

GRAZIELLA ANSELMO JOANITTI
PAULO CÉSAR DE MORAIS E
RICARDO BENTES DE AZEVEDO (ORG.)

NANOTECNOLOGIA: CONSIDERAÇÕES EM MATERIAIS, SAÚDE E MEIO AMBIENTE

EDITORA
UnB 60 



Universidade de Brasília

**Reitora
Vice-Reitor**

Márcia Abrahão Moura
Enrique Huelva

EDITORA



UnB

Diretora


Germana Henriques Pereira

Conselho editorial

Germana Henriques Pereira (Presidente)
Fernando César Lima Leite
Ana Flávia Magalhães Pinto
Andrey Rosenthal Schlee
César Lignelli
Gabriela Neves Delgado
Guilherme Sales Soares de Azevedo Melo
Liliane de Almeida Maia
Mônica Celeida Rabelo Nogueira
Roberto Brandão Cavalcanti
Sely Maria de Souza Costa

GRAZIELLA ANSELMO JOANITTI
PAULO CÉSAR DE MORAIS E
RICARDO BENTES DE AZEVEDO (ORG.)

NANOTECNOLOGIA: CONSIDERAÇÕES EM MATERIAIS, SAÚDE E MEIO AMBIENTE

EDITORA
UnB 60 

Coordenação de produção editorial

Preparação e revisão

Diagramação

Equipe editorial

Marília Carolina de Moraes Florindo

Gabriela Artemis

Bruno Ribeiro Soares

© 2022 Editora Universidade de Brasília

Direitos exclusivos para esta edição:

Editora Universidade de Brasília

Centro de Vivência, Bloco A - 2ª etapa, 1ª andar

Campus Darcy Ribeiro, Asa Norte, Brasília/DF

CEP: 70910-900

Site: www.editora.unb.br

E-mail: contato.editora@unb.br

Todos os direitos reservados.

Nenhuma parte desta publicação poderá ser armazenada ou reproduzida por qualquer meio sem a autorização por escrito da Editora.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade de Brasília - BCE/UNB)

N186 Nanotecnologia : considerações em materiais, saúde e meio ambiente / Graziella Anselmo Joanitti, Paulo César de Moraes e Ricardo Bentes de Azevedo (organizadores). – Brasília : Editora Universidade de Brasília, 2022.
517 p.

ISBN 978-65-5846-109-8 .

1. Nanomedicina. 2. Nanotecnologia. 3. Nanociência. 4. Materiais nanoestruturados. I. Joanitti, Graziella Anselmo (org.). II. Moraes, Paulo César de (org.). III. Azevedo, Ricardo Bentes de (org.).

CDU 57:61

Rhuama Barbosa do Carmo - CRB 1/3060



Associação Brasileira
das Editoras Universitárias

Sumário

Introdução	7
-------------------------	----------

PARTE I

MATERIAIS - SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOESTRUTURAS

Capítulo 1	11
-------------------------	-----------

Nanopartículas de ouro: métodos clássicos de obtenção e caracterização

Claire N. Lunardi, Fellipy S. Rocha e Anderson J. Gomes
Universidade de Brasília

Capítulo 2	45
-------------------------	-----------

Nanoemulsões: preparação, características e estabilidade

Lucas C. Silva, Leonardo O. B. Silva e Graziella A. Joanitti
Universidade de Brasília

Capítulo 3	77
-------------------------	-----------

Lipossomas e suas aplicações

Jaqueline R. Da Silva, Jaqueline V. Oliveira e Victor Hugo S Araujo
Universidade de Brasília

Capítulo 4	101
-------------------------	------------

Síntese verde de nanomateriais

Luciano P. Silva, Beatriz S. Carvalho, Cíntia C. Bonatto, Júlia M. Pupe,
Tatiane M. Pereira e Thalita F. Araujo
EMBRAPA, Universidade de Brasília e Tecsinapse

Capítulo 5	174
-------------------------	------------

Microscopia eletrônica de transmissão e de varredura como ferramentas de caracterização de nanossistemas

Tatiane Oliveira dos Santos e Renata Montenegro Igo
Universidade Federal de Goiás e Universidade Positivo

PARTE II

APLICAÇÕES EM SAÚDE

Capítulo 6	220
-------------------------	------------

Aplicações da nanotecnologia em câncer

Marcela G. Landim, Alicia S. Ombredane e Graziella A. Joanitti
Universidade de Brasília

