



Vigilância Sanitária em Debate

ISSN: 2317-269X

INCQS-FIOCRUZ

Tobler, Juliana Palermo; Rocha, Helvécio Vinícius Antunes
Bases regulatórias para a avaliação da segurança de medicamentos à base de nanotecnologia
Vigilância Sanitária em Debate, vol. 8, núm. 2, 2020, Abril-Junho, pp. 64-74
INCQS-FIOCRUZ

DOI: <https://doi.org/10.22239/2317-269x.01358>

Disponível em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=570567430008>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais informações do artigo
- Site da revista em redalyc.org

UABEM
redalyc.org

Sistema de Informação Científica Redalyc
Rede de Revistas Científicas da América Latina e do Caribe, Espanha e Portugal
Sem fins lucrativos acadêmica projeto, desenvolvido no âmbito da iniciativa
acesso aberto

Bases regulatórias para a avaliação da segurança de medicamentos à base de nanotecnologia

Regulatory basis for the safety assessment of nanotechnology-based drug products

Juliana Palermo Tobler^{I,II} 

Helvécio Vinícius

Antunes Rocha^{I,III,*} 

RESUMO

Introdução: A nanotecnologia é uma tecnologia transdisciplinar que está sendo desenvolvida e aplicada em diversas áreas, dentre as quais cabe ressaltar a da saúde, principalmente no que tange à terapêutica e ao diagnóstico. Entretanto, ainda não se tem clara a relação entre algumas de suas propriedades físico-químicas e seus efeitos toxicológicos. Por isso, é necessário entender se os requisitos regulatórios, em termos de avaliação toxicológica, para registro de um medicamento com base em nanotecnologia, são capazes de identificar os possíveis riscos advindos desta nova tecnologia. **Objetivo:** Comparar a abordagem regulatória da *US Food and Drug Administration* (FDA), da *European Medicines Agency* (EMA) e da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) com relação à avaliação de nanomedicamentos em comparação com medicamentos convencionais. **Método:** Foi realizada pesquisa bibliográfica qualitativa em diferentes bases de dados e agências regulatórias. **Resultados:** Foram demonstradas muitas limitações dos testes atualmente preconizados, sendo que diversos deles encontram-se em caráter de revisão para melhor adequação ao efeito que podem sofrer pelas próprias nanopartículas avaliadas. **Conclusões:** Testes toxicológicos preconizados atualmente pelas agências reguladoras dos Estados Unidos da América, da União Europeia e do Brasil, apesar de estarem alinhados, não são específicos para a avaliação de nanomedicamentos.

PALAVRAS-CHAVE: Nanomedicina; Segurança; Toxicologia; Regulamentação; Anvisa

ABSTRACT

Introduction: Nanotechnology is a transdisciplinary technology that is being developed and applied in several areas, including health, especially in terms of therapy and diagnosis. However, the relationship between some of their physicochemical properties and their toxicological effects remains unclear. Therefore, it is necessary to understand whether the regulatory requirements, in terms of toxicological evaluation, for the registration of a nanotechnology-based drug, are able to identify the possible risks arising from this new technology. **Objective:** To compare the regulatory approach of US Food and Drug Administration (FDA), European Medicines Agency (EMA) and Brazilian Health Regulatory Agency (Anvisa) with respect to nanomedicine evaluation compared to conventional drugs evaluation. **Method:** Qualitative bibliographic research was performed in different databases and regulatory agencies websites. **Results:** Many limitations of the currently recommended tests have been demonstrated, and several are under review for better adaptation to the effect that may suffer by the evaluated nanoparticles themselves. **Conclusions:** Toxicological tests currently recommended by the regulatory agencies of the United States of America, the European Union and Brazil, although aligned, are not specific for the evaluation of nanomedicines.

^I Programa de Pós-Graduação Profissional em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^{II} GlaxoSmithKline, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^{III} Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

* E-mail: helvecio.far@gmail.com



INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é um campo de conhecimento transdisciplinar, que está sendo desenvolvido e aplicado em diversas áreas, tais como: automotiva, têxtil, de materiais esportivos, telecomunicações, eletrônica, alimentos, beleza, dispositivos médicos, testes diagnósticos e farmacêutica^{1,2,3}. Dentre elas, cabe ressaltar a importância da nanotecnologia para a área da saúde, principalmente no que tange à terapêutica e ao diagnóstico⁴, já que é notória a necessidade de sistemas terapêuticos e de diagnósticos mais eficientes, sobretudo quanto à relação risco/benefício para os pacientes⁵.

Nesse sentido, uma das áreas nas quais existe maior exposição à toxicidade dos tratamentos e agentes diagnósticos tradicionais é a oncologia. Neste segmento, os tratamentos são muito prolongados, a necessidade de exames de imagem é frequente e as doses administradas dos tratamentos são muito elevadas. Além disso, é comum a utilização de terapias combinadas, pois existem muitos mecanismos de resistência às terapias convencionais nas quais os fármacos são distribuídos de forma não específica no organismo^{6,7,8}.

Com os avanços da nanotecnologia, espera-se que algumas deficiências atualmente identificadas no tratamento do câncer sejam resolvidas ou, pelo menos, amenizadas, tendo em vista algumas características dos nanomateriais, tais como: elevada razão superfície/volume (maior carreamento de princípio ativo), forma e tamanho (facilitando a captação pela célula-alvo - efeito da permeabilidade e retenção aumentadas -, do inglês *enhanced permeability and retention* - EPR), introdução de moléculas direcionadoras e melhorias físico-químicas do nanossistema (tempo de circulação sanguínea aumentado, evasão do sistema retículo-endotelial, direcionamento eficaz e acúmulo nos locais de destino)^{9,10,11}.

Grande parte desses benefícios ainda não está traduzida em medicamentos comercialmente disponíveis no mercado. Para o tratamento do câncer pode-se citar: Doxil® e Caelyx®, que são os dois nomes comerciais da doxorubicina lipossomal peguilada da Schering-Plough, sendo Doxil® o nome registrado nos Estados Unidos da América (EUA) e Caelyx®, na Europa e no Brasil - Abraxane®; Myocet® e Daunoxome®^{12,13,14,15}. Neste caminho árduo da ciência em busca de nanomedicamentos e nanodispositivos, deve-se levar em consideração, de forma não menos importante, a adequada caracterização do perfil de toxicidade inerente a esses novos materiais. Apesar de algumas publicações mostrarem efeitos toxicológicos das nanopartículas (NP) nas células, a natureza desta citotoxicidade ainda não está esclarecida¹⁶.

De fato, a população já está exposta aos efeitos benéficos e aos potenciais riscos dessa nova tecnologia. Sendo assim, é importante entender e caracterizar esses materiais adequadamente, bem como compilar e disponibilizar essa informação para a comunidade científica, a indústria, os órgãos reguladores e para a sociedade como um todo.

A justificativa para a escolha deste tema dá-se pela importância da toxicidade dos nanomateriais para os pacientes. Por isso, é necessário entender se os requisitos regulatórios, em termos de avaliação toxicológica, para registro de um medicamento com base em nanotecnologia, são capazes de identificar os possíveis riscos advindos desta nova tecnologia.

