

# Biotecnologia de sistemas coloidais aplicável na otimização do efeito terapêutico de fármacos usados no tratamento do câncer

THALITA PEDRONI FORMARIZ<sup>1</sup>  
BRUNA JULIANA WANCZINSKI<sup>1</sup>  
ARNÓBIO ANTÔNIO DA SILVA JÚNIOR<sup>1</sup>  
MARIA VIRGÍNIA SCARPA<sup>2</sup>  
ANSELMO GOMES DE OLIVEIRA<sup>3</sup>

1. Mestrandos do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas.
2. Professor Assistente Doutor -
3. Professor Adjunto - Departamento de Fármacos e Medicamentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas-Unesp, Rodovia Araraquara-Jaú km 01, 14801-902, Araraquara, São Paulo.  
Autor responsável e-mail: oliveia@fctfar.unesp.br

## 1. CÂNCER

O câncer é considerado um problema de saúde pública, em todo o mundo. Nos Brasil, o número casos de tumores diagnosticados aumenta, a cada ano, e, nos Estados Unidos, surgem aproximadamente 1 milhão de novos casos por ano. Análises estatísticas alarmantes prevêem que, até o ano 2005, cerca de 10 milhões de novos casos de neoplasias deverão ser diagnosticados.

A quimioterapia é uma das abordagens para o tratamento das neoplasias e, no sentido de aprimorar esta ferramenta, destaca-se, como prioridade, o desenvolvimento de novos fármacos, em especial aqueles ativos contra os tumores sólidos. Um dos principais fatores limitantes da atividade dos fármacos antineoplásicas é o aparecimento de células tumorais capazes de desenvolver mecanismos intracelulares de resistência farmacológica de etiologia multifatorial (KLI GERMAN, 2000).

Atualmente, são conhecidos mais de cem tipos de cânceres, diferenciados pela etiologia, história natural e forma de tratamento. Apesar da grande evolução do conhecimento a respeito deste conjunto de patologias, tal progresso não refletiu de maneira proporcional o desenvolvimento de técnicas eficazes de prevenção, tratamento e cura.

Em relação ao tratamento de neoplasias, a introdução da quimioterapia aumentou significativamente os índices de cura de alguns tumores, em especial as neoplasias hematológicas, as quais não eram controladas com sucesso pelo emprego da cirurgia ou radioterapia (BONADONA, 1990; MANS et al., 2000).

As neoplasias podem ser classificadas em benignas e malignas. Os tumores benignos apresentam células diferenciadas com crescimento lento e expansivo, pouca mitose e, na maioria das vezes, são

encapsulados, não capazes de originar metástases e, apresentam apenas complicações locais.

Assim, dificilmente levam pacientes a óbito (MELLORS, 1999). Ao contrário, as células neoplásicas apresentam quatro características principais que as distinguem das células normais: perda da função em consequência da ausência de diferenciação, invasão e destruição dos tecidos adjacentes, proliferação incontrolada e geração de metástases. Essa célula origina de mutações, que podem ser hereditárias ou adquiridas somaticamente como resultado de processos endógenos ou exposição a uma variedade de fatores ambientais, químicos, físicos e biológicos (COELHO, 1998). Além disso, os tumores malignos são pouco diferenciados e não são encapsulados, apresentam crescimento invasivo, podendo originar metástases e normalmente provocam a morte do paciente (MELLORS, 1999).

A ação dos agentes carcinogênicos sobre a célula resulta em dano genético (mutação) ou alteração no padrão de expressão gênica (epigenético), apresentando um efeito acumulativo, durante a vida do indivíduo, até a ocorrência do tumor (CHMPBELL, 1999). A primeira etapa, carcinogênese, é a iniciação, na qual o agente carcinogênico causa uma mutação no DNA celular (fenômeno celular).

Nesse evento, não se dá o desenvolvimento da patologia, a qual só ocorrerá, quando a célula mutada dormente sofrer um evento epigenético. A segunda fase é a promoção, em que ocorre uma série de efeitos reversíveis que facilitam a expressão do fenótipo iniciado (fenômeno tissular), e possui duração variável.

A última etapa é a progressão, envolve ciclos sucessivos de mutações, ocorrendo o rearranjo cromossomal, o qual ativa o proto-oncogene ou suprime um gene supressor tumoral, iniciando a divisão descontrolada da célula tumoral (fenômeno sistêmi-

co) (MCKINNELL, 1998). Para o desenvolvimento da neoplasia é necessário que ocorra mutações genômicas sucessivas, porém alguns indivíduos já possuem alterações no seu fenótipo proveniente das células germinativas, tornando mais susceptíveis.

Existem dois tipos de alterações genéticas que podem levar ao desenvolvimento tumoral. A primeira refere à inativação de genes supressores tumorais, pois estes codificam proteínas que bloqueiam o ciclo celular, retornando a célula para o estado quiescente, ou promovendo a morte celular programada (apoptose), quando esta apresentar algum dano no seu DNA.

Dessa maneira, a inativação desse gene leva à perda da regulação do crescimento celular e, portanto, esta mutação é oncogênica (PEARSON e VAN DER LUIJT, 1998). É provável que o evento chave da carcinogênese seja a perda da função dos genes supressores tumorais (DE VITA, 1995; PERANTONI, 1998; BRETANI, 1998). O segundo refere à ativação de proto-oncogenes em oncogenes, que codificam proteínas responsáveis pela promoção e regulação do ciclo celular, tais como fatores de crescimento e seus receptores, enzimas e proteínas envolvidas no controle da proliferação e diferenciação celular, quando estes são ativados através de translocações cromossômicas, amplificações gênicas ou mutações pontuais, os proto-oncogenes transformam-se em oncogenes e estes podem conferir autonomia de crescimento às células (HACKFORD, 1993; PERANTONI, 1998).

O processo de apoptose é dependente de energia caracterizado pela rápida ocorrência de alterações morfológicas e bioquímicas. Essas alterações consistem em formações citoplasmáticas, condensação da cromatina e da membrana nuclear, clivagem da cromatina por endonucleases, as quais são somente ativadas no processo apoptótico e, finalmente, a fragmentação do DNA com a morte celular. Há oncogenes, como por exemplo, o *bcl-2*, que codificam proteínas antiapoptóticas inibindo este processo (PIERCE, 1998; KESSLER, 1999).

A literatura relata que para o aparecimento de metástase e o desenvolvimento do tumor, há a necessidade de suprimento adequado de sangue, o qual é obtido, através da formação de novos vasos sanguíneos, a partir dos já existentes nos tecidos circunvizinhos (FOLKMAN e COTRAN, 1976; FURCHT, 1986). Esse processo é chamado de neovascularização ou angiogênese (FOLKMAN e SING, 1992).

Esse processo raramente ocorre em um indivíduo normal, porque as células normais secretam baixas concentrações de indutores e altos níveis de inibidores angiogênicos, enquanto que as células tumorais fazem ao contrário (BOUCK, 1990; AUGUSTIN, 1998). O processo de angiogênese favorece a disseminação celular, e pode ocorrer por duas vias, através dos vasos sanguíneos e pelo sistema linfático.

Os sarcomas preferem a via hematogênica, e os carcinomas, o sistema linfático. Os órgãos mais comuns para as metástases ocorrerem são os nódulos linfáticos, ossos, pulmão, fígado e cérebro (FOLKMAN, 1995; ELLIS e FILDER, 1996). A progressão tumoral é um processo seletivo e seqüencial e abrange três fases: a saída da célula neoplásica do órgão de origem através da circulação (linfática ou sanguínea), adesão da célula circulante a elementos endoteliais ou subendoteliais do órgão invadido e a penetração da mesma ao estroma intersticial do órgão sede da metástase ou tumor secundário (CHMPBELL, 1999; KESSLER, 1999). Deve-se lembrar, que somente alguns clones tumorais possuem fenótipo metastático para a expressão das moléculas envolvidas em adesão celular à matriz celular (LIOTTA et al., 1991; WEIDNER, 1993; BRENTANI et al., 1998).

Os agentes quimioterápicos apresentam grandes problemas e um deles é a resistência a múltiplas drogas. Essa resistência pode ser classificada como primária e ocorre, quando o fármaco é administrado, pela primeira vez, ou adquirida, desenvolvendo, durante a quimioterapia, e pode ser resultante da adaptação celular ou de mutações (RANG et al., 1995). A natureza dos processos bioquímicos mediadores do fenômeno da resistência varia, de acordo com o tipo de quimioterápico em questão (PIZÃO e PINEDO, 1990).

Por estes motivos, um dos mecanismos mais estudados na atualidade é a "resistência múltipla" (MDR) (GOTTESMAN, 1993; LUM e GOSLAND, 1995). Portanto, quando as células tumorais são expostas a um único tipo de quimioterápico, essas tornam resistentes a quimioterápicos de natureza química diversa e apresentam mecanismos de ação completamente diferentes. Na maioria dos casos, este fenômeno pode ser explicado pela existência de uma glicoproteína de membrana celular, denominado P-glicoproteína (Pgp) (MARIE, 1995; LEIGHTON e GOLDSTEIN, 1995), que atua como uma bomba de efluxo, resultando em um decréscimo da concentração intracelular do quimioterápico, assim como de outras substâncias de ocorrência natural (KANE, et al., 1990 e DI PIETRO et al., 1999).

Porém, além da resistência múltipla e de alterações nos processos de biotransformação, outros mecanismos de resistência podem ser desenvolvidos pelas células tumorais. Entre eles, destacam-se o desenvolvimento de mecanismo de reparo do DNA (LEIGHTON e GOLDSTEIN, 1995), como a produção da proteína alquiltransferase O<sup>6</sup> (alquilguanina), a qual contribui para a resistência a nitrosuréia, triazina e agentes alquilantes (GERSON e WILLSON, 1995); alterações nas moléculas de topoisomerase II, que podem levar à resistência a antraciclinas e epipodofilotoxinas (BECK et al., 1987; EPSTEIN, 1988); aumento da produção de diidrofolato-redutase com a subsequente resistência ao metotrexato (SCHIMKE,

1984); aumento dos níveis de glutatona S-transferase, enzima com a função fisiológica de proteger as células de danos induzidos por radicais livres, levando à resistência a agentes alquilantes, cisplatina e antraciclina (MORROW e COWAN, 1990; O'DWYER et al., 1995); alterações na estrutura das tubulinas, levando a ao aumento da resistência aos compostos taxóides e aos alcalóides da *Vinca* (GOLDSTEIN e OZOLS, 1993) e aumento da expressão da timidilato-sintase, que pode resultar em resistência ao 5-fluorouracil (SCHIMKE, 1984).

As metodologias utilizadas no desenvolvimento de novos fármacos anti-tumorais vêm sendo extensamente aprimoradas, assim como as tecnologia para a otimização do efeito farmacológico dos fármacos já existentes, mas que têm seu uso limitado devido aos efeitos tóxicos severos. Na seqüência, passaremos a descrever as principais estratégias envolvendo a bionanotecnologia e outras tecnologias correlacionadas no sentido de aumentar a atividade terapêutica dos agentes anti-tumorais assim como de diminuir os efeitos colaterais de forma a tornar viável a utilização dos fármacos já existentes, principalmente os de administração intravenosa.

