando passo importante no desenvolvimento de uma nova terapêutica antimalárica, o que pode repercutir na melhoria da qualidade de vida de milhões de pacientes, além do impulso técnico, científico e financeiro, potencialmente adquiridos.

O tratamento da malária pode ser beneficiado através de técnicas de encapsulação de fármacos. Dentre as estratégias de combate à malária utilizando técnicas de nanotecnologia farmacêutica, o desenvolvimento de uma vacina é a alternativa que tem recebido maior atenção dos pesquisadores, com grande número de artigos publicados. Até o presente, escassos estudos foram realizados com o uso de nanodispositivos aplicados ao carreamento de quimioterápicos utilizados no combate à malária. Entretanto, alguns pesquisadores já comprovaram a possibilidade

de encapsulação de antimaláricos em lipossomas, nanocápsulas e micropartículas, demonstrando a sua eficiência e utilidade na terapêutica antimalárica.

Os estudos para a obtenção de uma vacina efetiva contra a malária estão avançados e deverá ser liberado nos próximos anos um produto para uso em larga escala. A vacina desenvolvida poderá ser veiculada em nanodispositivos de modo a aumentar a sua estabilidade e prolongar o seu efeito de indução de imunogenicidade. Diversos polipeptídeos candidatos a vacinas contra a malária tais como o RTS, S/AS02, o Pvs25H ou a combinação de MSP1, MSP2, e RESA estão sendo testados em protocolos convencionais de imunização e são potenciais candidatos à microencapsulação.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o suporte financeiro parcial do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), processo 479979/01-4, concedido a NSSM e ao Ministério da Ciência e Tecnologia através da Rede Nacional de Nanobiotecnologia (Nanobiotec)- MCT/CNPq.

ABSTRACT

Application of pharmaceutical nanotechnology to the treatment of malaria

In spite of living in a scientific and technological era, malaria continues to be one of the worldwide greatest health challenges. The state-of-the-art policy to keep malaria under control is expected to comprise joint-strategies, such as the vector control, fast diagnosis, therapeutic guarantee, resistance cutback, drug optimization and development of new therapeutic agents and vaccines. Nano and microcarrier systems have been receiving a special attention, including the development of strategies for carrying bioactive agents, vaccines through nanodevices, such as liposomes and nanoparticles, and microdevices, such as microparticles and microemulsions. Numerous nanosystems have already substantiated their effectiveness to optimize vaccines, insecticides, and chemotherapeutic agents applied to the control of malaria. This review is intended to explain the malaria scenario though the world, and to show the nanotechnology as a promising alternative for malaria control and treatment.