Panorama da nanotecnologia nos processos regulatórios dos EUA, Europa e Brasil

A questão da evolução da metodologia regulatória para lidar com tecnologias emergentes não é nova. As lições aprendidas com as revoluções tecnológicas anteriores, incluindo fertilização *in vitro*, organismos geneticamente modificados e clonagem, mostraram a necessidade de encontrar um equilíbrio entre a inovação industrial, redução de riscos e discussão pública sobre a regulamentação destas tecnologias. Isto se torna mais importante quando não está claro que os riscos potenciais da tecnologia possam ser qualificados e quantificados com a metodologia preconizada pela legislação vigente². Nessa mesma linha, o crescimento acelerado da nanotecnologia, nos últimos anos, tem levado a um questionamento científico sobre os métodos atuais para a análise e o acompanhamento dos riscos desses novos materiais para a sociedade².

Levando-se em consideração a *US Food and Drug Administration* (FDA), a *European Medicines Agency* (EMA) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), nota-se que as agências regulatórias vêm mostrando maior interesse em entender a adequação da regulamentação vigente para medicamentos, a fim de avaliar os possíveis riscos advindos dos nanomateriais. Essa preocupação é demonstrada na articulação de grupos de trabalho específicos para avaliar as necessidades dessa nova tecnologia, presença nos fóruns de discussão sobre o tema, investimento dos governos em pesquisas de toxicidade e benefícios desses materiais.

As agências reguladoras seguem, assim, trabalhando para compreender o quanto efetiva é a regulamentação e seus testes toxicológicos, com o fito de avaliar os impactos da nanotecnologia para a saúde humana^{17,18,19,20,21,22,23,24}.

Assim, é importante comparar a abordagem regulatória da EMA, da FDA e da Anvisa com relação à avaliação de toxicidade para medicamentos convencionais e nanotecnológicos, para identificar as possíveis deficiências dos testes requeridos e, quando possível, sugerir procedimentos para sua melhoria, de forma a fortalecer os dossiês regulatórios dos nanomedicamentos.

MÉTODO

O presente estudo foi conduzido com base em revisão bibliográfica, com foco qualitativo. Deve-se ressaltar que a linguagem da área ainda não está totalmente padronizada. Corroborando com a justificativa da metodologia utilizada está o fato da precariedade da linguagem documentária que proporcione uma



recuperação de informação condizente com as necessidades informacionais desse trabalho. O baixo grau de especificidade da linguagem adotada pelo sistema de informação nessa área eleva a dificuldade para a adequada indexação/recuperação da informação, ocasionando uma baixa precisão nos resultados obtidos através da abordagem quantitativa.

Assim, foram realizadas consultas nas bases de dados: *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), *Scopus*, *Pubmed*, *Embase*, *Cochrane Library*, Periódicos CAPES *TrialTrove* e *Clinical Trials*. Quando necessário, aos dados bibliográficos foram agregadas informações extraídas de endereços eletrônicos pertencentes a organizações governamentais e intergovernamentais, que têm por praxe a divulgação de estudos, informativos e dados relacionados com as temáticas abordadas no presente artigo. Dentre elas, pode-se citar: FDA, EMA, Anvisa, Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI), Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (Inmetro) e Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE).

Como descritores primários foram usados os seguintes termos: Nanotecnologia/*Nanotechnology*, Nanomedicina/*Nanomedicine*, Nanopartícula/*Nanoparticle*, Nanocarreadores/*Nanocarries*, Nanodispositivos/*Nanodevices* e Câncer/*Cancer*. Como descritores secundários: Testes toxicológicos, toxicologia/*Toxicological analysis*, *toxicology*, Tolerabilidade/*Tolerability*, Estudos de fase IV/*Phase IV studies*, Evento adverso/*Adverse event*, Observacional/*Observational*, Aprovação regulatória, dossiê regulatório/*Regulatory approval*, *regulatory dossier*, OCDE/OECD.

Não foi estabelecido um limite temporal para a pesquisa, mas seu término deu-se em junho de 2019. Os artigos e/ou documentos encontrados foram selecionados com base em uma análise de relevância para o tema escolhido.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o objetivo de prover uma visão geral do panorama de desenvolvimento e ações nessa área entre EUA, Europa e Brasil, foi criado o Quadro 1 como uma introdução aos resultados que serão discutidos a seguir.

Foram comparados os requerimentos regulatórios para a submissão de pedidos de registro de medicamentos nanotecnológicos às agências regulatórias dos EUA (FDA), da Europa (EMA) e do Brasil (Anvisa). Apesar do desenvolvimento da nanomedicina estar bem acelerado globalmente pode-se notar que as agências reguladoras estão adotando um critério conservador para a avaliação desses novos medicamentos. Tanto o FDA como a EMA disponibilizam em suas páginas de *internet* seu posicionamento com relação à regulamentação dos nanomedicamentos. No caso da FDA, pode-se citar a divulgação de dois documentos oficiais: o *Guidance for Industry Considering Whether an FDA-Regulated Product Involves the Application of Nanotechnology* publicado em 2014 e uma versão preliminar para comentários *Drug Products, Including Biological Products, that Contain Nanomaterials Guidance for Industry DRAFT GUIDANCE*, publicada em dezembro de 2017. Nesses dois documentos o FDA deixa claro que não existe um processo diferenciado para medicamentos com base em nanotecnologia, e sim cuidados adicionais em relação aos dados submetidos. Importante recordar que esses guias não têm natureza regulatória, funcionando como auxiliares para que a indústria possa preparar a submissão seguindo as recomendações contidas nesses guias de forma a facilitar o processo de revisão e aprovação²⁵.

No caso da União Europeia, à luz das publicações de seus comitês científicos e consultivos e de seus avaliadores de riscos independentes, foi publicada definição no que tange a nanomateriais e a confirmação de que os medicamentos à base de nanotecnologia seguem o processo padrão de avaliação de qualquer outro medicamento, assim como sua avaliação toxicológica, mesmo que ainda sejam necessários trabalhos sobre aspectos específicos da avaliação dos riscos desses novos materiais²⁶. Assim como a FDA, a EMA, desde 2011, divulga documentos (*reflection papers*) para auxiliar a indústria no conteúdo das suas submissões, a saber: a) *Joint MHLW/EMA reflection paper on the development of block copolymer micelle medicinal products* (EMA/CHMP/13099/2013)²⁷; b) *Reflection paper on the data requirements for intravenous liposomal products developed with reference to an innovator liposomal product* (EMA/CHMP/806058/2009/Rev. 02)²⁸; c) *Reflection paper on surface coatings: general issues for consideration regarding*

Quadro 1. Mapeamento dos processos e atividades voltadas para nanotecnologia nas agências reguladoras.

Processos e atividades	EUA (FDA)	UE (EMA)	Brasil (Anvisa)
Investimento financeiro para o desenvolvimento da nanotecnologia no país	Sim	Sim	Sim
Regulamentações específicas para nanomedicamentos	Não	Não	Não
Guias para orientação do setor regulado sobre a submissão de nanomateriais	Sim	Sim	Não
Formulário específico para a declaração da presença de nanomateriais no medicamento acabado	Sim	Sim	Não
Posicionamento sobre a aplicabilidade dos testes toxicológicos para nanomedicamentos disponível	Sim	Sim	Não
Investimentos federais são direcionados para a validação e aperfeiçoamento dos testes toxicológicos para nanomedicamentos	Sim	Sim	Sim
Laboratórios de metrologia estão adaptados à nanotecnologia	Sim	Sim	Sim
Base de dados unificada disponível para armazenar informações sobre nanomateriais	Sim	Sim	Não

Fonte: FDA^{17,18,19}, EMA²², Anvisa³².