Capítulo 7	266
Magneto-hipertermia aplicada ao tratamento do câncer Ailton Sousa-Junior, Harley Rodrigues, Marcus Carrião, Elisângela Silveira-Lacerda e Andris Bakuzis <i>Universidade Federal de Goiás e Instituto Federal de Goiás</i>	
Capítulo 8	308
Aplicações da nanotecnologia em tratamentos antivirais Andréia C. Pinheiro, Beatriz C. A. O. Faria, Patrícia L. Costa, Marília F. Calmon e Graziella A. Joanitti <i>Universidade de Brasília e Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”</i>	
Capítulo 9	356
Nanotecnologia aplicada para tratamentos de cicatrização e regeneração tecidual Marcella L. B. Carneiro, Glécia V. S. Luz, Christian R. Q. Quijia, Thamís F. Santana, Luna A. N. de Carvalho e Lourdes M. Brasil <i>Universidade de Brasília</i>	
Capítulo 10	402
Aplicação oftalmológica da nanotecnologia Maíra N. Pereira, Marcílio Cunha-Filho, Tais Gratieri e Guilherme M. Gelfuso <i>Universidade de Brasília</i>	
Capítulo 11	436
Aplicações da nanotecnologia em desordens e patologias cutâneas Patrícia Mazureki Campos, Fabíola Silva Garcia Praça e Marcelo Henrique Kravicz <i>Universidade Estadual de Ponta Grossa, Universidade de São Paulo e Universidade de Milano-Bicocca</i>	
<hr/>	
PARTE III	
MEIO AMBIENTE	
Capítulo 12	479
Nanotecnologias para descontaminação de águas Alex Fabiano Cortez Campos <i>Universidade de Brasília</i>	
Conclusão	513
Sobre os Organizadores	516

PARTE II

APLICAÇÕES EM SAÚDE

CAPÍTULO 6

Aplicações da Nanotecnologia na prevenção, no diagnóstico e no tratamento do câncer

Marcela G. Landim¹, Alicia S. Ombredane¹, Graziella A. Joanitti^{1,2,*}

1. Introdução

O câncer consiste em dezenas de doenças, que possuem como característica comum serem oriundas de uma ou mais célula(s) com funcionamento anormal, capaz(es) de se replicar(em) incontrolavelmente, muitas vezes formando uma massa tumoral, e com potencial metastático¹. A formação do câncer, a carcinogênese, é geralmente considerada de progressão lenta, e os primeiros sintomas podem levar anos antes de surgirem. Esse processo ocorre a partir de mutações em células saudáveis após exposição prolongada a agentes carcinógenos químicos, físicos e/ou biológicos (por exemplo: tabagismo, alcoolismo, substâncias químicas intercalantes de DNA, estresse oxidativo, asbestos, aflatoxinas, radiação ultravioleta e ionizante, expressão de oncogenes, fatores de crescimento, infecções virais ou bacterianas, envelhecimento celular, entre outros)¹. Se a exposição aos agentes carcinógenos é interrompida, as mutações podem ser revertidas por um mecanismo de ação do próprio organismo. Entretanto, em alguns casos, as mutações persistem, levando ao desenvolvimento progressivo do tumor por múltiplas etapas — iniciação, promoção e progressão¹ (**Figura 1**). Após

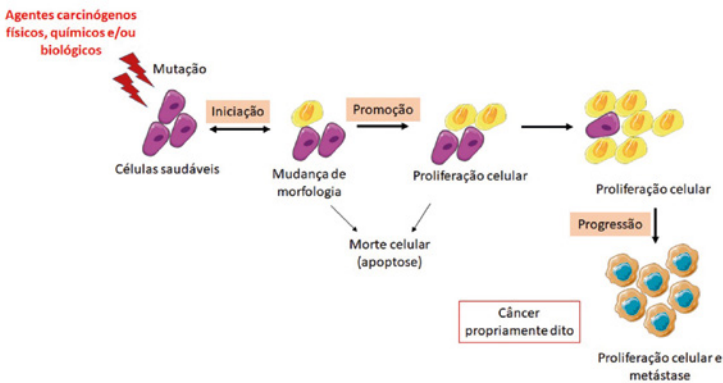
1. Instituto de Biologia, Universidade de Brasília, Brasil

2. Faculdade de Ceilândia, Universidade de Brasília, Brasil

*E-mail: gjoanitti@unb.br

exposição prolongada a agentes carcinógenos físicos, químicos e/ou biológicos, células saudáveis sofrem mutações e ocorrem mudanças na morfologia celular (iniciação). Nessa fase, as mutações são reversíveis e o mecanismo de morte celular ainda funciona. Se a exposição aos carcinógenos é prolongada, mutações permanecem irreversíveis e são transmitidas às células filhas por replicação do DNA defeituoso (promoção). A proliferação celular continua até iniciar o processo de invasão e metástase para tecidos adjacentes ou distantes da massa tumoral inicial (progressão). O câncer maligno, propriamente dito, é formado.