UNITERMS: *Malaria. Nanotechnology. Liposomes. Nanoparticles. Microparticles. Vaccines.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHSAN, F.; RIVAS, I.P.; KHAN, M.A.; TORRES SUAREZ, A.I. Targeting to macrophages: role of physicochemical properties of particulate carriers - liposomes and microspheres - on the phagocytosis by macrophages. *J. Control. Release*, Amsterdam, v.79, p.29-40, 2002.
- ALVING, C.R. Design and selection of vaccine adjuvant: animal models and human trials. *Vaccine*, Amsterdam, v.20, p.S56-S64, 2002.
- ANDRADE, C.A.; CORREIA, S.M.T.S.; COELHO, L.C.B.B.; NASCIMENTO, S.C.; SANTOS-MAGALHÃES, N.S. Antitumor activity of *Cratylia mollis* lectin encapsulated into liposomes. *Int. J. Pharm.*, Amsterdam, v.278, p.435-445, 2004.
- BHADRA, D.; BHADRA, S.; JAIN, N.K. PEGylated peptide dendrimeric carriers for the delivery of antimalarial drug chloroquine phosphate. *Pharm. Res.*, Arlington, v.23, n.3, p.623-633, 2006.
- BARRAT, G.M. Therapeutic applications of colloidal drug carriers. *Pharma. Sci. Technol. Today*, Cambridge, v.5, p.163-171, 2000.
- BAYOMI, M.A.; AL-ANGARY, A.A.; AL-MESHAL, M.A.; MOHAMED M.; AL-DARDIRI, M.M. In vivo evaluation of arteether liposomes. *Int. J. Pharm.*, Amsterdam, v.175, p.1-7, 1998.
- BERGSTRAND, N.; ARFVIDSSON, M.C.; KIM, J.M.; THOMPSON, D.H.; EDWARDS, K. Interactions between pH-sensitive liposomes and model membranes. *Biophys. Chem.*, Amsterdam, v.104, p.361-379, 2003.
- BOJANG, K.A.; MILLIGAN, P.J.M.; PINDER, M.; VIGNERON, L.; ALLOUECHE, A.; KESTER, K.E.; BALLOU, W.R.; CONWAY, D.J.; REECE, W.H.H.; GOTHARD, P.; YAMUAH, L.; DELCHAMBRE, M.; VOSS, G.; GREENWOOD, B.M.; HILL, A.; MCADAM, K.P.W.J.; TORNIEPORTH, N.; COHEN, J.D.; DOHERTY, T. Efficacy of RTS,S/AS02 malaria vaccine against *Plasmodium falciparum* infection in semi-immune adult men in the Gambia: a randomised trial. *Lancet*, Amsterdam, v.358, p.1927-1934, 2001.
- BRIGGER, I.; DUBERNET, C.; COUVREUR, P. Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. *Adv. Drug Del. Rev.*, Arlington, v.54, p.631-651, 2002.
- BROSSI, A.; VENUGOPOLAN, B.; DOMENGUER, L.G.; YEH, H.J.C.; FLIPPEN-ANDERSON, J.L.; BUCHS, P.; LUO, X.D.; MILHOUS, W.; PETERS, W. Arteether, a new antimalarial drug: synthesis and antimalarial properties. *J. Med. Chem.*, Washington, v.31, p.645-650, 1988.
- CARCABOSO, A.M.; HERNANDEZ, R.M.; IGARTUA, M.; GASCON, A.R.; ROSAS, J.E.; PATARROYO, M.E.; PEDRAZ, J.L. Immune response after oral administration of the encapsulated malaria synthetic peptide SPf66. *Int. J. Pharm.*, Amsterdam, v.260, p.273-282, 2003.
- CHABANTCHICK, Z.I. Iron chelators as antimalarials: the biochemical basis of selective cytotoxicity. *Parasitol. Today*, Amsterdam, v.11, n.2, p.74-78, 1995.
- CHEDGZOY, P.; WINCKLE, G.; HEARD, C. M. Triclosan: release from transdermal adhesive formulations and in vitro permeation across human epidermal membranes. *Int. J. Pharm.*, Amsterdam, v.235, p.229-236, 2002.
- CHIMANUKA, B.; GABRIËLS, M. DETAEVERNIER, M. R.; PLAIZIER-VERCAMMEN, J. A. Preparation of β -artemether liposomes, their HPLC-UV evaluation and relevance for clearing recrudescence parasitaemia in *Plasmodium chabaudi* malaria-infected mice. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, Amsterdam, v.28, p.13-22, 2002.
- COLTEL, N.; COMBES, V.; HUNT, N.H.; GRAU, G.E. Cerebral malaria – a neurovascular pathology with many riddles still to be solved. *Curr. Neurovasc. Res.*, Amsterdam, v.1, p.91-110, 2004.
- CRAWLEY, J. Malaria: new challenges, new treatments. *Curr. Paediatrics*, Amsterdam, n.9, p.34-41, 1999.
- CUI, Z.; MUMPER, R.J. Microparticles and nanoparticles as delivery systems for DNA vaccines. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, Redding, v.20, n.2-3, p.103-137, 2003.
- DIAS, L.R.S. Situação mundial da malária. *Infarma*, v.14, p.87-88, 2002.