EUA: Estados Unidos da América; EU: União Europeia; FDA: *US Food and Drug Administration*; EMA: *European Medicines Agency*; Anvisa: Agência Nacional de Vigilância Sanitária.



parenteral administration of coated nanomedicine products (EMA/325027/2013)²⁹; d) *Reflection paper on non-clinical studies for generic nanoparticle iron medicinal product applications* (EMA/CHMP/SWP/100094/2011)³⁰; e) *Reflection paper on the data requirements for intravenous iron-based nano-colloidal products developed with reference to an innovator medicinal product* (EMA/CHMP/SWP/620008/2012)³¹. Esse último introduz um tema polêmico que começará a surgir assim que forem finalizadas as patentes dos nanomedicamentos já aprovados: aprovação regulatória para produtos nanossimilares. Assim como o guia da FDA, esses documentos não têm caráter regulatório, somente educacional para a orientação da indústria e outros interessados.

No que tange à regulamentação dessa nova tecnologia no Brasil, conforme mencionado anteriormente, somente em 2013, dez anos após o início das iniciativas do Governo Federal brasileiro para estímulo e desenvolvimento da nanotecnologia, foi estabelecido o Comitê Interno de Nanotecnologia da Anvisa (oficializado somente em 2014)³². Embora seja tema de grande discussão, ainda não existe divulgação na página eletrônica da Anvisa sobre seu posicionamento com relação à necessidade de adequação da regulamentação aos nanomedicamentos. Porém, pode-se notar que a sociedade busca direcionamento sobre essa discussão. A preocupação com o tema é notória quando se analisam os Projetos de Lei (PL) submetidos pelos deputados e senadores para apreciação do governo (Quadro 2).

Guias para a avaliação toxicológica dos nanomedicamentos

Após análise dos testes pré-clínicos recomendados por FDA e EMA, pode-se notar que as agências utilizam uma abordagem bem flexível, possibilitando a escolha dos testes de acordo com as características do medicamento a ser testado e do seu plano de desenvolvimento clínico. As agências mencionadas acima se baseiam nos guias do *The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use* (ICH), que levam em consideração as recomendações da OCDE e dos grupos de trabalho internacionais relacionados ao tema.

No Brasil foi elaborado um guia para medicamentos em geral (também não é específico para nanomedicamento) que é baseado nas mesmas diretrizes e agências citadas acima (ICH, OCDE, FDA e EMA) - Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos⁴⁰. Esse guia é uma orientação para a condução de estudos não clínicos de segurança durante o desenvolvimento de medicamentos, não tem caráter regulatório e é flexível com relação à inclusão de outros testes, que não estejam listados nesse documento, desde que sejam testes validados e aceitos internacionalmente. Ele abrange as seguintes áreas: estudos de toxicidade de dose única (aguda), toxicidade de doses repetidas, toxicidade reprodutiva, genotoxicidade, tolerância local e carcinogenicidade, além de estudos de interesse na avaliação da segurança farmacológica e toxicocinética (Administração, Distribuição, Metabolismo e Excreção - ADME).

Quadro 2. Projetos de Lei submetidos por deputados e senadores sobre nanotecnologia.

Projeto	Assunto	Situação
PL n° 880/2019 ³³ , em tramitação	Cria o Marco Legal da Nanotecnologia e estabelece incentivos ao desenvolvimento científico, pesquisa, capacitação e inovação no âmbito da nanotecnologia.	03/04/2019 - Comissão de Constituição, Justiça e Cidadania (Secretaria de Apoio à Comissão de Constituição, Justiça e Cidadania) 03/04/2019 - Matéria com a relatoria
PL complementar n° 23 ³⁴ , de 04 de fevereiro de 2019	Permite a inclusão no Simples Nacional de empresas cuja atividade seja suporte, análises técnicas e tecnológicas, pesquisa e desenvolvimento de nanotecnologia.	13/03/2019 - Comissão de Ciência, Tecnologia, Inovação, Comunicação e Informática (Secretaria de Apoio à Comissão de Ciência, Tecnologia, Inovação, Comunicação e Informática) 13/03/2019 - Matéria com a relatoria
PL n° 683 ³⁵ , de 02 de julho de 2019	Confere ao município de Florianópolis (SC) o título de "Capital Nacional da Nanotecnologia e Novos Materiais".	06/06/2019 - Plenário do Senado Federal (Secretaria Legislativa do Senado Federal) 06/06/2019 - Aguardando interposição de recurso
PL n° 6.741 ³⁶ , de 11 de novembro de 2013	Dispõe sobre a Política Nacional de Nanotecnologia, a pesquisa, a produção, o destino de rejeitos e o uso da nanotecnologia no país e dá outras providências.	05/04/2017 - Apense-se o PL n° 6.741/2013 ao PL n° 5.133/2013 31/01/2019 - Arquivado
PL n° 5.133 ³⁷ , de 13 de março de 2013	Regulamenta a rotulagem de produtos da nanotecnologia e de produtos que fazem uso da nanotecnologia.	05/04/2017 - Apense-se o PL n° 6.741/2013 ao PL n° 5.133/2013 31/01/2019 - Arquivado
PL n° 5.076 ³⁸ , de 18 de abril de 2005	Dispõe sobre a pesquisa e o uso da nanotecnologia no país, cria a Comissão Técnica Nacional de Nanosseguirança (CTNano), institui o Fundo de Desenvolvimento de Nanotecnologia (FDNano) e dá outras providências.	05/11/08 - Rejeitada 18/02/2009 - Arquivado "A Comissão de Finanças e Tributação, em reunião ordinária realizada hoje, conclui, unanimemente, pela incompatibilidade e inadequação financeira e orçamentária do Projeto de Lei n° 5.076-B/05, nos termos do parecer do relator"
PL n° 131/2010 ³⁹ , em tramitação	Altera o Decreto-Lei n° 986, de 21 de outubro de 1969, que institui normas básicas sobre alimentos, e a Lei n° 6.360, de 23 de setembro de 1976, que dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos e dá outras providências, para determinar que rótulos, embalagens, etiquetas, bulas e materiais publicitários de produtos elaborados com recurso à nanotecnologia contenham informação sobre esse fato.	01/08/2013 - Rejeitada "Finalmente, além de gerar confusão e alarme, o projeto sob análise pode encarecer o preço dos produtos, em decorrência da imposição de maiores exigências burocráticas"

Fonte: Elaborado pelos autores com base nas legislações citadas, 2019.

PL: Projeto de Lei.



Apesar de os testes mencionados anteriormente serem amplamente utilizados para a avaliação de medicamentos convencionais e terem demonstrado seu valor para a correlação do perfil toxicológico do medicamento convencional nos testes pré-clínicos e na prática clínica, pode-se notar, em base às informações disponíveis atualmente, que essa correlação não é necessariamente verdadeira quando se analisa nanomedicamentos. Portanto, verifica-se a necessidade de avaliar a aplicabilidade desses testes para os nanomedicamentos.