Figura 1. Esquema ilustrando as fases da carcinogênese: iniciação, promoção e progressão. Nota: figura criada com imagens de domínio público, obtidas do *Servier Medical Art*



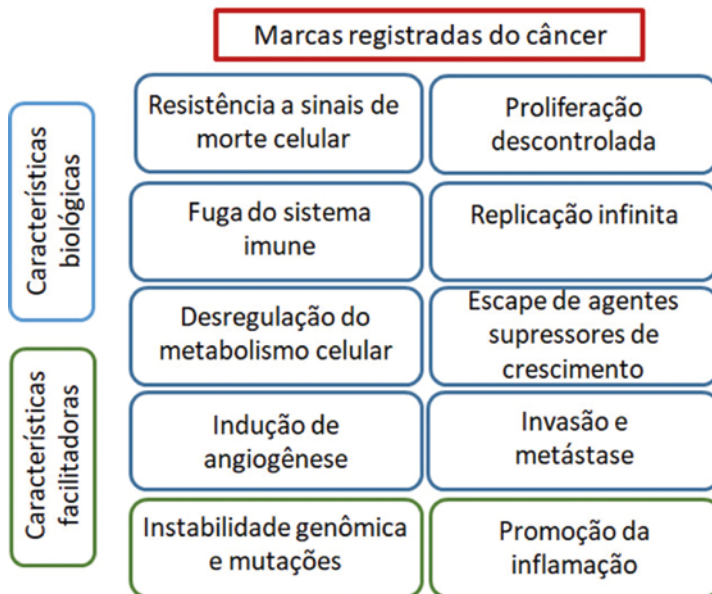
Fonte: elaborada pelos autores.

Além disso, o tecido tumoral precisa adquirir várias características biológicas, conhecidas como “marcas registradas” do câncer (*Hallmarks* — termo empregado em inglês) para se desenvolver, progredir e persistir no organismo. Hanahan e Weinberg (2011) relataram oito características biológicas e duas características “facilitadoras” à progressão do tumor² (**Figura 2**).

Dados da Organização Mundial da Saúde³ apontam que no ano de 2015 as mortes globais, devido à totalidade de cânceres, ultrapassaram

a marca de 8,8 milhões de vítimas, ficando atrás apenas das mortes causadas por doenças cardiovasculares. Os tipos de câncer que mais mataram foram: de pulmão, de fígado, colorretal, de estômago e de mama, em ordem decrescente³.

Figura 2. “Marcas registradas” do câncer. Representação das características biológicas do câncer necessárias para o seu desenvolvimento, progressão e persistência no organismo. As marcas do câncer são classificadas em oito características biológicas complementares (azuis) e duas características facilitadoras à progressão tumoral (verdes)



Fonte: elaborada pelos autores.

Com isso, evidencia-se a importância de se traçarem estratégias de prevenção, diagnóstico e tratamento de neoplasias, considerando que são inestimáveis os danos sociais e econômicos causados por essas patologias. Algumas das estratégias de prevenção são simples de se adotar e amplamente conhecidas: combater o tabagismo e o alcoolismo; manter uma dieta equilibrada e rica em fibras, frutas e vegetais;

praticar atividades físicas regularmente; passar por exames de rotina (mamografia, ecografias, colposcopia, autoexame das mamas); vacinar-se contra doenças infecciosas (principalmente HPV e hepatites); evitar excesso de exposição solar; usar filtro solar, entre outras⁴.

Embora muitos cânceres possam ser prevenidos, alguns são oriundos de oncogenes e mutações herdadas ou adquiridas. Portanto, a detecção precoce da doença é primordial para aumentar as chances de remissão total. Contudo, o diagnóstico é geralmente realizado após o surgimento dos primeiros sintomas, quando o tumor já está em fase mais avançada^{1,2,4}. Dessa forma, cuidar da saúde e realizar exames de rotina são atitudes simples que favorecem a prevenção e/ou detecção precoce de um tumor. Os diagnósticos convencionais consistem de testes citológicos (hemograma) e histopatológicos (biópsia), tomografia computadorizada e imageamento por ressonância magnética; sendo que cada tipo de exame de diagnóstico possui uma determinada sensibilidade e limitação^{2,4}. Paralelamente, os tratamentos convencionais demonstram resultados satisfatórios quando o tumor é detectado em fase precoce. A cirurgia, a quimioterapia e a radioterapia são amplamente utilizadas no combate aos tumores malignos. Porém, elas são responsáveis por diversos efeitos adversos (morte de células saudáveis, irritação no local da aplicação, recorrência do tumor, alopecia, entre outros), que prejudicam a qualidade de vida dos pacientes^{2,4}. Além disso, células tumorais podem apresentar resistência aos tratamentos supracitados, como já foi observado em diversos tipos de câncer^{5,6}. Diante desse cenário, a busca por novas estratégias de prevenção, diagnóstico e terapia tornou-se uma necessidade.