- DIEBOLD, Y.; JARRÍN, M.; SÁEZ, V.; CARVALHO, E.L.S.; OREA, M.; CALONGE, M.; SEIJO, B.; ALONSO, M.J. Ocular drug delivery by liposome-chitosan nanoparticle complexes (LCS-NP). *Biomaterials*, Amsterdam, v.28, n.8, p.1553-1564, 2006.
- DUNNE, M.; BIBBY, D.C.; JONES, J.C.; CUDMORE, S. Encapsulation of protamine sulphate compacted DNA in polylactide and polylactide-co-glycolide microparticles. *J. Control. Release*, Amsterdam, v.92, p.209-219, 2003.
- EDWARDS, D.A.; SUNG, J.; PULLIAM, B.; WEHREBERG-KLEE, E.; SCHWARTZ, E.; DREYFUSS, P.; KULKARNI, S.; LIEBERMAN, E. Pulmonary delivery of malarial vaccine in the form of particulates. *PCT Int. Appl. WO 2005110379*, 2005. 25 p.
- FLORENS, L.; WASHBURN, M.P.; RAINE, J.D.; ANTJONY, R.M.; GRAINGER, M.; HAYNES, J.D.; MOCH, J.K.; MUSTER, N.; SACCI, J.B.; TABB, D.L.; WITNEY A.A.; WOLTERS, D.; WU, Y.; GARDNER, M.; HOLDER, A.A.; SINDEN R.E.; YATES, J.R.; CARUCCI, D.J. A proteomic view of the *Plasmodium falciparum* life cycle. *Nature*, London, v.419, p.520-526, 2002.
- FOLEY, M.; TILLEY, L. Quinoline antimalarials: Mechanisms of action and resistance and prospects for new agents. *Pharmacol. Ther.*, Amsterdam, v.79, p.55-87, 1998.
- FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA), 2003. Disponível em: <www.funasa.gov.br>. Acesso em: 12 jan. 2004.
- FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA). *Manual de terapêutica da malária*. Brasília, 2001. 104 p.
- FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA). *Programa Nacional de Prevenção e Controle da Malária – PNCM*. Brasília, 2002. 44p.
- FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA). *Ações de Controle de Endemias - Malária*. Brasília, 2002b. 104p.
- GABRIËLS, M.; PLAIZIER-VERCAMMEN, J. Physical and chemical evaluation of liposomes, containing artesunate. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, Arlington, v.31, p.655-667, 2003.
- GENTON, B.; AL-YAMAN, F.; BETUELA, I.; ANDERS, R. F.; SAUL, A.; BAEA, K.; MELLOMBO, M.; TARAIIKA, J.; BROWN, G.V.; PYE, D.; IRVING, D.O.; FELGER, I.; BECK, H.P.; SMITH, T.A.; ALPERS, M.P. Safety and immunogenicity of a three-component blood-stage malaria vaccine (MSP1, MSP2, RESA) against *Plasmodium falciparum* in Papua New Guinean children. *Vaccine*, Amsterdam, v.22, p.30-41, 2003.
- GOMES, A.P.; SIQUEIRA-BATISTA, R.; GONÇALVES, M. L. C.; IGREJA, R. P. In: Rodrigo Siqueira Batista, Andréia Patrícia Gomes, Ricardo Pereira Igreja & Donald William Huggins, *Medicina tropical. Abordagem atual das doenças infecciosas e parasitárias*. São Paulo: Cultura Médica, 2001. v.1, cap.17, p.150-166.
- GRAF, R.; MINAMITAKE, Y.; PERACCHIA, M.T.; TRUBETSKOY, V.; TORCHILIN, V.; LANGER, R. Biodegradable long-circulating polymeric nanospheres. *Science*, New York, v.263, p.1600-1603, 1994.
- GUPTA, R.K. Aluminum compounds as vaccine adjuvants. *Adv. Drug Del. Rev.*, Arlington, v.32, p.155-172, 1998.
- IGARTUA, M.; HERNANDEZ, R.M.; ESQUISABEL, A.; GASCON, A.R.; CALVO, M.B.; PEDRAZ, J.L. Enhanced immune response after subcutaneous and oral immunization with biodegradable PLGA microspheres. *J. Control. Release*, Amsterdam, v.56, p.63-73, 1998.
- KEBERLE, H. The biochemistry of desferrioxamine and its relation to iron metabolism. *Annal. New York Acad. Sci.*, New York, v.119, p.758 - 768, 1964.
- KREMSNER, P.G.; KRISHNA, S. Antimalarial combinations. *Lancet*, Amsterdam, v.364, p.285-294, 2004.
- KRETTLI, A.U.; ANDRADE-NETO, V.F.; BRANDAO, M.G.; FERRARI, W.M.S. The search for new antimalarial drugs from plants used to treat fever and malaria or plants randomly selected: a review. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v.96, p.1033-1042, 2001.
- KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N. *Patologia - Bases patológicas das doenças*. 7 ed. Rio de Janeiro: Ed. Saunders Elsevier, 2005. p.357-432.
- LASIC, D.D. Novel application of liposomes. *Trends Biotechnol.*, Amsterdam, v.16, p.307-321, 1998.