Como um dos focos do grupo de trabalho *Working Party on Manufactured Nanomaterials* (WPMN), estabelecido em 2006, está a revisão dos testes toxicológicos preconizados nas diretrizes OCDE (Quadro 3), tendo em vista as necessidades emergentes advindas da nanotecnologia. O objetivo desse projeto é identificar a necessidade de novas diretrizes, assim como pontos de melhorias e inadequação das existentes para a avaliação de nanomateriais.

Após sua análise, a OCDE considera que parte de suas diretrizes em vigor são aplicáveis aos nanomateriais. Em alguns casos são necessários ajustes à metodologia, em outros foi observado que será necessário o desenvolvimento de nova metodologia, pois as diretrizes disponíveis são inadequadas. Essas inadequações estão, principalmente, relacionadas à falta de padronização e validação de métodos de análise qualitativos e quantitativos para nanomateriais⁴¹.

Além da revisão realizada pelo WPMN, vale ressaltar os estudos de Nel et al.⁴² e Jones e Grainger⁴³, pelos quais pode-se identificar alguns pontos críticos que influenciam a análise dos resultados dos testes toxicológicos *in vitro*. Dentre as características a serem analisadas pode-se citar: tamanho da partícula; tamanho do agregado e/ou aglomerado formado, distribuição de tamanho na formulação; área, química e carga superficial; potencial *zeta*; estrutura/formato; estabilidade da formulação; solubilidade; reatividade de superfície; pureza; porosidade, dentre outras características^{44,45,46,47}.

Dentre as discussões mais importantes sobre os nanomedicamentos está o estabelecimento do critério de avaliação de sua dose. Apesar de utilizada por muitos dos estudos publicados, a massa pode não ser a medida mais adequada para a avaliação da exposição em relação aos efeitos sobre a saúde do paciente. Levando-se em consideração que ainda existe um “vácuo” de conhecimento para que se possa afirmar qual seria a melhor alternativa, podem-se discutir algumas propostas disponíveis na literatura, mas sem a esperança de se chegar a um consenso, pelo menos a curto prazo.

A dose expressa em massa/volume tem a vantagem de ser mais fácil de quantificar. Porém, isso não lhe garante relevância para a correlação dose-resposta que se pretende analisar, pois deve-se considerar que os nanomateriais são considerados “diferentes” dos materiais em macroescala, dentre outras razões, por causa da sua elevada relação superfície/volume. Além disso, considerando-se os resultados dos estudos toxicológicos que demonstraram maior toxicidade dos nanomateriais quando comparados ao material em macroescala utilizando-se a mesma dose em relação à massa/volume, fica evidente a necessidade de uma exploração mais

profunda sobre qual seria a relevância dessa medida em relação à resposta observada^{48,49}. Alguns pesquisadores, como Wittmaack (2007), consideram a relação número de partículas/volume a mais relevante em seus estudos, mas outros, como Oberdörster⁴⁸, demonstraram que a medida que teria melhor correlação dose-resposta seria a área superficial/volume, pois como se sabe a resposta toxicológica depende das propriedades de superfície do nanomaterial e que a área superficial aumenta exponencialmente com a diminuição do tamanho da NP. Sendo assim, como ainda não existe um consenso sobre o critério que se deve utilizar, talvez seja necessário levar em consideração que provavelmente diferentes nanomateriais necessitarão de diferentes critérios e, por isso, é tão importante investir em estudos nessa área.

Há ainda na literatura uma enorme discussão sobre os testes *in vitro* com base em culturas de células^{43,50,51}. Por exemplo: culturas 3D produzem uma matriz extracelular mais complexa e densa e suas células estão distribuídas de forma não homogênea, o que é traduzido em maior desafio para o transporte e a captação dos nanomateriais pelas células mais profundas em relação às mais superficiais da cultura. Além disso, essa variação no poder de penetração dos nanomateriais também está relacionada ao tamanho do nanomaterial e ao tempo em que as células ficam expostas ao mesmo. Esse fato foi observado, principalmente, com o advento das culturas de células 3D, uma vez que em cultura de células 2D não foi demonstrada diferenciação no poder de penetração das NP, as quais, mesmo com diferentes tamanhos, distribuíram-se homogeneamente nas células. No estudo de Huang et al., foi demonstrado que em cultura de células 3D houve um aumento significativo na captação de NP menores (2 e 6 nm) com o aumento do período de incubação de 3 para 24 h, o que não foi observado para a NP maior (15 nm). Esses dados demonstraram que, em geral, a toxicidade induzida pelas NP foi menor na cultura 3D do que na cultura 2D^{52,53,54}.

Outro item importante que deve ser levado em consideração com relação à aplicabilidade dos testes toxicológicos para nanomedicamentos é a possível interferência dos nanomateriais com os componentes e nos procedimentos dos testes. Uma análise de literatura feita por Ong et al.⁵⁵ demonstrou que, em 2010, aproximadamente 84% das publicações sobre nanotoxicologia utilizaram pelo menos um tipo de teste colorimétrico ou de fluorescência. Desses testes analisados, 95% foram publicados sem a divulgação da utilização de controles apropriados para identificar essa interferência. Esse mesmo grupo fez análise idêntica com as publicações de 2012, para entender se o maior acesso à informação sobre esse tipo de interferência poderia melhorar o planejamento desses testes. Entretanto, os resultados demonstraram que, das publicações de 2012, 90% não reportaram a utilização de controle para essa finalidade. Ainda nesse trabalho, foi relatado que o controle mais comumente utilizado foi a adição das NP sozinhas com os componentes do teste (2010: 5%, 2012: 8%), seguido da análise da fluorescência/absorvância intrínseca das NP (2010: 2%, 2012: 5%) e posteriormente o uso concomitante da NP com um analito (2010: 1%, 2012: 4%). Com relação aos procedimentos adotados como controle, foi ressaltado que, apesar de a adição das NP aos componentes do ensaio ter sido o mais

Quadro 3. Diretrizes da OCDE para teste de produtos químicos⁴¹.