## 2. SISTEMAS BIOTECNOLÓGICOS

### **Emulsões e Microemulsões**

Emulsões são dispersões de um líquido no interior de outro, sendo que ambos são imiscíveis entre si. Essas dispersões (óleo em água ou água em óleo) são estabilizadas por emulsificantes, os quais formam um filme na interface óleo-água impedindo a coalescência das gotículas. Os agentes emulsivos reduzem a tensão interfacial ou criam uma repulsão física entre gotículas da fase interna (FLORENCE & ATTWOOD, 1998).

Emulsões são usualmente utilizadas como meio para administração de fármacos insolúveis em água, por dissolução da substância na fase oleosa de emulsões O/A (TARR, SAMBANDAN & YALOWSKI, 1987; STRICKLEY & ANDRESON, 1993) para prevenir hidrólise ou para a captura do fármaco por infusão (PRANKERD e STELLA, 1990).

É recomendado que emulsões destinadas à administração intravenosa tenha diâmetro da fase interna da ordem de submicron (FLOYD, 1999). Emulsões também podem ser usadas para direcionar fármacos. Emulsões com tamanho de gotículas da fase interna na faixa de 100-200nm, administradas por via endovenosa, usualmente são altamente capturadas no fígado (LEE, LEE & SHIM, 1995; LIU & LIU, 1995).

Fármacos emulsificados administrados por via endovenosa podem ser desviados do fígado, usando-se tensoativos polioxietileno como emulsificantes (LEE, LEE & SHIM, 1995; LIU & LIU, 1995). Esse procedimento prolonga a meia vida plasmática do fá-

maco, permitindo o direcionamento passivo para os pulmões, rins, e áreas de inflamação (LEE, LEE & SHIM, 1995). O direcionamento ativo pode ser conseguido conjugando-se anticorpos no final das cadeias dos emulsificantes de polioxietileno, proporcionando que a emulsão tenha gotículas submicrônicas (SONG & LIU, 1996) (Figura 1).



**Figura 1.** Emulsão contendo anticorpos ligados covalentemente à superfície e fármaco solubilizado nas gotículas da fase interna.

Microemulsões também apresentam grande potencial como veículos de liberação de fármacos, porque podem aumentar a solubilidade de fármacos pouco solúveis em meio aquoso, melhoram a absorção e aumentam a eficiência terapêutica. Cortesi e colaboradores, em 1997, utilizaram os sistemas microemulsionado para solubilizar a Camptotecina, um alcalóide citotóxico bastante utilizado no tratamento de paciente com câncer, em especial pulmão, ovário e mama.

A solubilidade desse fármaco é muito baixa, cerca de 1,3mg/ml. Isto causa sério inconveniente aos pacientes, uma vez que este medicamento só pode ser administrado, através de infusões contínuas ou múltiplas injeções diárias, o que resulta em vários efeitos adversos: neutropenia, trombocitopenia, anemia, alopecia, náusea, vômitos, diarreia e erupções cutâneas.

Os sistemas microemulsionados aumentaram consideravelmente a solubilidade da Camptotecina, pois esta chegou a 500mg/ml. Esse efeito, associado à maior penetração em membranas biológicas, pode contribuir para um aumento da absorção gastrointestinal dos alcalóides e então facilitar a administração oral (CORTESE & NASTRUZZI, 1999).

A partir das observações do aumento da expressão de receptores de lipoproteína de baixa densidade (LDL) em paciente com leucemia mielocítica aguda (LMA), com leucemia mielocítica crônica (HO,

et al., 1978 e VITOLS et al., 1984) e em células de linhagens neoplásicas como carcinoma epidermoide vaginal e cervical, adenocarcinoma endometrial (GAL et al., 1981), gioblastomas (MALESTINSKA et al., 2000) e melanoma B16 (VERSLIUS et al., 1996) quando comparadas às células mononucleares de indivíduos saudáveis e de linhagens celulares normais foi desenvolvida uma estratégia para o direcionamento específico de fármacos para os tecidos tumorais (MOSLEY et al., 1981).

A tecnologia baseada na utilização de partículas esféricas de (LDL), como transportador de fármacos anti-tumorais, também, demonstrou o prolongamento da meia vida plasmática de agentes antineoplásicos. Essa utilização está baseada nas características da LDL e do seu receptor, pois é capaz de transportar grandes quantidades de componentes lipofílicos que podem ter efeitos citotóxicos, além do que o fármaco, quando incorporado no sistema pode chegar em altas concentrações nos locais em que se encontram as células tumorais (SAMADI et al., 1993).

Sabe-se que a LDL é o maior carreador de colesterol no plasma humano. É uma partícula esférica, com aproximadamente 200Å de diâmetro, a qual apresenta, em seu interior, ésteres de colesterol circundados por uma monocamada de fosfolípido e colesterol livre. A apolipoproteína B-100 é a apoproteína estrutural da LDL. A LDL é removida da circulação pelos receptores celulares específicos, frequentemente chamados de receptores B e E, os quais usam a apo B-100 como ligante.

Depois da ligação com os receptores, a LDL é compartimentalizada e degradada nos lisossomos e o colesterol é usado em vários processos celulares, tais como síntese de esteróides e hormônios, além da síntese de membranas celulares. Defeitos nesses receptores ou na apo B-100 pode levar ao acúmulo de LDL no plasma (BROWN & GOLDSTEIN, 1981; MARANHÃO et al., 1994, 1997).

Halbert e colaboradores incorporaram agentes antineoplásicos lipossolúveis em sistemas microemulsionados, a partir da mistura de agente citotóxicos lipossolúveis com LDL's, as quais apresentam grande potencial de direcionamento de fármacos antineoplásicos, pelo fato de que as células, durante o processo de divisão celular, requerem grande quantidade de colesterol para síntese da membrana celular, resultando no aumento da expressão de receptores de LDLr. Quando os fármacos anti-tumorais são incorporados no sistema contendo LDL, estes irão liberar as citotoxinas para as células tumorais, produzindo um sistema de liberação específica de fármacos (HALBERT et al., 1984; BHARGAVA et al., 1987).

A LDL foi utilizada como transportador da doxorubicina AD-143, demonstrando que a captação do complexo LDL/doxo AD-143 ocorrer por interação com o receptor de LDL (MASQUELIER et al., 1986). Dessa forma, a incorporação de fármacos anti-tumo-

rais nas partículas de LDL pode aumentar o efeito do antineoplásico, reduzindo a toxicidade potencial do fármaco sobre as células normais (MARANHÃO et al., 1994).

Maranhão e colaboradores, em 1986, também, iniciaram estudos do metabolismo da LDL com a utilização de uma emulsão artificial semelhante a LDL. Essas emulsões são denominadas LDEs e apresentam estruturas semelhante à porção lipídica da LDL, e portanto, quando injetadas na corrente sanguínea, em contato com o plasma, essa adquire apolipoproteína (apo) E e utiliza essa como ligante para ligar nos receptores de LDL, comprovando a captação de LDE pelo LDLr (MARANHÃO et al., 1986; 1993; 1994; 1997; HIRATA et al., 1999).

Dados da literatura também demonstram a captação de LDE em pacientes portadores de leucemia mielocítica aguda (MARANHÃO et al., 1994) com carcinoma de mama e suas respectivas metástases, principalmente nos tecidos linfáticos e ósseos (GRAZIANI, 1995).

Estudos recentes demonstram que a incorporação da carmustina e paclitaxel em emulsões de LDE diminui os efeitos tóxicos (MARANHÃO et al., 2002). Já o paclitaxel apresentou-se estável, quando incorporado em emulsões de LDE, sua atividade citotóxica foi preservada e a toxicidade foi diminuída em ratos (RODRIGUES et al., 2002).

Em resumo, a literatura mostra que emulsões de LDE podem ser usadas como sistemas carreadores de fármacos na terapia do câncer, pois permitem a incorporação de fármacos hidrofóbicos que não são estruturalmente relacionados com lipídios, sendo estas veiculadas na estrutura interna da emulsão por irradiação de ultrassom (MARANHÃO et al., 1992).

### **Micelas poliméricas**

Copolímeros anfífilos de bloco, como os Pluronic (copolímeros de bloco de polioxietileno polooxipropileno) se auto-organizam em micelas poliméricas (Figura 2). Com o objetivo de liberação, o fármaco pode ser solubilizado no interior hidrofóbico das micelas (KABANOV et al., 1992; BATRAKOVA et al., 1996) ou, alternativamente, conjugado com o polímero formador das micelas (YOKAYAMA et al., 1990).

Entretanto, micelas são muito dinâmicas com relação à contínua troca das unidades de monômeros entre a estrutura da micela e as unidades livres em solução (FLORENCE & ATWOOD, 1998). Micelas de ácido poliaspártico são suficientemente estáveis no bloco para alterar a farmacocinética de fármacos solubilizados (KATAOKA et al., 1993), proporcionar períodos prolongados de circulação pelo organismo (KWON et al., 1993; 1994) e liberar concentrações maiores de fármaco no tecido tumoral quando comparado com a liberação do fármaco em solução (KWON et al., 1994).

A solubilização da doxorubicina e epirrubicina em micelas de Pluronic aumentou a atividade antitumoral destes fármacos (BATRAKOVA et al., 1996) e micelas formadas por copolímero de bloco a partir de ácido poli-aspártico-polioxi-etileno, ligando covalentemente a doxorubicina ao final da cadeia do ácido poli-aspártico reduz a toxicidade da doxorubicina *in vivo* (YOKAYAMA et al., 1990).

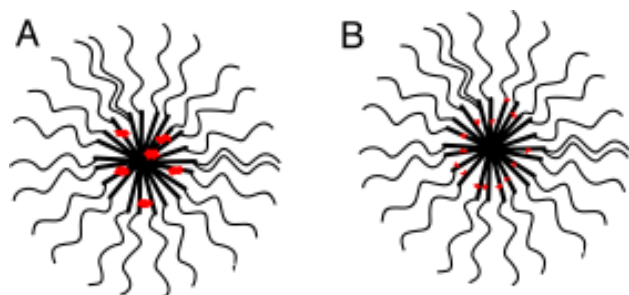


Figura 2. Micelas poliméricas. (A) fármaco solubilizado no centro hidrofóbico, (B) fármaco ligado covalentemente na cadeia do polímero.

### Lipossomas

Os efeitos colaterais tóxicos associados à administração de fármacos anticancerígenos fazem destas substâncias ideais candidatas para a tecnologia de direcionamento. Substâncias anticancerígenas têm sido encapsuladas em lipossomas (Figura 3) na tentativa de direcionar o fármaco para os tumores. O uso dos lipossomas com essa finalidade foi dificultado inicialmente pelo fato de que os lipossomas são rapidamente removidos da corrente circulatória e intensamente capturados no fígado pelos macrófagos (GREGORIADIS & RIYMAN, 1972).