- LEITE, E.A.; GRABE-GUIMARÃES, A.; GUIMARÃES, H.N.; MACHADO-COELHO G.L.L.; BARRATT G.; MOSQUEIRA, V.C.F. Cardiotoxicity reduction induced by halofantrine entrapped in nanocapsule devices. *Life Sci.*, Amsterdam, v.80, p.1327-1334, 2007.
- LEGRAND, P.; BARRATT, G.; MOSQUEIRA, V.; FESSI, H.; DEVISSAGUET, J-P. Polymeric nanocapsules as drug delivery systems: a review. *S.T.P. Pharma Sci.*, Paris v.9, p.411-418, 1999.
- LOISEAU, P.M.; LE BRAS, J. New drugs against parasitic diseases. *Rev. Prat.*, Paris, v.57, p.175-182, 2007.
- LONGMUIR, K.J.; ROBERTSON, R.T.; HAYNES S.M.; BARATTA, J.L.; WARING A.J. Effective targeting of liposomes to liver and hepatocytes in vivo by incorporation of a Plasmodium amino acid sequence. *Pharm. Res.*, Arlington, v.23, p.759-769, 2006.
- MABEZA, G.F.; BIEMBA, G.; GORDEUK, V.R. Clinical studies of iron chelators in malaria. *Acta Haematol.*, Amsterdam, v.95, p.78-86, 1996.
- MANDAL, T.K.; BOSTANIAN, L.A.; GRAVES, R.A.; CHAPMAN, S.R.; IDODO, T.U. Porous biodegradable microparticles for delivery of pentamidine. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, Amsterdam, v.52, p.91-96, 2001.
- MEN, Y.; TAMBERT, H.; AUDRAN, R.; GANDER, B.; CORRADIN, G. Induction of a cytotoxic T lymphocyte response by immunization with a malaria specific CTL peptide entrapped in biodegradable polymer microspheres. *Vaccine*, Amsterdam, v.15, n.12/13, p.1405-1412, 1997.
- MILES, A.P.; ZHANG, Y.; SAUL, A.; STOWERS, A.W. Large-scale purification and characterization of malaria vaccine candidate antigen pvs25h for use in clinical trials. *Protein Express. Purification*, Amsterdam, v.25, p.87-96, 2002.
- MOGHIMI, S.M.; HUNTER, A.C.; MURRAY, J.C. Nanomedicine: current status and future prospects. *The FASEB J.*, v.19, p.311-330, 2005.
- MOORTHY, V.S.; GOOD, M.F.; HILL, A.V.S. Malaria vaccine developments. *Lancet*, Amsterdam, v.363, p.150-156, 2004.
- MOSQUEIRA, V.C.F.; LOISEAU, P.M.; BORIES, C.; LEGRAND, P.; DEVISSAGUET, J.; BARRATT, G. Efficacy and pharmacokinetics of intravenous nanocapsule formulations of halofantrine in *Plasmodium berghei*-infected mice. *Antimicrob. Agents Chemother.*, Washington, v.48, p.1222-1228, 2004.
- MOSQUEIRA, V.C.F.; LEGRAND, P.; BARRATT, G. Surface-modified and conventional nanocapsules as novel formulation for parenteral delivery of halofantrine. *J. Nanosci. Nanotechnol.*, Stevenson Ranch, v.9-10, p.3193-3202, 2006.
- PONTES, A.C.O.; CAETANO, M.N.P.; SANTOS-MAGALHÃES, N.S. Physicochemical characterization and antimicrobial activity of benzathine penicillin G liposomes. *S.T.P. Pharma Sci.*, Paris, v.9, p.419-427, 1999.
- PYE, D.; VANDENBERG, K.L.; DYER, S.L.; IRVING, D.O.; GOSS, N.H.; WOODROW, G.C.; SAULI, A.; ALVING, C.R.; RICHARDS, R.L.; BALLOU, W.R.; WU, M.; SKOFF, K.; ANDERSON, R.F. Selection of an adjuvant for vaccination with the malaria antigen, MSA-2. *Vaccine*, Amsterdam, v.15, n.9, p.1017-1023, 1997.
- RIBEIRO-COSTA, R. M.; PEREIRA, E.C.G.; ALVES, J.A.; SANTOS, N.P.; NASCIMENTO, S. C.; HONDA, N.K.; SILVA, N.H.; SANTOS-MAGALHÃES, N.S. In vitro and in vivo properties of usnic acid encapsulated into PLGA-microspheres. *J. Microencap.*, London, v.21, p.371-384, 2004.
- ROSAS, J.E.; HERNÁNDEZ, R.M.; GASCÓN, A.R.; IGARTUA, M.; GUZMAN, F.; PATARROYO, M.E.; PEDRAZ, J.L. Biodegradable PLGA microspheres as a delivery system for malaria synthetic peptide SPf66. *Vaccine*, Amsterdam, v.19, p.4445-4451, 2001.
- SAKATA, S.; UCHIDA, K.; KAETSU, I.; KITA, Y. Programming control of intelligent drug releases in response to single and binary environmental stimulation signals using sensor and electroresponsive hydrogel. *Radiat. Phys. Chem.*, Amsterdam, v.76, p.733-737, 2007.
- SANTOS, N.P.; NASCIMENTO, S.C.A.; SILVA, J.F.; PEREIRA, E.C.G.; SILVA, N.H.; HONDA, N.K.; SANTOS-MAGALHÃES, N.S. Usnic acid-loaded nanocapsules: an evaluation of cytotoxicity. *J. Drug Del. Sci. Tech.*, Paris, v.15, p.355-361, 2005.