Número do teste	Título	Parecer	
420	<i>Acute Oral Toxicity - Fixed Dose Procedure</i>	Adequado	Seria apropriado para uma investigação inicial. Deve-se reconhecer que a extensão da avaliação patológica na autópsia é limitada. • Avaliação ampliada da patologia/histologia é necessária.
423	<i>Acute Oral toxicity - Acute Toxic Class Method</i>	Adequado	
425	<i>Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure</i>	Adequado	
436	<i>Acute Inhalation Toxicity - Acute Toxic Class Method</i>	A princípio não são adequados para nanomateriais	• Provável que não possa aportar muito no perfil de toxicidade de nanomateriais. • Materiais de baixa toxicidade intrínseca devem ser testados até a dose de 5.000 mg/m ³ , que levaria à morte por obstrução do fluxo aéreo e não por toxicidade intrínseca. • TG 403 - Inclui apenas exame histológico muito limitado na autópsia.
403	<i>Acute Inhalation Toxicity</i>		
412	<i>Subacute Inhalation Toxicity: 28-Day Study</i>	Revisado e adequado	Revisão: • Medições específicas do fluido de lavagem broncoalveolar (BALF) a ser realizado para todos os produtos químicos de teste, dividindo o pulmão para histopatologia e análise BALF. Qualquer grupo de recuperação planejado também deve incluir a análise BALF. • Medição da deposição e retenção pulmonar de partículas. • Considerar o diâmetro aerodinâmico médio da massa de ≤ 2 µm com desvio padrão geométrico de 1-3.
413	<i>Subchronic Inhalation Toxicity: 90-day Study</i>	Revisado e adequado	
402	<i>Acute Dermal Toxicity</i>	Inadequado	Requer apenas patologia mínima; seria desejável ter patologia aprimorada ao investigar nanomateriais.
430	<i>In Vitro Skin Corrosion: Transcutaneous Electrical Resistance Test (TER)</i>	Não menciona	Pode ser usado, mas observando que a medição da viabilidade celular usando MTT pode não ser apropriada devido à inativação do marcador.
431	<i>In Vitro Skin Corrosion: Human Skin Model Test</i>	Não menciona	Pode ser usado, mas observando que a medição da viabilidade celular usando MTT pode não ser apropriada devido à inativação do marcador. Algumas questões críticas relacionadas ao protocolo foram identificadas, por exemplo: falta de circulação na região subcutânea, a duração da exposição por tempo relevante, área de exposição, a compatibilidade do fluido receptor para nanomateriais, sugerindo a necessidade de adequação deste teste.
435	<i>In Vitro Membrane Barrier Test Method for Skin Corrosion</i>	Não menciona	Pode ser usado, mas observando que a medição da viabilidade celular usando MTT pode não ser apropriada devido à inativação do marcador.
404	<i>Acute Dermal Irritation/Corrosion</i>	Não menciona	Pode ser apropriado para avaliar a irritabilidade de nanomateriais.
405	<i>Acute Eye Irritation/Corrosion</i>	Não menciona	Pode ser apropriado para avaliar a irritabilidade de nanomateriais.
429	<i>Skin Sensitisation</i>	Não menciona	TG 429 é mais apropriado que o TG 406 pelo bem-estar e número de animais usado no teste, objetividade do desfecho, estimativa da potência dos agentes sensibilizantes, menos composto é necessário.
406	<i>Skin Sensitisation</i>	Não menciona	Menos apropriado quando comparado ao TG 429.
407	<i>Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents</i>	Adequado	Fornece informações gerais sobre uma gama de potenciais efeitos tóxicos, incluindo neurotoxicidade.
408	<i>Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Rodents</i>	Adequado	
409	<i>Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Non-Rodents</i>	Adequado	Estudos adicionais podem ser necessários para caracterizar os efeitos neurotóxicos, imunológicos ou nos órgãos reprodutores.
471	<i>Bacterial Reverse Mutation Test</i>	Não recomendado	Justificativa: as células bacterianas utilizadas não têm a capacidade de realizar endocitose e a difusão de nanomateriais através da parede celular bacteriana pode ser limitada, sendo que ambas limitam a captação nanomaterial; alguns nanomateriais também possuem propriedades antibacterianas. O TG 476 é considerado como alternativa ao TG 471.
473	<i>In vitro Mammalian Chromosome Aberration Test</i>	Adequado	Nenhuma interferência dos nanomateriais com o teste foi reportada.
476	<i>In vitro Mammalian Cell Gene Mutation Test</i>	Adequado	Potencial influência na condução do teste quando avaliadas altas concentrações de nanomaterial à base de ZnO (aumento da turbidez).
474	<i>Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test</i>	Adequado	
475	<i>Mammalian Bone Marrow Chromosome Aberration Test</i>	Adequado	
486	<i>Unscheduled DNA Synthesis (UDS) Test with Mammalian Liver Cells in vivo</i>	Adequado*	
421	<i>Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test</i>	Adequado*	Para administração oral.
422	<i>Combined Repeated Dose Toxicity Study with the Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test</i>	Adequado*	Para administração oral.
415	<i>One-Generation Reproduction Toxicity Study</i>	Adequado**	

Continua



Continuação

Número do teste	Título	Parecer	
416	<i>Two-Generation Reproduction Toxicity</i>	Adequado**	
414	<i>Prenatal Development Toxicity Study</i>	Adequado**	
428	<i>Comet Assay (Single-Cell Gel Electrophoresis)</i>	Adequado	TG 427/428 em combinação com testes complementares são, em geral, apropriados para avaliação de nanomateriais. Algumas alterações, por exemplo: as relativas a períodos de observação mais longos com nanomateriais devem ser mencionadas na sua próxima atualização.
427	<i>Skin Absorption: In Vivo Method</i>	Adequado	
437	<i>Bovine Corneal Opacity and Permeability Test Method for Identifying: i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage e ii) Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage</i>	Adequado	Adaptação é necessária para incluir a caracterização completa dos nanomateriais (pós ou suspensões).
487	<i>In Vitro Mammalian Micronucleus Test</i>	Adequado	Adaptações ao teste são necessárias, como, por exemplo: a aplicação em separado da CytoB e do nanomaterial as células, tempo de exposição (24 h parece ser suficiente), atenção à concentração sérica para não gerar falso positivo e o uso de linhagens celulares geneticamente estáveis e P53 competentes.
489	<i>In Vivo Mammalian Alkaline Comet Assay</i>	Não menciona	

Fonte: OECD, 2009.

MTT: brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio.

* Exceto para análise do trato respiratório como órgão-alvo.

** Somente para via oral.

utilizado, este método também não é totalmente confiável para o controle da interferência das NP. Pois, quando em condições reais, haverá a interferência de outros fatores, como as proteínas, alterando os resultados, eliminando ou potencializando a interferência. Portanto, fica clara a necessidade da caracterização da ação de cada componente no teste escolhido.

Os testes que utilizam detecção colorimétrica ou de fluorescência, em geral, dependem de reações de oxirredução. Essas reações ocorrem na presença de atividade celular, porém, notou-se que algumas NP metálicas também podem interagir com o corante/marcador (por exemplo: alamar blue, 2,7-diclorodihidrofluoresceína - DCF) causando sua redução⁵⁵.

As propriedades óticas variam tanto com a composição química do material como com suas propriedades físicas (tamanho da partícula, formato, cristalinidade, dentre outras). De forma geral, tanto o teste alamar blue como o brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT) são afetados por essa interferência, pois nesses testes a fluorescência indica viabilidade celular e, como algumas NP também são capazes de gerar fluorescência, acaba-se gerando resultado falso positivo, levando à subestimação do impacto toxicológico dessas NP. Por outro lado, a interferência de NP nos testes que medem o estresse oxidativo celular pode superestimar seu impacto toxicológico^{55,56,57,58,59,60,61}.

As NP também demonstraram interferir na conformação de algumas proteínas e, dessa forma, diminuir sua atividade enzimática. Como exemplo pode-se citar a interferência de NP com atividade da enzima lactato-desidrogenase (LDH), enzima utilizada no teste para a avaliação da viabilidade celular. Assim como também existe informação sobre atividade catalítica de NP na redução do 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-fenil-2H-tetrazolium cloro (INT), semelhante à ação catalítica da LDH⁶². Além disso, também cabe ressaltar os efeitos da adição de proteínas ao teste

e sua influência na estabilidade das NP e, por consequência, na sua atividade no ensaio⁵⁵.