Entretanto, duas descobertas permitiram que os lipossomas estruturas chegassem ao estágio clínico. A primeira deu-se, no final dos anos 80/início de 90, mostrando que a presença de ligantes na superfície dos lipossomas, como monosialogangliosídeos (GABIZON & PAPAHDJOPOULOS, 1992) ou polioxi-etileno (BLUME & CEVC, 1990; MARUYAMA et al., 1991) diminuía parcialmente a remoção dos lipossomas, prevenindo a captura no fígado e no baço, quando eles eram injetados via intravenosa (GABIZON & PAPAHDJOPOULOS, 1992; KLIVANOV et al., 1990).

A captura reduzida de lipossomas estéricamente impedidos, contendo cadeias de polietilenoglicol na superfície, é devida à redução da opsonização das estruturas pelas proteínas plasmáticas, tornando possível que eles escapem do reconhecimento pelo fígado e pelo baço (SENOIR, et al., 1991; ALLEN, 1994), o que proporciona maior tempo de circulação.

Além disso, a reduzida agregação dos lipossomas furtivos no sangue também é responsável pelo aumento do tempo de circulação (IGA et al., 1994; AHL et al., 1997). Lipossomas estericamente impedi-

dos possuem cerca de 100nm e são direcionados passivamente para tumores sólidos por extravasamento (HUANG et al., 1992) no interior do espaço extracelular na administração intravenosa. O extravasamento acontece, devido à desorganização vascular causada pelo tumor (BAISH et al., 1996).

Lipossomas comuns, preparados com fosfolípidios com alta temperatura de transição de fase, também, prolongam o tempo de circulação e acumulam no tumor, apesar da alta taxa de remoção pelo fígado (FORSSSEN, COULTER & PROFFITT, 1992). A segunda descoberta que facilitou a aplicação dos lipossomas como sistemas de liberação para fármacos anticancerígenos foi o desenvolvimento de um procedimento eficiente para a encapsulação da doxorubicina (HARAN et al., 1993). Os lipossomas tinham elevada taxa de encapsulação, reduzindo o nível de fosfolípido a ser administrado para ajustar a dose necessária.

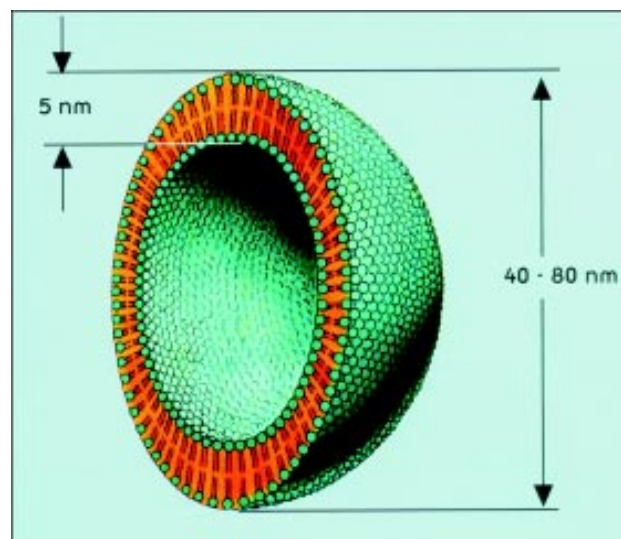


Figura 2. Estrutura de lipossoma unilamelar.

Lipossomas furtivos carregados com doxorubicina circulam por período de tempo prolongado (PAPAHDJOPOULOS et al., 1991; GABIZON et al., 1993) acumulam (PAPAHDJOPOULOS et al., 1991) e extravasam (YUAN, et al., 1994; HUANG et al., 1993) nos tecidos tumorais proporcionando a atividade antitumoral (WAAGE et al., 1992; WILLIAMS et al., 1993; GABIZON et al., 1996) em ratos. Em humanos, os lipossomas de doxorubicina acumulam no interior de sarcoma de Kaposi (LASIC & PAPAHDJOPOULOS, 1995) e produzem uma boa resposta terapêutica (LASIC & PAPAHDJOPOULOS, 1995; STURZL et al., 1994; BERGIN et al., 1995). O fato de que lipossomas comuns preparados com lipídios de alta temperatura de transição de fase, como a diestearoil fosfatidilcolina também acumulam no interior de tumores (FORSSSEN, COULTER & PROFFITT, 1992; FORSSSEN, 1997) serviram de base para o desenvolvimento do produto Daunoxome (FOX, 1995), o qual consiste de

lipossomas contendo daunorrubicina. O medicamento Daunoxome foi licenciado para tratamento de sarcoma de Kaposi.

Existem outros métodos para direcionar lipossomas contendo fármacos anticancerígenos, entre os quais podemos citar os imunolipossomas (AHMAD et al., 1993; HUWYLER et al., 1997), e os lipossomas termosensíveis (VANBREE et al., 1996; MARUYAMA et al., 1993). Os lipossomas termosensíveis liberam a substância ativa em temperaturas mais elevadas que a do organismo (MARUYAMA et al., 1993). A hipertermia local dos tecido tumoral por si só permite a atividade anti-tumoral com lipossomas termosensíveis de Daunorrubicina (VANBREE et al., 1996), assim como o uso em combinação com lipossomas termosensíveis (MARUYAMA et al., 1993). A hipertermia parece ajudar no extravasamento do fármaco (VANBREE et al., 1996).

A tecnologia para direcionar lipossomas para o baço (LIU, MORI & HUANG, 1991; LITZINGER & HUANG, 1992) e pulmões (ABRA, HUNT & LAU, 1984; NINO, YAMBOLIEV & KOCHEVA, 1994) foi desenvolvida para auxiliar na quimioterapia do câncer associado ao fenômeno da multidroga resistência (KRISMA & MAYER, 1997). O sucesso conseguido com as antraciclina, como agentes anticancerígenos, levou a uma procura mais intensa de fórmulas similares com outros agentes anticancerígenos e permitiu que um grande número de formulações chegasse ao estágio clínico.

As formulações de lipossomas incluem o 5-fluororacil (DOI et al., 1994), vincristina (TOKUDOME et al., 1996; MAYER et al., 1993; MAYER et al., 1995), um derivado da porfirina para uso em terapia fotodinâmica (OKU et al., 1997; bleomicina (FICHTNER et al., 1991), mitoxantrona (LIM et al., 1997) e o paclitaxel (HARMA et al., 1993). A quimioterapia do câncer utilizando lipossomas resultou em inúmeros produtos licenciados na última década embora a toxicidade para a pele ainda seja um problema para a clínica.

### **Niossomas**

Possuem a mesma estrutura que os lipossomas, mas são formulados com tensoativos não aniônicos e outros tensoativos sintéticos. O sucesso obtido com os lipossomas estimulou a procura de outros tipos de vesículas formadas por compostos anfífilos. Tensoativos não iônicos foram uma das primeiras alternativas de materiais estudados (IGA et al., 1994) e foi descoberto um grande número de compostos capazes de se auto-associar, formando bicamadas fechadas (AHL et al., 1997) (Figura 6) as quais são usadas para liberação de fármacos.

Niossomas contendo compostos anticancerígenos acumulam no interior de tumores de maneira similar aos lipossomas. De fato, a encapsulação do metotrexato (CHANDRAPRAKASH et al., 1993) e do

xorrubicina em niossomas (ROGERSON et al., 1988; UCHEGBU et al., 1995) aumenta a liberação do fármaco no tumor e a atividade anti-tumoral. Ao contrário dos lipossomas furtivos, niossomas de doxorubicina de 800nm de diâmetro, contendo um triglicerol (UCHEGBU et al., 1995) ou de 200nm contendo ácido murâmico na superfície (UCHEGBU et al., 1998) não são capturados significativamente pelo fígado. Entretanto, os niossomas contendo triglicerol acumulam no tumor (ROGERSON et al., 1988), enquanto que os de ácido murâmico acumulam no baço (UCHEGBU et al., 1998).

Por outro lado, niossomas de doxorubicina de 200nm com polioxietileno (peso molecular 1000) na superfície são rapidamente capturados no fígado (UCHEGBU et al., 1995) e acumulam em menor extensão no tumor. Parece óbvio que para sistemas coloidais administrados por via endovenosa, o tempo de permanência na corrente circulatória pode ser controlado por alterações químicas na superfície do sistema particulado.

A doxorubicina foi preparada conjugando-se o fármaco anticancerígeno com uma cadeia polimérica via espaçador enzimaticamente degradável (DUNCAN, 1992). A encapsulação desses pró-fármacos poliméricos em niossomas com cerca de 200nm proporcionou um sistema de depósito para o fígado, a partir do qual o fármaco ativo vai sendo obtido por clivagem e o nível de fármaco no fígado permanece por um período de mais de 24 horas (UCHEGBU & DUNCAN, 1997).

A atividade de outros anticancerígenos, como a vincristina, (PARTHASARATHI et al., 1994), bleomicina (NARESH & UDUPA, 1996) e plumbagina, um fitofármaco agente anticancerígeno (NARESH, UDUPA & DEVI, 1996), foram também melhorados, através da encapsulação em niossomas.

### **Nano- e Micropartículas**

As nano e micropartículas diferem estruturalmente dos lipossomas e niossomas, porque são preparadas, a partir de polímeros, gerando uma matriz sólida, ao invés de terem um compartimento aquoso central (Figura 3). Usualmente, são obtidas, através da precipitação de polímeros solubilizados em uma das fases de uma emulsão (SCHOLLES et al., 1993; SONG et al., 1997; KISSEL et al., 1996).

A incorporação do fármaco ocorre simultaneamente com a formação da partícula na presença de tensoativos na fase aquosa os quais podem ser usados para garantir as dimensões reduzidas das mesmas. Micropartículas também podem ser preparadas através da reticulação química de polímeros solúveis (CUMMINGS, ALLAN & SMYTH, 1994) e nanopartículas por polimerização interfacial de um monômero usando um solvente que dissolve bem o monômero, mas dissolve muito pouco o polímero formado (COU-

VREUR, DUBERNET & PUISIEUX, 1995) ou pelo efeito de homogeneização de alta pressão (MIZUSHIMA, 1996; MUHLEN, SCHWARZ & MEHNERT, 1998).

A incorporação de fármacos hidrossolúveis em matrizes poliméricas hidrofóbica é ainda difícil, mas pode ser aumentada, expandindo-se a força iônica do meio externo, adicionando-se sais inorgânicos (THOMPSON, ANDERSON & HEIMAN, 1997) a formação de pres iônicos lipofílicos em amins solúveis com ésteres monoalquilfosfato (CAVALLI, CAPUTO & GASCO, 1993), ou explorando-se a atração eletrostática entre amins básicas e grupo carboxilato do ácido poli-lático-co-glicólico (HEYTA et al., 1994).