- SAPRA, P.; ALLEN, T. M. Ligant-target liposomal anticancer drugs. *Prog. Lipid Res.*, Amsterdam, v.42, p.439-462, 2003.
- SCHLICHER, E.J.A.M.; POSTMA, N.S.; ZUIDEMA, J.; TALSMA, H.; HENNINK, W.E. Preparation and characterisation of Poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) microspheres containing desferrioxamine. *Int. J. Pharm.*, Amsterdam, v.153, p.235-245, 1997.
- SILVA, G.A. Introduction to nanotechnology and its applications to medicine. *Surgical Neurol.*, Amsterdam, v.61, p.216-220, 2004.
- TAO, S.L.; DESAI, T.A. Microfabricated drug delivery systems: from particles to pores. *Adv. Drug Del. Rev.*, Arlington, v.55, p.315-328, 2003.
- THOMASIN, C.; CORRADIN, G.; MEN, Y.; MERKLE, H.P.; GANDER, B. Tetanus toxoid and synthetic malaria antigen containing poly(lactide)/poly(lactide-co-glycolide) microspheres: importance of polymer degradation and antigen release for immune response. *J. Control. Release*, Amsterdam, v.41, p.131-145, 1996.
- TRACY, J.W.; WEBSTER JÚNIOR, L.T. Fármacos usados na quimioterapia das infecções por protozoários: malária. In: Goodman & Gilman. As bases farmacológicas da terapêutica. 10 ed. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill, 2003. cap.40 p.803-822.
- TRACY, J.W.; WEBSTER JÚNIOR, L.T. Fármacos usados no tratamento das protozoonoses: malária. In: Goodman & Gilman. As bases farmacológicas da terapêutica. 9 ed, Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 1996. cap.40, p.709-724.
- VANDENBERG, G.W.; DROLET, C.; SCOTT S.L.; DE LA NOUE, J. Factors affecting protein release from alginate-chitosan coacervate microcapsules during production and gastric/intestinal simulation. *J. Control. Release*, Amsterdam, v.77, p.297-307, 2001.
- VERMA, R.K.; GARG, S. Current status of drug delivery technologies and future directions. *Pharmac. Technol.*, v.25, n.2, p.1-4, 2001.
- WILAIRATANA, P.; KRUDSOOD, S.; TREEPRASERTSUK, S.; CHALERMRUT, K.; LOOAREESUWAN, S. The future outlook of antimalarial drugs and recent work on the treatment of malaria. *Arch. Med. Res.*, Amsterdam, v.33, p. 416-421, 2002.
- WINSTANLEY, P.O. Modern chemotherapeutic options for malaria. *Lancet*, Amsterdam, v.1 p. 242-250, 2001.
- WONGSRICHANALAI, C.; PICKARD, A.L.; WERNSDORFER, W.H.; MESHNICK, S.R.O. Epidemiology of drug-resistant malaria. *Lancet Inf. Dis.*, Amsterdam, v.2, p.209-218, 2002.
- YOUAN, B.B.C.; JACKSON, T.L.; DICKENS, L.; HERMANDEZ, C.; OWUSUBIOABA, G. Protein release profiles and morphology of biodegradable microcapsules containing an oil core. *J. Control. Release*, Amsterdam, v.76, p.313-326, 2001.

Recebido para publicação em 07 de agosto de 2006.

Aceito para publicação em 08 de agosto de 2007.