Outras interações podem surgir pela existência de interações eletrostáticas entre as NP e os materiais do teste. Deve-se entender o quanto a carga da NP (positiva ou negativa) leva à interferência observada. Além disso, deve-se entender se a interação observada advém somente desse critério ou se poderia ter outras características da NP potencializando a interação. Nem sempre o comportamento das NP segue um padrão de interação definido. Existe dado que mostra que tanto NP positiva quanto negativamente carregadas podem interferir com o marcador tetrazólio. Além disso, a mesma NP pode interferir e não interferir com o mesmo marcador em testes diferentes. Por isso, é importante utilizar a maior quantidade de informação sobre as características das NP para se entender os resultados obtidos⁵⁵.

Tendo em vista toda a informação compilada e discutida, seguem abaixo algumas recomendações importantes para a regulamentação dessa tecnologia no Brasil:

1. Presença mais enfática e participativa nos grupos de trabalho internacionais que estão validando os testes toxicológicos para os nanomateriais.
2. Melhor controle sobre o andamento e publicação dos resultados gerados nas pesquisas sobre nanotoxicologia patrocinadas pelos programas do governo federal.
3. Investir em treinamento adequado aos membros da Anvisa para assegurar que as análises regulatórias desses novos produtos sejam realizadas com a profundidade e tempo adequado para garantir a competitividade do Brasil na área de nanomedicamentos, mas também o direito da população em relação a sua segurança e informação.



4. Implementar procedimento para garantir a rotulagem adequada de medicamentos contendo nanomateriais. Não é necessário que seja por meio de regulamentação específica para nanotecnologia e nem por meio de um símbolo, como no caso dos transgênicos, mas que se possa garantir que os rótulos e bulas dos medicamentos incluam informação suficiente para que o direito a informação e decisão da população seja preservado.
 5. Melhorar o plano de comunicação da Anvisa sobre as suas ações e posicionamento em relação à regulamentação de nanomedicamentos.
 6. Assegurar que os investimentos do governo federal destinados à pesquisa e ao desenvolvimento na área de nanotecnologia sejam alocados para a geração de conhecimento na área dos testes pré-clínicos necessários para:
 - a. avaliar a segurança e eficácia dos nanomateriais;
 - b. obter dados sobre os impactos dos nanomateriais na absorção, distribuição, metabolismo e eliminação dos fármacos convencionais;
 - c. obter dados para entender melhor a relação estrutura-atividade desses novos materiais.
 7. Com relação à adaptação dos testes toxicológicos solicitados:
 - a. Que o conjunto mínimo de testes solicitado seja constantemente alinhado com os guias internacionais.
 8. Com relação à submissão regulatória, adicionalmente ao processo convencional, deveriam ser exigidas, no mínimo, as seguintes informações:
 - a. Caracterização bio-físico-química apropriada do nanomedicamento, levando-se em consideração os possíveis fatores que podem influenciar essa análise (meios, diferentes condições de exposição, potencial de agregação e aglomeração, resíduos de fabricação, estabilidade da formulação, ligantes de superfície, possíveis interações com os procedimentos de caracterização).
 - b. Assegurar que exista um racional, mencionando especificamente as características nanotecnológicas que podem impactar na seleção dos testes para a avaliação pré-clínica dos nanomedicamentos (linhagem celular escolhida, modelo de cultivo celular, desfechos analisados, tempo de exposição do teste etc.), assim como uma explicação para cada adaptação feita aos testes, buscando alinhamento com as metodologias publicadas/disponíveis, quando for possível. Se não for possível, registrar o racional da adaptação.
 - c. Racional para a escolha dos materiais de referência para os testes toxicológicos.
 9. Inclusão de todos os dados dos nanomedicamentos em uma base de dados destinada para essa finalidade.
- Dado que a nanotecnologia é abrangente em seu alcance e interdisciplinar por natureza, garantir a participação no seu desenvolvimento dos atores envolvidos na sua aplicação e regulação, faz-se essencial para melhorar a capacitação técnica nessa área diminuir a assimetria de informação e agilizar o processo de incorporação de conhecimento no país.
- O início tardio da revisão da regulamentação para nanomedicamentos no Brasil, quando comparado à FDA e à EMA, pode ser aproveitado de forma bastante positiva. Tendo em vista todas as informações que já estão disponíveis, os grupos de trabalho já estabelecidos e a experiência dos países que já implementaram alguma ação no sentido de regulamentar a aprovação dos nanomedicamentos, espera-se que a velocidade de desenvolvimento da Anvisa nessa área seja rápida e que em pouco tempo possa estar bem estabelecida e gerando resultados.

CONCLUSÕES

Pode-se concluir com este estudo que os testes toxicológicos preconizados atualmente pelas agências reguladoras dos EUA, da União Europeia e do Brasil, apesar de estarem alinhados, não são específicos para a avaliação de nanomedicamentos. Nesse sentido, em base às informações disponíveis, não se pode garantir que os dados gerados pela bateria de testes solicitada sejam confiáveis para o estabelecimento de uma relação risco/benefício robusta para os nanomedicamentos. Além disso, restam demonstradas muitas das limitações desses testes e algumas sugestões de melhorias para a condução deles. Entretanto, esse processo “caseiro” de adaptação dos testes, que deveriam ser “padronizados”, acarreta distorção dos resultados obtidos e, por consequência, dificulta o entendimento e a correlação dos dados gerados com os disponíveis na literatura, apesar de ser de grande utilidade para a adequação dos guias disponíveis.

Ainda nesse sentido, ressalta-se a importância da caracterização bio-físico-química de cada nanomedicamento submetido às análises, pois, como demonstrado, uma das maiores dificuldades enfrentadas é o alinhamento entre as definições utilizadas por grupo de pesquisa para a classificação de seus nanomateriais - que também impacta negativamente no processo de compilação de dados para geração de evidências. Levando-se em consideração as sugestões elaboradas no presente trabalho, acredita-se que o processo de avaliação regulatória dos nanomedicamentos seja fortalecido.

REFERÊNCIAS

1. Lauterwasser C. Small sizes that matter: opportunities and risks of nanotechnologies. Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development; 2005.
2. Bowman DM, Hodge GA. Nanotechnology: mapping the wild regulatory frontier. *Futures*. 2006;38(9):1060-73. <https://doi.org/10.1016/j.futures.2006.02.017>