A literatura mostra vários estudos dirigidos à obtenção de partículas biodegradáveis ou bioerodíveis. Ácido polilático, ácido poliglicólico (BRAN-NONPEPPAS, 1995), poli  $\beta$ -hidroxibutirato (COUVREUR, DUBERNET & PUISIEUX, 1995) e fibrina (SENDEROFF et al., 1991) são polímeros biodegradáveis usados na obtenção de partículas enquanto que os alquilcianoacrilatos (COUVREUR, DUBERNET & PUISIEUX, 1995) são polímeros bioerodíveis.

Essas nano-micropartículas sólidas podem ser usadas para prolongar o efeito de formulações parenterais ou obter direcionamento do fármaco. Desde que as partículas são dispersas injetadas, não existe um impacto significativo na biodistribuição e farmacodinâmica.

Devido ao seu tamanho reduzido, as nanopartículas podem ser facilmente administradas por via endovenosa e usadas para direcionar fármacos para um tecido ou órgão particular. Para facilitar o direcionamento para tecidos tumorais a presença de polioxietileno na superfície da partícula ajuda a evitar a ação do SER. Nanopartículas estericamente impedidas (furtivas ou invisíveis) (Figura 3) podem ser preparadas por revestimento com polioxietileno solúvel (LEROUX, et al., 1996) ou usando dialquil polioxietilenos e fosfolipídios (HODOSHIMA et al., 1997) para fazer as nanopartículas. A parte hidrofóbica das moléculas de tensoativos irão incorporar na matriz hidrofóbica da nanopartícula aumentando o acúmulo no tumor e a atividade anti-tumoral do fármaco anticancerígeno (LEROUX, et al., 1996; HODOSHIMA et al., 1997).

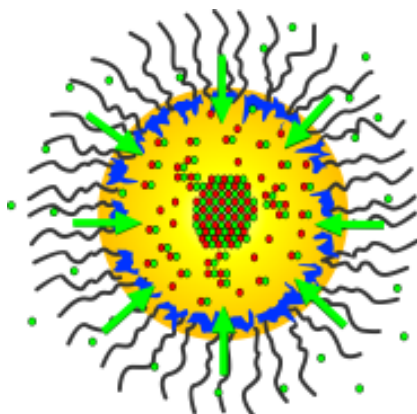


Figura 3. Nanopartículas estericamente impedidas (furtivas) formadas pela matriz polimérica contendo fármaco e cadeias de polioxietileno na superfície.

O acúmulo de nanopartículas furtivas de doxorubicina no interior de células de Kupffer no fígado pode ser usado para direcionar indiretamente o fármaco para neoplasias hepáticas (CHIANNIKUL-CHAI et al., 1990). Isso pode ser conseguido, promovendo-se um depósito de fármaco perto do tecido neoplásico.

As micropartículas são geralmente injetadas pelas vias intraperitoneal, intramuscular, subcutânea ou diretamente no órgão doente e, em razão de suas dimensões maiores (10-160 $\mu$ m), são somente usadas para uma liberação prolongada do fármaco. O fármaco é gradualmente liberado por erosão ou por difusão do interior das partículas. A velocidade de liberação pode ser aumentada, diminuindo-se o peso molecular do polímero (MORITERA et al., 1991; MEHTA et al., 1994) e o tamanho das partículas (MEHTA et al., 1994; SANCHEZ & ALONSO, 1995) e também pelo controle da natureza do polímero/copolímero (MORITERA et al., 1991; RIUZ & BENOIT, 1991).

A tecnologia dos sistemas microparticulados foi avaliada em tumores experimentais, mas a alta média de tamanho das partículas nessas formulações somente permite a administração algumas vias, limitando seu potencial. Micropartículas de resina de troca iônica contendo cloridrato de doxorubicina (CODDE et al., 1993) mostraram-se superiores ao fármaco livre, quando administradas através da artéria hepática. Aumento da atividade anti-tumoral também foi verificada em animais depois da administração intraperitoneal de micropartículas de quitosana contendo mitozantrona (JAMEELA et al., 1996) ou doxorubicina em micropartículas de ácido poli-lático (IKE et al., 1991). Micropartículas também foram administradas diretamente no interior dos tumores sólidos aumentando a atividade anti-tumoral do 5-fluorouracil (MENEI et al., 1996) e da doxorubicina (WILLMOTT & CUMMINGS, 1987).

### Pró-fármacos

O uso de pró-fármacos na quimioterapia do câncer como meio de direcionar fármacos relativamente tóxicos para áreas específicas do organismo tem sido extremamente estudados. Uma das tecnologias bastante estudadas consiste basicamente na administração intravenosa de um anticorpo-enzima conjugados localizado no tecido tumoral e subsequentemente ativar um pró-fármaco administrado predominantemente dentro do tumor (BAGSHAW ET AL., 1991) (*Antibody directed enzyme prodrug therapy-ADEPT*).

A ativação do pró-fármaco ocorre na superfície da célula ou no fluido extracelular em contraste com a tecnologia dos pró-fármacos poliméricos, nos quais a ativação do pró-fármaco ocorre no interior da célula (DUNCAN, 1992). O aparecimento do fá-

maco ativo, depois da administração anterior do conjugado anticorpo-enzima aos pacientes, confirma a viabilidade da tecnologia ADET (BAGSHAWE et al., 1991; MARTIN, et al., 1997). Para promover especificidade uma enzima bacteriana como a carboxipeptidase G2 pode ser usada para ativar o pró-fármaco (BAGSHAWE et al., 1991).

Entretanto, como as enzimas podem promover resposta imunológica (SHARMA, 1996), é necessária a administração de imunossupressores (BAGSHAWE et al., 1994). Outro método para reduzir a resposta imunológica pela enzima bacteriana é usar a carboxypeptidase A humana modificada. Infelizmente, essa enzima é instável *in vivo* e, então, há uma pequena redução do tumor, quando é usado um anticorpo conjugado com o pró-fármaco metotrexato (WOLFE, et al., 1999).

Para que o ADETP seja ativo clinicamente, o pró-fármaco deve ser atóxico e a enzima deve se localizar somente nos locais do tumor. Antígenos associados a tumores são raramente confinados apenas aos tecidos dos tumores (BAGSHAWE et al., 1994) e, então, alguma enzima presente nos tecidos normais é verificada na prática. Enzima não desejada pode ser removida dos tecidos não tumorais por administração de um anticorpo anti-enzima (BAGSHAWE et al., 1991).

Em pacientes, a administração intravenosa de um anticorpo-enzima conjugados seguida 36-48 horas depois pela administração intravenosa de uma dose de uma anti-enzima-anticorpo galactosilado, e, finalmente, pelo pró-fármaco ácido benzóico mostarda, resultou numa temporária regressão da doença avançada (BAGSHAWE et al., 1991). A anti-enzima-anticorpo galactosilado conjugado foi administrada para habilitar a remoção da enzima dos locais não tumorais via fígado foi administrado para tornar possível a remoção da enzima dos locais não tumorais via receptores de galactose do fígado (BAGSHAWE et al., 1991).

Infelizmente, a longa meia vida plasmática do fármaco ativo causa mielosupressão devido à migração do fármaco ativo do tumor para a medula óssea (BAGSHAWE et al., 1991). Em resumo, os princípios da tecnologia ADEPT foram estudados clinicamente, embora problemas como o imugenicidade da enzima não-humana e a longa meia vida do fármaco ativo ainda conduzem à seqüelas devido à toxicidade.

Outra tecnologia desenvolvida foi a liberação de um fármaco ativo, a partir de pró-fármacos poliméricos (**polymer drug conjugates**), a qual foi visualizada, há cerca de 25 anos (RINGSDORF, 1975), e envolve o uso de uma substância ativa e uma porção de direcionamento ambas ligadas por meio de espaçantes a uma cadeia polimérica hidrossolúvel (Figura 4).

Um grande número de fármacos poliméricos tem sido sintetizado para a quimioterapia do câncer.

Eles incluem pró-fármacos de daunorrubicina (HURWITZ, WILCHEK & PITHA, 1980), doxorrubicina (SEYMOUR et al., 1994), cisplatina (MAEDA et al., 1993), 5-fluorouracil (NICHIFOR, SCHAT & SEYMOUR, 1997), entre outros. Fármacos poliméricos acumulam seletivamente no interior dos tecidos tumorais (SEYMOUR et al., 1994; SINN et al., 1990) ligando através da vasculatura desorganizada de modo similar aos lipossomas.

A remoção do fármaco do tumor é retardada devido à pobre drenagem linfática. O acúmulo de fármaco polimérico no tumor parece ser devido aos efeitos de aumento de permeação e retenção (MATSUMARA & MAEDA, 1986). Na administração intravenosa, o pró-fármaco polimérico é capturado pelas células do tumorais e o fármaco ativo liberado no interior da célula (DUNCAN, 1992). Não está claro como o direcionamento passivo do fármaco polimérico para o tumor é influenciado pela natureza da cadeia do polímero.

Entretanto, o direcionamento passivo é expandido com o aumento do peso molecular do polímero (PIMM et al., 1996). A maioria das cadeias poliméricas exploradas são preparadas, a partir de materiais não biodegradáveis. Parece óbvio que polímeros biodegradáveis serão mais aceitáveis, mas é necessário assegurar que a biodegradação não impeça o acúmulo dos fármacos poliméricos nos tecidos tumorais.

O direcionamento passivo com pró-fármacos poliméricos aumenta a atividade anti-tumoral de substâncias anticancerígenas (SEYMOUR et al., 1994; MAEDA et al., 1993; SOYEZ, SEYMOUR & SCHACHT, 1999). A distribuição para os locais de potencial toxicidade, como a distribuição da doxorrubicina para os tecidos cardíacos, é também diminuída com os pró-fármacos poliméricos (SOYEZ, SEYMOUR & SCHACHT, 1999). O direcionamento da doxorrubicina, através de pró-fármacos poliméricos, evita os locais potencialmente tóxicos e aumenta significativamente a dose máxima de doxorrubicina tolerada pelos pacientes (YEUNG, 1999).



Figura 4. Modelo estrutural de pró-fármaco polimérico



Pró-fármacos poliméricos contendo direcionadores ativos como a galactose que direciona para os hepatócitos do fígado (SEYMOUR et al., 1991; HIRABAYASHI et al., 1996) e os anticorpos específicos para uma linhagem de células de carcinoma ovariano (OMELYANENKO et al., 1996) ligam às células do carcinoma ovariano.

Infelizmente, o conjugado galactose-fármaco-polímero não direciona com eficiência para carcinomas hepáticos, mas vai localizar-se preferencialmente nos tecidos normais do fígado de rato e de humanos (PIMM et al., 1996). Parece evidente que os receptores de galactose não são suficientemente seletivos para o tecido tumoral. Em resumo, os fármacos poliméricos tiveram um bom progresso, partindo de um elegante conceito científico para a clínica e pode resultar em novas formas terapêuticas de uso na rotina.