3. Agência Brasileira de Desenvolvimento Industrial - ABDI. Cartilha sobre nanotecnologia. Brasília: ABDI; 2010.
4. Murday JS, Siegel RW, Stein J, Wright JF. Translational nanomedicine: status assessment and opportunities. *Nanomedicine*. 2009;5(3):251-73. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2009.06.001>
5. Shi J, Xiao Z, Kamaly N, Farokhzad OC. Self-assembled targeted nanoparticles: evolution of technologies and bench to bedside translation. *Acc Chem Res*. 2011;44(10):1123-34. <https://doi.org/10.1021/ar200054n>
6. Ferrai M. Cancer nanotechnology: opportunities and challenges. *Nat Rev Cancer*. 2005;5(3):161-71. <https://doi.org/10.1038/nrc1566>
7. Davis RR, Lockwood PE, Hobbs DT, Messer RL, Price RJ, Lewis JB et al. *In vitro* biological effects of sodium titanate materials. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2007;83(2):505-11. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30823>
8. Haley B, Frenkel E. Nanoparticles for drug delivery in cancer treatment. *Urol Oncol*. 2008;26(1):57-64. <https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2007.03.015>
9. Maeda H, Wu J, Sawa T, Matsumura Y, Hori K. Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review. *J Control Release*. 2000;65(1-2):271-84. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(99\)00248-5](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(99)00248-5)
10. Jain RK, Stylianopoulos T. Delivering nanomedicine to solid tumors. *Nat Rev Clin Oncol*. 2010;7(11):653-64. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2010.139>
11. Doane TL, Burda C. The unique role of nanoparticles in nanomedicine: imaging, drug delivery and therapy. *Chem Soc Rev*. 2012;41(7):2885-911. <https://doi.org/10.1039/c2cs15260f>
12. Huynh NT, Passirani C, Saulnier P, Benoit JP. Lipid nanocapsules: a new platform for nanomedicine. *Int J Pharm*. 2009;379(2):201-9. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.04.026>
13. Desai N. Challenges in development of nanoparticle-based therapeutics. *AAPS J*. 2012;14(2):282-95. <https://doi.org/10.1208/s12248-012-9339-4>
14. Parveen S, Misra R, Sahoo SK. Nanoparticles: a boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging. *Nanomedicine*. 2012;8(2):147-66. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2011.05.016>
15. Svenson S. What nanomedicine in the clinic right now really forms nanoparticles? *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*. 2014;6(2):125-35. <https://doi.org/10.1002/wnan.1257>
16. Elsaesser A, Howard CV. Toxicology of nanoparticles. *Adv Drug Deliv Rev*. 2012;64(2):129-37. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2011.09.001>
17. US Food and Drug Administration - FDA. Manual of policies and procedures: reporting format for nanotechnology-related information in CMC review. Silver Spring: FDA; 2010.
18. US Food and Drug Administration - FDA. Guidance for industry considering whether an FDA-regulated product involves the application of nanotechnology. Silver Spring: FDA; 2014[acesso 24 mar 2018]. Disponível em: <https://www.fda.gov/media/88423/download>
19. US Food and Drug Administration - FDA. Guidance for industry assessing the effects of significant manufacturing process changes, including emerging technologies, on the safety and regulatory status of food ingredients and food contact substances, including food ingredients that are color additives. Silver Spring: FDA; 2012.
20. US Food and Drug Administration - FDA. S2(R1) genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use. Silver Spring: FDA; 2012[acesso 13 jun 2018]. Disponível em: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm074931.pdf>
21. US Food and Drug Administration - FDA. 2013 Nanotechnology regulatory science research plan. Silver Spring: FDA; 2013[acesso 6 abr 2019]. Disponível em: <http://www.fda.gov/ScienceResearch/SpecialTopics/Nanotechnology/ucm273325.htm>
22. European Medicines Agency - EMA. Reflection paper on nanotechnology-based medical products for human use. London: EMA; 2006[acesso 24 mar 2019]. Disponível em: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Regulatory_and_procedural_guideline/2010/01/WC500069728.pdf
23. European Medicines Agency - EMA. Reflection paper on non clinical studies for generic nanoparticle iron medicinal product applications. London: EMA; 2011[acesso 2 fev 2019]. Disponível em: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/04/WC500105048.pdf
24. European Medicines Agency - EMA. Reflection paper on the data requirements for intravenous liposomal products developed with reference to an innovator liposomal product. London: EMA; 2013[acesso 14 set 2018]. Disponível em: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2013/03/WC500140351.pdf
25. US Food and Drug Administration - FDA. Drug products, including biological products, that contain nanomaterials guidance for industry draft guidance. Silver Spring: FDA; 2017[acesso 15 maio 2019]. Disponível em <https://www.fda.gov/media/109910/download>
26. European Commission - EC. Comunicação da comissão ao parlamento europeu, ao conselho e ao comitê econômico e social europeu. Brussels: EC; 2012[acesso 15 maio 2019]. Disponível em: http://ec.europa.eu/research/industrial_technologies/pdf/policy/communication-from-the-commission-second-regulatory-review-on-nanomaterials_pt.pdf
27. European Medicines Agency - EMA. Joint MHLW/EMA reflection paper on the development of block copolymer micelle medicinal products. London: EMA; 2013[acesso 19 set 2018]. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/joint-mhlw/ema-reflection-paper-development-block-copolymer-micelle-medicinal-products_en.pdf