### 3. CONCLUSÕES

Na última década, houve um aumento extraordinário no número de tecnologias viáveis para o controle da biodistribuição de fármacos. Esse aspecto foi explorado, visando à obtenção de sistemas particulados sólidos ou sistemas menos organizados, como os lipossomas e as emulsões/microemulsões. Sistemas de direcionamento passivo com acúmulo em determinada região de anatomia ou patologia específicas puderam ser desenvolvidos, devido às propriedades intrínsecas dos materiais ou dos próprios sistemas.

Os sistemas direcionadores ativos, nos quais ligantes ou anticorpos direcionadores permitem que materiais sejam direcionados para locais específicos do organismo, também, estão sendo estudados. As tecnologias de liberação, como as que estão discutidas neste trabalho, podem ser usadas para prolongar as meias vidas de substâncias e, mais importante, controlar a liberação de fármacos na corrente circulatória. Alguns dos novos sistemas, como os lipossomas de doxo- e daunorrubicina, estão sendo usados correntemente na clínica médica. Adicionalmente, outros sistemas como os de fármacos poliméricos e, possivelmente, os sistemas ADEPT possuem enorme potencial de serem transformados em produtos comerciais.

### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRA R.M., HUNT C.A., LAU D.T. Liposome disposition in vivo VI: delivery to the lung. *J. Pharm. Sci.* v.73, p.203-6, 1984.

AHL P.L., BHATIA S.K., MEERS P., ROBERTS P., STEVENS R., DAUSE R. Enhancement of the in vivo circulation lifetime of L-alpha-distearoylphosphatidylcholine liposomes: importance of liposomal aggregation versus complement opsonization. *Biochim. Biophys. Acta* v.1329, p.370-82, 1997.

AHMAD I., LONGENECKER M., SAMUEL J., ALLEN T.M. Antibody-targeted delivery of doxorubicin entrapped in sterically stabilized liposomes can eradicate lung-cancer in mice. *Cancer Res.* v.53, p.1484-8, 1993.

ALLEN T.M. Long-circulating (sterically stabilized) liposomes for targeted drug-delivery. *TI/Pharmacol. Sci.* v.15, p.215-20, 1994.

AUGUSTIN M.C. Antiangiogenic tumor therapy: will it work? *Trends. Pharmacol. Sci.* v.19, n.6, p.216-222, 1998.

BAGSHAW K.D., SHARMA S.K., SPRINGER C.J., ROGERS G.T. Antibody-directed enzyme prodrug therapy (ADEPT) — review. *Ann. Oncol.* v.5, p.879-91, 1994.

BAGSHAW K.D., SHARMA S.K., SPRINGER C.J., ANTONIWI P., BODEN J.A., ROGERS G.T. Antibody directed enzyme prodrug therapy (ADEPT) — clinical report. *Dis. Markers* v.9, p.233-8, 1991.

BAGSHAW K.D., SHARMA S.K., SPRINGER C.J., ANTONIWI P., ROGERS G.T., BURKE P.J. Antibody-enzyme conjugates can generate cytotoxic drugs from inactive precursors at tumor sites. *Antibod. Immunoconj. Radiopharm.* v.4, p.915-22, 1991.

BAISH J.W., GAZIT Y., BERK D.A., NOZUE M., BAXTER L.T., JAIN R.K. Role of tumor vascular architecture in nutrient and drug-delivery. *Microvasc. Res.* v.51, p.327-46, 1996.

BATRAKOVA E.V., DORODNYCH T.Y., KLINSKII E.Y., KLIUSHNENKOVA E.N., SHEMCHUKOVA O.B., GONCHAROVA O.N. Anthracycline antibiotics non-covalently incorporated into the block copolymer micelles: In vivo evaluation of anti-cancer activity. *Br. J. Cancer* v.74, p.1545-52, 1996.

BECK M., CURTAIN M.C., DANKS M.K. Pharmacological, molecular and cytogenetic analysis of atypical multidrug resistant human leukemic cells. *Cancer Research* v.47, p.5455, 1987.

BERGIN C., O'LEARY A., MCCREARY C., SABRA K., MULCAHY F. Treatment of Kaposi's sarcoma with liposomal doxorubicin. *Am. J. Health-Syst. Pharm.* v.52, p.2001-4, 1995.

BHARGAVA H.N., NARURKAR A., LIEB L.M. Using microemulsions for drug delivery. *Pharmac. Technol.*, v.3, p.46-54, 1987.

BLUME G., CEVC G. Liposomes for sustained drug release in vivo. *Biochim. Biophys. Acta* v.1029, p.91-7, 1990.

BONADONNA, G.. Does chemotherapy fulfill its expectations in cancer treatment. *Ann. Oncol.* v.1, p.11-21, 1990.

BOUCK N. Tumor angiogenesis: the role of oncogenes and tumor suppressor genes. *Cancer Cells* v.2, n.6, p.179-185, 1990.

BRANNONPEPPAS L. Recent advances on the use of biodegradable microparticles and nanoparticles in controlled drug-delivery. *Int. J. Pharm.* v.116, p.1-9, 1995.

BRETANI R.R. Carcinogênese Química. In: BRETANI M.M., COELHO, F.R.G., IYAYASU, H., KOWALSHI, L.P. Bases da Oncologia. São Paulo, livraria e Editora Marina, 1998. p.157-172.

BRETANI R.R., CHAMMAS R., COELHO F.R.G. Mecanismos de Invasão e Metástase. In: BRETANI, M.M., COELHO, F.R.G., IYAYASU, H., KOWALSHI, L.P. Bases da Oncologia. São Paulo, livraria e Editora Marina, 1998. p.91-98.

BROWN M.S., GOLDSTEIN J.L. Scavenging for receptors. *Nature* v.343, p.508-509, 1990.

- CAVALLI R., CAPUTO O. GASCO M.R. Solid lipospheres of doxorubicin and idarubicin. *Int. J. Pharm.* v.89, p.R9-12, 1993.
- CHANDRAPRAKASH K.S., UDUPA N., DEVI P.U., PILLAI G.K. Effect of niosome encapsulation of methotrexate, macrophage activation on tissue distribution of methotrexate and tumour size. *Drug Delivery* v.1, p.133-7, 1993.
- CHIANNIKULCHAI N., AMMOURY N., CAILLOU B., DEVISAGUET J.P., COUVREUR P. Hepatic tissue distribution of doxorubicin-loaded nanoparticles after IV administration in reticulosarcoma M5076 metastasis-bearing mice. *Cancer Chemother. Pharmacol.* v.26, p.122-6, 1990.
- CHMPBELL G.A. Carcinogens. Disponível em: <http://aeb.cvm.okstate.edu/vmed5264/carcinogens.htm>. Acesso em: 18, Out., 2003
- CHMPBELL G.A. Invasion and metastasis. Disponível em: [http://aeb.cvm.okstate.edu/vmed5264/invasion\\_and\\_metastasis.htm](http://aeb.cvm.okstate.edu/vmed5264/invasion_and_metastasis.htm). Acesso em: 18, out., 2003.
- CHMPBELL G.A. Molecular basis of neoplasia. Disponível em: [http://aeb.cvm.okstate.edu/vmed5264/molecular\\_basis\\_of\\_neoplasia.htm](http://aeb.cvm.okstate.edu/vmed5264/molecular_basis_of_neoplasia.htm). Acesso em: 18 Out. 18, 2003.
- CODDE J.P., LUMSDEN A.J., NAPOLI S., BURTON M.A., GRAY B.N. A comparative-study of the anticancer efficacy of doxorubicin carrying microspheres and liposomes using a rat-liver tumor-model. *Anticancer Res.* v.13, p.539-43, 1993.
- COELHO F.R.G. Controle do Câncer. In: BRETANI, MM, COELHO, FRG, IYAYASU, H., KOWALSHI, LP. *Bases da Oncologia*. São Paulo:Marina, 1998. p.1-25.
- CORREA M.A. Incorporação de naproxeno em sistema microemulsionado: liberação *in vitro* e avaliação biológica. 1996. Dissertação (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.
- CORTESI R., ESPOSITO E., MAIETTI A., MENEGATTI E.; NASTRUZZI C. Formulation study for the antitumor drugs camptothecin: Liposomes, micellar solution and a microemulsion. *Int. J. Pharm.* v.159, p.95-103, 1997.
- CORTESI R., NASTRUZZI C. Liposomes, micelles and microemulsion as new delivery systems for cytotoxic alkaloids. *Reviews-Research Focus* v.2, n.7, p.288-298, 1999.
- COUVREUR P., DUBERNET C., PUISIEUX F. Controlled drug-delivery with nanoparticles — current possibilities and future-trends. *Eu. J. Pharm. Biopharm.* v.41, p.2-13, 1995.
- CUMMINGS J., ALLAN L., SMYTH J.F. Encapsulation of mitomycin-C in albumin microspheres markedly alters pharmacokinetics, drug quinone reduction in tumor-tissue and antitumor-activity — implications for the drug's in-vivo mechanism of action. *Biochem. Pharmacol.* v.47, p.1345-56, 1994.
- DOI K., OKU N., TOYOTA T., SHUTO S., SAKAI A., ITOH H. Therapeutic effect of reticuloendothelial system (RES)-avoiding liposomes containing a phospholipid analog of 5-fluorouracil, dipalmitoylphosphatidylfluorouridine, in Meth-A sarcoma-bearing mice. *Biol. Pharm. Bull.* v.17, p.1414-6, 1994.
- DUNCAN R. Drug polymer conjugates — potential for improved chemotherapy. *Anti-Cancer Drugs* v.3, p.175-210, 1992.
- ELLIS L.M., FILDER I.J. Angiogenesis and metastasis. *Eur. J. Cancer* v.32, n.14, p.2451-2460, 1996.
- EPSTEIN R.J. Topoisomerases in human disease. *Lancet* v.1, p.826, 1988.
- FICHTNER I., ARNDT D., RESKA R., GENS J. Pharmacokinetic behaviour of [57CO]bleomycin liposomes in mice: comparison with the unencapsulated substance. *Anti-Cancer Drug* v.2, p.555-63, 1991.
- FLORENCE A.T., ATTWOOD D. *Physicochemical principles of pharmacy*. 3ed. Hampshire: Macmillan Press, 1998.
- FLOYD A.G. Top ten considerations in the development of parenteral emulsions. *PSTT* v.2, p.134-43, 1999.
- FOLKMAN J., COTRAN R. Relation of vascular proliferation to tumor growth. *Advances in Cancer Research*, v.19, p. 207-248, 1976.
- FOLKMAN J., SHING Y. Angiogenesis. *J. Biol. Chem.* v.246, n.5, p.10931-10934, 1992.
- FORSSEN E.A. The design and development of DaunoXome for solid tumor targeting in vivo. *Adv. Drug Del. Rev.* v.24, p.133-50, 1997.
- FORSSEN E.A., COULTER D.M., PROFFITT R.T. Selective in vivo localization of daunorubicin small unilamellar vesicles in solid tumors. *Cancer Res.* v.52, p.3255-61, 1992.
- FOX J.L. FDA advisers okay NeXstars DaunoXome. *Bio-Technology* v.13, p.635-6, 1995.
- FURCHT L.T. Critical factors controlling angiogenesis: Cell products, cell matrix, and growth factors. *Laboratory Investigation* v.55, n.5, p.505-509, 1986.
- GABIZON A., BARENHOLZ Y., BIALER M. Prolongation of the circulation time of doxorubicin encapsulated in liposomes containing a polyethylene glycol-derivatized phospholipid: pharmacokinetic studies in rodents and dogs. *Pharm. Res.* v.10, p.703-8, 1993.
- GABIZON A., CHEMLA M., TZEMACH D., HOROWITZ A.T., GOREN D. Liposome longevity and stability in circulation: Effects on the in vivo delivery to tumors and therapeutic efficacy of encapsulated anthracyclines. *J. Drug Target* v.3, p.391-8, 1996.
- GABIZON A., PAPAHAJDOPOULOS D. The role of surface-charge and hydrophilic groups on liposome clearance in vivo. *Biochim. Biophys. Acta* v.1103, p.94-100, 1992.
- GAL D., MACDONALD P.C., PORTER J.C., SMITH J.W., SIMPSON E.R. Effect of cell density and confluency on cholesterol metabolism in cancer cells in monolayer culture. *Cancer. Res.* v.41, p.473-477, 1981.
- GERSON S.L., WILSON K.V. O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase. A target for the modulation of drug resistance. *Drug Resistance Clin. Oncol. Hemaotol.* v.9, n.2, p.431-449, 1995.
- GOLDSTEIN L.J., OZOLS R.F. Drug resistance: mechanisms and clinical application. In: *Handbook of chemotherapy in clinical oncology*. Eds. ARMAND J.P., CVIKOVIC E., DROZ J.P., HOURY S.K. New Jersey:SCI, 1993.
- GOTTESMAN M.M. How cancer cells evade chemotherapy: Sisteeth Ricard and Hinda Rosenthal Foundation Award Lecture. *Cancer Res.* v.53, p.747-754, 1993.
- GRAZIANI S.R. Captação de uma microemulsão lipídica semelhante à lipoproteína de baixa densidade (LDL) pelo carcinoma de mama. 1995. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

- GREGORIADIS G., RYMAN B. Fate of protein containing liposomes injected into rats. *Eur. J. Biochem.* v.24, p.485-91, 1972.
- HACKFORD A.W. Biochemical markers for colorectal cancer. Diagnostic and therapeutic implications. *Surg. Clin. North Am.*, v.73, n.1, p.85-102, 1993.
- HALBERT G.W., STUART J.F.B., FLORENCE A.T. The incorporation of lipide-soluble antineoplastic agents into microemulsions-protein-free analogues of low-density lipoprotein. *Int. J. Pharm.*, v.21, p.219-232, 1984.
- HARAN G., COHEN R., BAR LK, BARENHOLZ Y. Transmembrane ammonium sulphate gradients in liposomes produce efficient and stable entrapment of amphipathic weak bases. *Biochim. Biophys. Acta* v.1151, p.201-15, 1993.
- HEYA T., MIKURA Y., NAGAI A, MIURA Y. FUTO T., TOMIDA Y. Controlled release of thyrotropin releasing hormone from microspheres: evaluation of release profiles and pharmacokinetics after subcutaneous administration. *J. Pharm. Sci.* v.83, p.798-801, 1994.
- HIRABAYASHI H., NISHIKAWA M., TAKAKURA Y., HASHIDA M. Development and pharmacokinetics of galactosylated poly-L-glutamic acid as a biodegradable carrier for liver-specific drug delivery. *Pharm. Res.* v.13, p.880-4, 1996.
- HIRATA D.C.R., HIRATA H.M., MESQUITA H.C., CESAR B.C., MARANHÃO C.R. Effects of apolipoprotein B-100 on the metabolism of a lipid microemulsion model in rats. *Biochem. Biophys. Acta*, v.1437, p.53-62, 1999.
- HO Y.K., SMITH R.G., BROWN M.S., GOLDSTEIN J.L. Low-density lipoprotein (LDL) receptor activity in human acute myelogenous leukemia cells. *Blood*, v.52, p.1099-1104, 1978.
- HODOSHIMA N., UDAGAWA C., ANDO T., FUKUYASU H. WATANABE H., NAKABAYASHI S. Lipid nanoparticles for delivering antitumor drugs. *Int. J. Pharm.* v.146, p.81-92, 1997.
- HUANG S.K., LEE K-D., HONG K., FRIEND D.S., Papahadjopoulos D. Microscopic localization of sterically stabilized liposomes in colon carcinoma-bearing mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v.52, p.5135-43, 1992.
- HUANG S.K., MARTIN F.J., JAY G., VOGEL J., Papahadjopoulos D, Friend DS. Extravasation and transcytosis of liposomes in Kaposi's sarcoma-like dermal lesions of transgenic mice bearing the HIV tat gene. *Am. J. Pathol.* v.43, p.10-14, 1993.
- HURWITZ E., WILCHEK M., PITHA J. Soluble macromolecules as carriers of daunorubicin. *J. Appl. Biochem.* v.2, p.25-30, 1980.
- HUWYLER J., YANG J., PARDRIDGE W.M. Receptor mediated delivery of daunomycin using immunoliposomes: Pharmacokinetics and tissue distribution in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* v.282, p.1541-6, 1997.
- IGA K., OHKOUCHI K., OGAWA Y., TOGUCHI H. Membrane modification by negatively charged stearyl polyoxyethylene derivatives for thermosensitive liposomes: reduced liposomal aggregation and avoidance of reticuloendothelial system uptake. *J. Drug Target* v.2, p.259-67, 1994.
- IKE O., SHIMIZU Y., IKADA Y. WATANABE S., NATSUME T., WADA R. Biodegradation and antitumor effect of adriamycin-containing poly(L-lactic acid) microspheres. *Biomaterials* v.12, p.757-62, 1991.
- JAMEELA S.R., LATHA P.G., SUBRAMONIAM A., JAYAKRISHNAN A. Antitumor activity of mitoxantrone-loaded chitosan microspheres against Ehrlich ascites carcinoma. *J. Pharm. Pharmacol.* v.48, p.685-8, 1996.
- KABANOV A.V., BATRAKOVA E.V., MELIK-NUBAROV N.S., FEDOSEEV N.A., DORODNICH Y., ALAKHOV V.Y. A new class of drug carriers; micelles of poly(oxyethylene)-poly(oxypropylene) block copolymers as microcontainers for drug targeting from blood in brain. *J. Control. Rel.* v.22, p.141-58, 1992.
- KANE S.E., PASTAN I., GOTTESMAN M.M. Genetic basis of multidrug resistance of tumor cells. *Bioenergetics and Biomembranes*, v.22, p.1593-596, 1990.
- KATAOKA K., KWON G.S., YOKOYAMA M., OKANO T., SAKURAI Y. Block copolymer micelles as vehicles for drug delivery. *J. Contr. Rel.* v.24, p.119-32, 1993.
- KERR D.J., SEYMOUR L.W., BOIVIN C., JULYAN P., DORAN J., DAVID M. Phase I clinical trial of HPMA copolymers bearing doxorubicin and galactosamine. 3rd international symposium on polymer therapeutics, London, 1998.
- KESSLER J. Neoplasia I-Introduction to neoplasia. Disponível em: <http://moose.uvm.edu/~jkessler/PATH301/301neopl.htm> Acesso em: 18 Out., 2003.
- KISSEL T., LI YX., VOLLAND C., GORICH S., KONEBERG R. Parenteral protein delivery systems using biodegradable polyesters of ABA block structure, containing hydrophobic poly(lactide-co-glycolide) A blocks and hydrophilic poly(ethylene oxide) B blocks. *J. Control. Rel.* v.39, p.315-26, 1996.
- KLIBANOV A.L., MARUYAMA K., TORCHILIN V.P., HUANG L. Amphipathic polyethyleneglycols effectively prolong the circulation time of liposomes. *FEBS Lett.* v.268, p.235-7, 1990.
- KLIGERMAN J. Estimativa sobre a Incidência e Mortalidade por Câncer no Brasil-2000. *Rev. Bras. Canc.*, v.46, n.2, p.135-136, 2000.
- KREUTER J. Nanoparticle-based drug delivery systems. *J. Control. Rel.* v.16, p.169-76, 1991.
- KRISHNA R., MAYER L.D. Liposomal doxorubicin circumvents PSC 833-free drug interactions, resulting in effective therapy of multidrug-resistant solid tumors. *Cancer Res.* v.57, p.5246-53, 1997.
- KWON G., SUWA S., YOKOYAMA M., OKANO T. SAKURAI Y. KATAOKA K. Enhanced tumor accumulation and prolonged circulation times of micelle-forming poly(ethylene oxide-aspartate) block copolymer-adriamycin conjugates. *J. Control. Rel.* v.29, p.17-23, 1994.
- KWON G.S., YOKOYAMA M., OKANO T., SAKURAI Y., KATAOKA K. Biodistribution of micelle-forming polymer drug conjugates. *Pharm. Res.* v.10, p.970-4, 1993.
- LASIC D., PAPAHDADJOPOULOS D. Liposomes revisited. *Science* v.267, p.1275-6, 1995.
- LEE M.J., LEE M.H., SHIM C.K. Inverse targeting of drugs to reticuloendothelial system-rich organs by lipid microemulsion emulsified with Poloxamer-338. *Int. J. Pharm.* v.113, p.175-87, 1995.
- LEIGHTON J.C., GOLSTEIN, L.J. P-glycoprotein in adult solid tumors. Expression and prognostic significance. *Drug Resistance Clin. Oncol. Hemaotol.*, v.9, n.2, p.251-273, 1995.
- LEROUX J.C., ALLEMANN E., DEJAEGHERE F., DOELKER E. GURNY R. Biodegradable nanoparticles — From