28. European Medicines Agency - EMA. Reflection paper on the data requirements for intravenous liposomal products developed with reference to an innovator liposomal product. London: EMA; 2013[acesso 19 set 2018]. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-data-requirements-intravenous-liposomal-products-developed-reference-innovator_en-0.pdf
29. European Medicines Agency - EMA. Reflection paper on surface coatings: general issues for consideration regarding parenteral administration of coated nanomedicine products. London: EMA; 2013[acesso 19 set 2018]. Disponível em: https://etp-nanomedicine.eu/wp-content/uploads/2018/10/reflection-paper-surface-coatings-general-issues-consideration-regarding-parenteral-administration_en.pdf
30. European Medicines Agency - EMA. Reflection paper on non-clinical studies for generic nanoparticle iron medicinal product applications. London: EMA; 2011[acesso 19 set 2018]. Disponível em: https://etp-nanomedicine.eu/wp-content/uploads/2018/10/reflection-paper-non-clinical-studies-generic-nanoparticle-iron-medicinal-product-applications_en.pdf
31. European Medicines Agency - EMA. Reflection paper on the data requirements for intravenous iron-based nano-colloidal products developed with reference to an innovator medicinal product. London: EMA; 2015[acesso 19 set 2018]. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-data-requirements-intravenous-iron-based-nano-colloidal-products-developed_en.pdf
32. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Portaria Nº 1.358, de 20 de agosto de 2014. Institui o comitê interno de nanotecnologia da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) e dá outras providências. Diário Oficial União. 21 ago 2014.
33. Brasil. Projeto de lei Nº 880, de 19 de fevereiro de 2019. Cria o marco legal da nanotecnologia e estabelece incentivos ao desenvolvimento científico, pesquisa, capacitação e inovação no âmbito da nanotecnologia. Diário do Senado Federal. 20 fev 2019.
34. Brasil. Projeto de lei complementar Nº 23, de 12 de fevereiro de 2019. Altera a lei complementar Nº 123, de 14 de dezembro de 2006 a fim de incentivar a pesquisa e desenvolvimento da nanotecnologia no Brasil. Diário do Senado Federal. 13 fev 2019.
35. Brasil. Projeto de lei Nº 683, de 12 de fevereiro de 2019. Confere ao município de Florianópolis, SC o título de capital nacional da nanotecnologia e novos materiais. Diário do Senado Federal. 18 jun 2019.
36. Brasil. Projeto de lei Nº 6.741, de 11 de novembro de 2013. Dispõe sobre a política nacional de nanotecnologia, a pesquisa, a produção, o destino de rejeitos e o uso da nanotecnologia no país, e dá outras providências. Diário do Congresso Nacional. 11 nov 2013.
37. Brasil. Projeto de lei Nº 5.133, de 13 de março de 2013. Regulamenta a rotulagem de produtos da nanotecnologia e de produtos que fazem uso da nanotecnologia. Diário do Congresso Nacional. 14 mar 2013.
38. Brasil. Projeto de lei Nº 5.076, de 18 de abril de 2005. Dispõe sobre a pesquisa e o uso da nanotecnologia no país, cria comissão técnica nacional de nanosseguurança - CTNano, institui fundo de desenvolvimento de nanotecnologia - FDNano, e dá outras providências. Diário do Congresso Nacional. 19 abr 2005.
39. Brasil. Projeto de lei Nº 131, de 12 de maio de 2010. Altera o decreto-lei Nº 986, de 21 de outubro de 1969, que institui normas básicas sobre alimentos, e a lei Nº 6.360, de 23 de setembro de 1976, que dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos, e dá outras providências, para determinar que rótulos, embalagens, etiquetas, bulas e materiais publicitários de produtos elaborados com recurso à nanotecnologia contenham informação sobre esse fato. Diário do Senado Federal. 2 out 2013.
40. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos. Brasília: Anvisa; 2013[acesso 18 jul 2017]. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33836/2492465/Guia+para+a+Condu%C3%A7%C3%A3o+de+Estudos+N%C3%A3o+Cl%C3%ADnicos+de+Toxicologia+e+Seguran%C3%A7a+Farmacol%C3%B3gica+Necess%C3%A1rios+ao+Desenvolvimento+de+Medicamentos+-+Vers%C3%A3o+2/a8cad67c-14c8-4722-bf0f-058a3a284f75>
41. Organisation for Economic Co-operation and Development - OECD. Database on research into the safety of manufactured nanomaterials. Paris: OECD; 2009[acesso 25 mar 2017]. Disponível em: <http://webnet.oecd.org/NANOMATERIALS/Pagelet/Front/Default.aspx>
42. Nel A, Xia T, Meg H, Wang X, Lin S, Ji Z et al. Nanomaterial toxicity testing in the 21st century: use of a predictive toxicological approach and high-throughput screening. *Acc Chem Res.* 2013;46(3):607-21. <https://doi.org/10.1021/ar300022h>
43. Jones CF, Grainger DW. *In vitro* assessments of nanomaterial toxicity. *Adv Drug Deliv Rev.* 2009;61(6):438-56. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.03.005>
44. Powers KW, Palazuelos M, Moudgil BM, Roberts SM. Characterization of the size, shape and state of dispersion of nanoparticles for toxicological studies. *Nanotoxicology.* 2007;1(1):42-51. <https://doi.org/10.1080/17435390701314902>
45. Warheit DB. How meaningful are the results of nanotoxicity studies in the absence of adequate material characterization? *Toxicol Sci.* 2008;101(2):183-5. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfm279>
46. Sayes CM, Warheit DB. Characterization of nanomaterials for toxicity assessment. Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol. 2009;1(6):660-70. <https://doi.org/10.1002/wnan.58>



47. Berhanu D. Characterisation of carbon nanotubes in the context of toxicity studies. *Environ Health*. 2009;8(Suppl 1):1-4. <https://doi.org/10.1186/1476-069X-8-S1-S3>
48. Oberdorster G. Safety assessment for nanotechnology and nanomedicine: concepts of nanotoxicology. *J Intern Med*. 2010;267(1):89-105. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2009.02187.x>
49. Landsiedel R, Kapp MD, Schulz M, Wiench K, Oesch F. Genotoxicity investigations on nanomaterials: methods, preparation and characterization of test material, potential artifacts and limitations: many questions, some answers. *Mutat Res*. 2009;681(2-3):241-58. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2008.10.002>
50. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144(5):646-74. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
51. Unger RE, Halstenberg S, Sartoris A, Kirkpatrick CJ. Human endothelial and osteoblast co-cultures on 3D biomaterials. *Methods Mol Biol*. 2011;695:229-41. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-984-0_15
52. Huang K, Ma H, Liu J, Huo S, Kumar A, Wei T et al. Size-dependent localization and penetration of ultrasmall gold nanoparticles in cancer cells, multicellular spheroids, and tumors in vivo. *ACS Nano*. 2012;6(5):4483-93. <https://doi.org/10.1021/nn301282m>
53. Mitra M, Mohanty C, Harilal A, Maheswari UK, Sahoo SK, Krishnakumar S. A novel *in vitro* three-dimensional retinoblastoma model for evaluating chemotherapeutic drugs. *Mol Vis*. 2012;18:1361-78.
54. Godugu C, Patel AR, Andey T, Sams A, Singh M. AlgMatrix based 3D cell culture system as an *in-vitro* tumor model for anticancer studies. *PLoS One*. 2013;8(1):1-13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053708>
55. Ong KJ, MacCormack TJ, Clarck RJ, Ede JD, Ortega VA, Felix LC et al. Widespread nanoparticle-assay interference: implications for nanotoxicity testing. *PLoS One*. 2014;9(3):1-9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090650>
56. Monteiro-Riviere HA, Inman AO. Challenges for assessing carbon nanomaterial toxicity to the skin. *Carbon*. 2006;44(6):1070-8. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2005.11.004>
57. Casey A, Herzog E, Davoren M, Lyng FM, Byrne HJ, Chambers G. Spectroscopic analysis confirms the interactions between single walled carbon nanotubes and various dyes commonly used to assess cytotoxicity. *Carbon*. 2007;45(7):1425-32. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2007.03.033>
58. Doak SH, Griffiths SM, Manshian B, Singh N, Williams PM, Brown AP et al. Confounding experimental considerations in nanogenotoxicology. *Mutagenesis*. 2009;24(4):285-93. <https://doi.org/10.1093/mutage/geb010>
59. Monteiro-Riviere NA, Inman AO, Zhang LW. Limitations and relative utility of screening assays to assess engineered nanoparticle toxicity in a human cell line. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2009;234(2):222-35. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2008.09.030>
60. Wörle-Knirsch JM, Pulskamp K, Krug HF. Oops they did it again! Carbon nanotubes hoax scientists in viability assays. *Nano Lett*. 2006;6(6):1261-8. <https://doi.org/10.1021/nl060177c>
61. Kroll A, Pillukat MH, Hahn D, Schnekenburger J. Current *in vitro* methods in nanoparticle risk assessment: limitations and challenges. *Eur J Pharm Biopharm*. 2009;72(2):370-7. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2008.08.009>
62. Kroll A, Dierker C, Rommel C, Hahn D, Wohlleben W, Schulze-Isfort C et al. Cytotoxicity screening of 23 engineered nanomaterials using a test matrix of ten cell lines and three different assays. *Part Fibre Toxicol*. 2011;8:1-19. <https://doi.org/10.1186/1743-8977-8-9>

Contribuição dos Autores

Tobler JP - Planejamento (desenho do estudo), aquisição, análise, interpretação dos dados e redação do trabalho. Rocha HVA - Concepção, e redação do trabalho. Todos os autores aprovaram a versão final do trabalho.

Conflito de Interesse

Os autores informam não haver qualquer potencial conflito de interesse com pares e instituições, políticos ou financeiros deste estudo.



Esta publicação está sob a licença Creative Commons Atribuição 3.0 não Adaptada.
Para ver uma cópia desta licença, visite http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/deed.pt_BR.