- sustained release formulations to improved site specific drug delivery. *J. Control. Rel.* v.39, p.339-50, 1996.
- LIM H.J., MASIN D., MADDEN T.D., BALLY M.B.. Influence of drug release characteristics on the therapeutic activity of liposomal mitoxantrone. *J. Pharmacol. Exper. Therap.* v.281, p.566-73, 1997.
- LIOTTA L.A. STEEG P.S., STETLER-STEVENSON W.G.. Cancer metastasis and angiogenesis: na imbalance of positive and negative regulation. *Cells* v. 64, p.327-336, 1991.
- LITZINGER D.C., HUANG L. Amphipathic poly(ethylene glycol) 5000-stabilized dioleoylphosphatidylethanolamine liposomes accumulate in spleen. *Biochim. Biophys. Acta* v.1127, p.249-254, 1992.
- LIU D.X., MORI A., HUANG L. Large liposomes containing ganglioside GM1 accumulate effectively in spleen. *Biochim. Biophys. Acta* v.1066, p.159-165, 1991.
- LIU F., LIU D. Long circulating emulsions (oil-in-water) as carriers for lipophilic drugs, *Pharm. Res.* v.12, p.1060-4, 1995.
- LUM B.L., GOSLAND M.P. MDR expression in normal tissues. Pharmacological implications for the clinical use of P-glycoprotein inhibitors. *Drug Resistance Clin. Oncol. Hemaotol.* v.9, p.319-335, 1995.
- MAEDA M., TAKASUKA N., SUGA T. UEHARA N., HOSHI A. Antitumor-activity of a new series of platinum complexes — trans(+/-)-1,2-cyclohexanediammineplatinum (II) conjugated to acid polysaccharides. *Anti-Cancer Drugs* v4, p.167-71, 1993.
- MALETINSKA L., BLAKELY E.A; BJORNST A.D., DEEN D.F., KNOFF J., FORTE T.M. Human glioblastoma cell lines: levels of low-density lipoprotein receptor and low-density lipoprotein receptor-related protein. *Cancer Res.* v.60, p.2300-2303, 2000.
- MANS D.R.; ROCHA A.B.; SCHWARTSMANN G. Anti-cancer drug discovery and development in Brazil: targeted plant collection as a rational strategy to acquire candidate anti-cancer compounds. *Oncologist*, v. 5, p.185-198, 2000.
- MARANHÃO R.C., CESAR T.B., PEDROSO-MARIANI S.R., HIRATA M.H., MESQUITA, C.H. Metabolic behaviour in rats of a nonprotein microemulsion resembling low density lipoprotein. *Lipids* v.28, p.691-696, 1993.
- MARANHÃO R.C., GARICOCHEA B., SILVA E.L., LLACER P.D., PILEGGI F.J.C., CHAMONE DAF. Increased plasma removal of microemulsions resembling the lipid phase of low-density lipoproteins (LDL) in patients with acute myeloid leukemia: a possible new strategy for treatment of the disease. *Braz. J. Med. Biol. Res.* v.25, p.1033-1037, 1992.
- MARANHÃO R.C., GARICOCHEA B., SILVA E.L., LLACER-DORLHAC P., CADENA S.M.S., COELHO I.J.C., MENEGHETTI J.C., PILEGGI F.J.C., CHAMONE DAF. Plasma Kinetics and Biodistribution of a Lipid Emulsion Resembling Low-Density Lipoprotein in Patients with Acute Leukemia. *Cancer Res.* v.54, p.4660-4666, 1994.
- MARANHÃO R.C., GRAZIANI S.R., YAMAGUCHI N., MELO R.F., LATRILHA M.C., RODRIGUES D.G., COUTO R.D., SCHREIER S., BUZAID A.C. Association of carmustine with a lipid emulsion: in vitro, in vivo and preliminary studies in cancer patients. *Cancer Chemoter. Pharmacol.* v.49, p.487-498, 2002.
- MARANHÃO R.C., ROLAND Y., RAMIURES J., TOFFOLETTO GANÇALVES R.P., MESQUITA C.H., PILEGGI F. Plasma kinetic behavior in hyperlipidemic subjects as a lipidic microemulsion that binds to LDL receptors. *Lipids* v.32, p.627-633, 1997.
- MARANHÃO R.C.; TERYAC A.M.; REDGRAVE T.G. Effects of cholesterol content on metabolism of protein-free emulsions models of lipoprotein. *Biochem. Biophys. Acta* v.875, p.247-255, 1986.
- MARIE J.P. P-glycoprotein in adult hematology malignancies. *Drug Resistance Clin. Oncol. Hemaotol.* v. 9, n. 2, p. 239-249, 1995.
- MARTIN J., STRIBBLING S.M., POON G.K., BEGENT R.H.J., NAPIER M., SHARMA S.K. Antibody-directed enzyme prodrug therapy: Pharmacokinetics and plasma levels of prodrug and drug in a phase I clinical trial. *Cancer Chemoter. Pharmacol.* v.40, p.189-201, 1997.
- MARUYAMA K., UNEZAKI S., TAKAHASHI N., IWATSURU M. Enhanced delivery of doxorubicin to tumor by long-circulating thermosensitive liposomes and local hyperthermia. *Biochim. Biophys. Acta* v.1149, p.209-16, 1993.
- MARUYAMA K., YUDA T., OKAMOTO A., ISHIKURA C., KOJIMA S., IWATSURU M. Effect of molecular weight in amphipathic polyethylene glycol on prolonging circulation time of large unilamellar liposomes. *Chem. Pharm. Bull.* v.39, p.1620-2, 1991.
- MASQUELIER M., VITOLS S., PETERSONC. Low-density lipoprotein as a carrier of antitumoral drugs: *in vivo* fate of drug-human low-density lipoprotein complexes in mice. *Cancer Res.*, v. 46, p. 3842-3847, 1986.
- MATSUMARA Y., MAEDA H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer therapy; mechanism of tumorigenic accumulation of proteins and the antitumour agent SMANCS. *Cancer. Res.* v.46, p.6387-92, 1986.
- MAYER L.D., MASIN D., NAYAR R., BOMAN N.L., BALLY M.B. Pharmacology of liposomal vincristine in mice bearing L1210 ascitic and B16/F10 solid tumors. *Br. J. Cancer* v.71, p.482-8, 1995.
- MAYER L.D., NAYER R., THIES R.L., BOWMAN N.L., CULLIS P.R., BALLY M.B. Identification of vesicle properties that enhance the antitumour activity of liposomal vincristine against murine L1210 leukemia. *Cancer Chemoter. Pharmacol.* v.33, p.17-24, 1993.
- MCKINNELL R. Cancer Genetics. In: MCKINNELL, R.G., PARCHMENT, R.E., PERANTONI, A.O., PIERCE, G.B. *The Biological Basis of Cancer*. Cambridge: University Press, 1998, p.115-133.
- MCKINNELL R. Metastasis. In MCKINNELL, RG, PARCHMENT, RE, PERANTONI, AO, PIERCE, GB. *The Biological Basis of Cancer*. Cambridge, Cambridge University Press, 1998, cap 2, p. 50-79.
- MEHTA R.C., JEYANTHI R., CALIS S., THANOO B.C., BURTON K.W., DELUCA P.P. Biodegradable microspheres as depot system for parenteral delivery of peptide drugs. *J. Control. Rel.* v.29, p.375-84, 1994.
- MELLORS R.C. Neoplasia. Disponível em: <http://edcenter.med.cornell.edu/CUMCPathNotes/Neoplasia/Neoplasia03.html>. Acesso em: 15 Out., 2003.
- MENI P, BOISDRONCELLE M., CROUE A., GUY G. BENOIT J.P. Effect of stereotactic implantation of biodegradable 5-fluorouracil-loaded microspheres in healthy and C6 glioma-bearing rats. *Neurosurgery* v.39, p.117-23, 1996.

- MIZUSHIMA Y. Lipid microspheres (lipid emulsions) as a drug carrier — An overview, *Adv. Drug Del. Rev.* v.20, p.113-5, 1996.
- MOREIN B., VILLACRÉS-ERIKSSON M., LÖVGREN-BENGTSSON K. ISCOM, a delivery system for parenteral and mucosal vaccination. *Develop. Biol. Standard* v.92, p.33-9, 1998.
- MORITERA T., OGURA Y., HONDA Y., WADA R., HYON S.H., IKADA Y. Microspheres of biodegradable polymers as a drug-delivery system in the vitreous. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* v.32, p.1785-90, 1991.
- MORROW C.S., COWAN K.H. Glutathione S-transferase and drug resistance. *Cancer Cells*, v.2, p.15-22, 1990.
- MOSLEY S.T., GOLDSTEIN J.L., BROWN M.S., FALCK J.R., ANDERSON R.G. Targeted killing of cultured cells by receptor-dependent photosensitization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v.78, p.5717-5721, 1981.
- MÜHLEN A.Z., SCHWARZ C., MEHNERT W. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery — drug release and release mechanism. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* v.45, p.149-55, 1998.
- NARESH R.A.R., UDUPA N. Niosome encapsulated bleomycin. *STP Pharm. Sci.* v.6, p.61-71, 1996.
- NARESH R.A.R., UDUPA N., DEVI P.U. Niosomal plumbagin with reduced toxicity and improved anticancer activity in Balb/C mice. *J. Pharm. Pharmacol.* v.48, p.1128-32, 1996.
- NICHIFOR M., SCHACHT E.H., SEYMOUR L.W. Polymeric prodrugs of 5-fluorouracil. *J. Control. Rel.* v.48, p.165-78, 1997.
- NINIO S., YAMBOLIEV I., KOICHEVA S. High lung uptake of <sup>99m</sup>Tc-multilamellar liposomes after intravenous administration in rats and rabbits. *Pharmazie* v.49, p.353-6, 1994.
- OKU N., SAITO N., NAMBA Y., TSUKADA H., DOLPHIN D., OKADA S. Application of long-circulating liposomes to cancer photodynamic therapy. *Biol. Pharm. Bull.* v.20, p.670-3, 1997.
- OMELYANENKO V., KOPECKOVA P., GENTRY C., SHIAH J.G., KOPECEK J. HPMA copolymer-anticancer drug OV-TL16 antibody conjugates. 1. Influence of method of synthesis on the binding affinity to OVCAR-3 ovarian carcinoma cells in vitro. *J. Drug. Target* v.3, p.357-73, 1996.
- PAPAHADJOPOULOS D., ALLEN T.M., GABIZON A., MAYHEW E. MATTHAY K., HUANG S.K. Sterically stabilized liposomes: improvements in pharmacokinetics and antitumour therapeutic efficacy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v.88, p.1460-4, 1991.
- PARTHASARATHI G., UDUPA N., UMADEVI P., PILLAI G.K. Niosome encapsulated of vincristine sulfate: improved anticancer activity with reduced toxicity in mice. *J. Drug Target* v.2, p.173-82, 1994.
- PEARSON P.L., VAN DER LUIJT R.B. The genetic analysis of cancer. *J. Intern. Med.* v.243, n.6, p.413-417, 1998.
- PERANTONI, A.O. Carcinogenesis. In: MCKINNELL, R.G.; PARCHMENT, R.E.; PERANTONI, A.O.; PIERCE, G.B. *The Biological Basis of Cancer*. Cambridge: University Press, 1998, p.79-115.
- PIERCE G.B. The pathology of cancer. In: MCKINNELL R.G., PARCHMENT R.E., PERANTONI, A.O., PIERCE, G.B. *The Biological Basis of Cancer*. Cambridge: University Press, 1998. p.14-50.
- PIETRO D.I., DAYAN G., CONSEIL G. P-glycoprotein mediated resistance to chemotherapy in cancer cells: using recombinant cytosolic domains to establish structure-function relationships. *Braz. J. Med. Biol. Res.* v.32, n.8, p.925-939, 1990.
- PIMM M.V., PERKINS A.C., STROHALM J., ULBRICH K., DUNCAN R. Gamma-scintigraphy of a I-123 labelled n-(2-hydroxypropyl)-methacrylamide copolymer-doxorubicin conjugate containing galactosamine following intravenous administration to nude-mice bearing hepatic human colon-carcinoma. *J. Drug. Target* v.3, p.385-90, 1996.
- PIMM M.V., PERKINS A.C., STROHALM J., ULBRICH K., DUNCAN R. Gamma-scintigraphy of the biodistribution of I-123 labelled N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide copolymer-doxorubicin conjugates in mice with transplanted melanoma and mammary-carcinoma. *J. Drug Target* v.3, p.375-83, 1996.
- PIZÃO P.E., PINEDO H.M. Farmacología de la resistencia a las drogas antineoplásicas. In: *Advances en Oncología*. Eds. VERONESI, U., CHACON R., FARANTE G. Color Efe, Buenos Aires, 1990, p. 37-48.
- PRANKERD R.J., STELLA V.J. The use of oil-in-water emulsions as a vehicle for parenteral drug administration. *J. Parent. Sci. Tech.* v.44, p.139-49, 1990.
- RANG H.P., DALE M.M., RITTER J.M. *Cancer Chemotherapy*. In: *Pharmacology*. 3ed. Churchill Livingstone: New York, p.696-717, 1995.
- RINGSDORF H. Structure and properties of pharmacologically active polymers, *J. Polym. Sci. Polym. Symp.* v.51, p.135-53, 1975.
- RODRIGUES D.G., COVOLAN C.C., CORADI S.T., BARBOZA R., MARANHÃO R.C. Use of a cholesterol-rich emulsion that binds to low-density lipoprotein receptors as a vehicle for paclitaxel. *J. Pharm. Pharmacol.* 2002.
- ROGERSON A., CUMMINGS J., WILLMOTT N., FLORENCE A.T. The distribution of doxorubicin in mice following administration in niosomes. *J. Pharm. Pharmacol.* v.40, p.337-42, 1988.
- RUIZ J.M., BENOIT J.P. In vivo peptide release from poly(DL-lactic acid-co-glycolic acid) copolymer 50/50 microspheres. *J. Control. Rel.* v.16, p.177-86, 1991.
- SAMADI-BABOLI M., FAVRE G., CANAL P., SOULA G. Low-density lipoprotein for cytotoxic drug targeting: improvement activity of elliptinium derivative against B16 melanoma in mice. *Br. J. Cancer*, v.68, p.319-326, 1993.
- SANCHEZ A., ALONSO M.J. Poly(D,L-lactide-co-glycolide) microspheres and nanospheres as a way to prolong blood-plasma levels of subcutaneously injected cyclosporine-A. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* v.41:31-7, 1995.
- SCHIMKE R.T. Gene amplification in cultured cells. *Cells*, v.37, p.705-708, 1984.
- SCHOLES R.D., COOMBES A.G.A., ILLUM L., DAVIS S.S., VERT M., DAVIES M.C. The preparation of sub-200 nm poly(lactide-co-glycolide) microspheres for site-specific drug delivery. *J. Control. Rel.* v.25, p.145-53, 1993.
- SENDEROFF R.I., SHEU M.T., SOKOLOSKI T.D. Fibrin based drug delivery systems. *J. Parenteral. Sci. Tech.* v.45, p.2-6, 1991.
- SENIOR J., DELGADO C., FISHER D., TILCOCK C., GREGORIADIS G. Influence of surface hydrophilicity of liposomes on their interaction with plasma-protein and cle-

- arance from the circulation — studies with poly(ethylene glycol)-coated vesicles. *Biochim. Biophys. Acta* v.1062, p.77-82, 1991.
- SEYMOUR L.W., ULBRICH K., STEYGER P.S., BRERETON M., SUBR V., STROHALM J. Tumor tropism and anti-cancer efficacy of polymer-based doxorubicin prodrugs in the treatment of subcutaneous murine B16/F10 melanoma. *Br. J. Cancer* v.70, p.636-41, 1994.
- SEYMOUR L.W., ULBRICH K., WEDGE S.R., HUME I.C., STROHALM J., DUNCAN R. N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide copolymers targeted to the hepatocyte galactose-receptor — pharmacokinetics in DBA2 mice. *Br. J. Cancer* v.63, p.859-66, 1991.
- SHARMA A., MAYHEW E., STRAUBINGER R.M. Antitumour effect of taxol containing liposomes in a taxol resistant murine tumour model. *Cancer Res* v.53, p.5877-81, 1993.
- SHARMA S.K. Immune response in ADEPT. *Adv. Drug Del. Rev.* v.22, p.369-76, 1996.
- SINN H., SCHRENK H.H., FRIEDRICH E.A., SCHILLING U., MAIER-BORST W. Design of compounds having an enhanced tumour uptake, using serum albumin as a carrier, Part 1. *Nucl. Med. Biol.* v.17, p.819-27, 1990.
- SONG C.X., LABHASETWAR V., MURPHY H., QU X., HUMPHREY W.R., SHEBUSKI R.J. Formulation and characterization of biodegradable nanoparticles for intravascular local drug delivery. *J. Control. Rel.* v.43, p.197-212, 1997.
- SONG Y.K., LIU D.X., MARUYAMA K., TAKIZAWA T. Antibody mediated lung targeting of long-circulating emulsions. *PDA J. Pharmaceut. Sci. Tech.* v.50, p.372-7, 1996.
- SOYEZ H., SEYMOUR L.W., SCHACHT E. Macromolecular derivatives of N,N-di-(2-chloroethyl)-4-phenylene diamine mustard. 2. In vitro cytotoxicity and in vivo anticancer efficacy. *J. Control. Rel.* v.57, p.187-96, 1999.
- STRICKLEY R.G., ANDERSON B.D. Solubilization and stabilization of an anti-HIV thiocarbamate, NSC 629243, for parenteral delivery, using extemporaneous emulsions. *Pharm. Res.* v.10, p.1076-82, 1993.
- STURZL M., ZIETZ C., EISENBURG B., GOEBEL F.D., GILLITZER R., HOFSCNEIDER P.H. Liposomal doxorubicin in the treatment of AIDS-associated Kaposi's sarcoma: clinical, histological and cell biological evaluation. *Res. Virol.* v.145, p.261-9, 1994.
- TARR B.D., SAMBANDAN T.G., YALKOWSKY S.H. A new parenteral emulsion for the administration of taxol. *Pharm. Res.* v.4, p.162-5, 1987.
- THOMPSON W.W., ANDERSON D.B., HEIMAN M.L. Biodegradable microspheres as a delivery system for rismorelin porcine, a porcine-growth-hormone-releasing-hormone. *J. Control. Rel.* v.43, p.9-22, 1997.
- TOKUDOME Y., OKU N., DOI K., NAMBA Y., OKADA S. Antitumour activity of vincristine encapsulated in glucoronide modified long circulating liposomes in mice bearing Meth A sarcoma. *Biochim. Biophys. Acta* v.1279, p.70-4, 1996.
- UCHEGBU I.F. The biodistribution of novel 200nm palmitoyl muramic acid vesicles. *Int. J. Pharm.* v.162, p.19-27, 1998.
- UCHEGBU I.F., DOUBLE J.A., TURTON J.A., FLORENCE A.T. Distribution, metabolism and tumoricidal activity of doxorubicin administered in sorbitan monostearate (Span 60) niosomes in the mouse, *Pharm. Res.* v.12, p.1019-24, 1995.
- UCHEGBU I.F., DUNCAN R. Niosomes containing N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide copolymer-doxorubicin (PK1): effect of method of preparation and choice of surfactant on niosome characteristics and a preliminary study of body distribution. *Int. J. Pharm.* v.155, p.7-17, 1997.
- VAAGE J., MAYHEW E., MARTIN F. Therapy of primary and metastatic mouse mammary carcinomas with doxorubicin encapsulated in long circulating liposomes. *Int. J. Cancer* v.51, p.942-8, 1992.
- VANBREE C., KROOSHOOPE J.J., RIETBROEK R.C., KIPP J.B.A., BAKKER P.J.M. Hyperthermia enhances tumor uptake and antitumor efficacy of thermostable liposomal daunorubicin in a rat solid tumor. *Cancer Res.* v.56, p.563-8, 1996.
- VERSLUIS A.J., GEEL V.P.J., OPPELAAR H., BERKEL V.T.J.C., BIJTERBOSCH M.K. Receptor-mediated uptake of low-density lipoprotein by B 16 melanoma cells *in vitro* and *in vivo* in mice. *Br. J. Cancer* v.74, p.525-532, 1996.
- VITOLS S., GAHRTON G., OST A., PETERSON, C. Elevated low density lipoprotein receptor activity in leukemic cells with monocytic differentiation. *Blood* v.63, p.1186-1193, 1984.
- WEIDNER N. Tumor angiogenesis: Review of current applications in tumor prognostication. *Seminars in Diagnostic Pathology* v.10, n.4, p.302-313, 1993.
- WILLIAMS S.S., ALOSCO T.R., MAYHEW E., LASIC D.D., MARTIN F.J., BANKERT R.B. Arrest of human lung-tumor xenograft growth in severe combined immunodeficient mice using doxorubicin encapsulated in sterically stabilized liposomes. *Cancer Res.* v.53, p.3964-7, 1993.
- WILLMOTT N., CUMMINGS J. Increased anti-tumour effect of adriamycin-loaded albumin microspheres is associated with anaerobic reduction of drug in tumour tissue. *Biochem. Pharmacol.* v.36, p.521-6, 1987.
- WOLFE L.A., MULLIN R.J., LAETHEM R., BLUMENKOPF T.A., CORY M., MILLER J.F. Antibody-directed enzyme prodrug therapy with the T268G mutant of human carboxypeptidase A1: In vitro and in vivo studies with prodrugs of methotrexate and the thymidylate synthase inhibitors GW1031 and GW1843. *Bioconj. Chem.* v.10, p.38-48, 1999.
- YEUNG T.K., HOPEWELL J.W., SIMMONDS R.H., SEYMOUR L.W., DUNCAN R., BELLINI O. Reduced cardiotoxicity of doxorubicin given in the form of N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide conjugates — an experimental-study in the rat. *Cancer Chemother. Pharmacol.* v.29, p.105-11, 1991.
- YOKAYAMA M., MIYAUCHI M., YAMADA N., OKANO T., KATAOKA K., INOUE S. Polymer micelles as novel drug carrier: adriamycin-conjugated poly(ethylene glycol)-poly(aspartic acid) block copolymer. *J. Contr. Rel.* v.11, p.269-78, 1990.
- YUAN F., LEUNIG M., HUANG S.K., BERK D.A., Papahadjopoulos D., Jain R.K. Microvascular permeability and interstitial penetration of sterically stabilized (stealth) liposomes in a human tumor xenograft. *Cancer Res.* v.54, p.3352-6, 1994.