O uso da nanotecnologia no diagnóstico e/ou no tratamento do câncer evidenciou várias vantagens, devido às propriedades físico-químicas das nanoestruturas. Materiais na escala nanométrica, ou seja, em que pelo menos uma de suas dimensões esteja entre 1 e 100 nanômetros⁷, apresentam propriedades distintas em escala macrométrica: maior razão entre área de superfície/volume, maior reatividade, coloração diferenciada, fluorescência, condutividade elétrica, entre outras. Além

disso, cada nanoestrutura pode apresentar características próprias, devido à sua composição, ao tamanho e ao formato (ver Parte I do livro).

Ao longo deste capítulo, o uso da nanotecnologia na prevenção, no diagnóstico e/ou no tratamento do câncer será abordado. Além disso, as formas de entrega e internalização celular de nanoestruturas serão discutidas, assim como o processo e os desafios da comercialização de medicamentos nanotecnológicos.

2. Formas de entrega de nanoestruturas na região tumoral

A quimioterapia corresponde a um dos tratamentos mais empregados para combater o câncer. Contudo, o uso de quimioterápicos, moléculas administradas no paciente por via parenteral (intravenosa, por exemplo), na maioria das vezes, apresenta várias limitações. De fato, apenas uma pequena proporção do quimioterápico atinge o tumor (sítio alvo) enquanto o restante é distribuído em outros tecidos do organismo. Sendo assim, geralmente uma dosagem maior de quimioterápico é aplicada no paciente, visando aumentar a concentração deste no tumor. Contudo, como tecidos saudáveis também são expostos, esse tipo de tratamento torna-se inespecífico e leva à morte de células saudáveis com o surgimento de diversos efeitos adversos — alopecia (queda de cabelo e de pelos), vômito, fraqueza, entre outros^{8,9}. A nanotecnologia pode contornar essas limitações, permitindo a entrega do quimioterápico na região tumoral com maior especificidade, sem a necessidade de aumentar a concentração deste, minimizando, assim, a exposição de tecidos saudáveis e os efeitos adversos associados a essa terapia.

Portanto, o estudo aprofundado das características tumorais é fundamental para que se determine a melhor forma de administração e entrega de nanoestruturas para uma região tumoral específica. Além

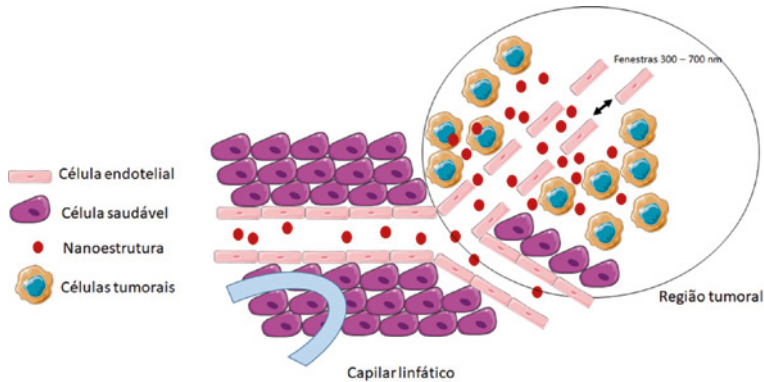
disso, esse entendimento permite a elaboração de nanomateriais mais adequados, com controle de algumas propriedades, tais como o tamanho, a carga, o formato, propriedade de superfície, entre outras. De modo geral, existem dois tipos de entrega de nanomateriais em células tumorais: passiva e ativa.

2.1 Entrega Passiva

Pode-se conceituar como entrega passiva de fármacos aquela que depende apenas de características inerentes à anatomia e à fisiologia do sítio tumoral, não sendo direcionada por meio de afinidades específicas do fármaco com a célula tumoral. Os nanomateriais elaborados para uma entrega passiva são comumente considerados de primeira geração. Alguns medicamentos nanotecnológicos já comercializados são baseados nessa entrega passiva: o Doxil[®]/Caelyx[®] (doxorubicina lipossomal) e o Abraxane[®] (paclitaxel nanoencapsulado)^{10,11}.

A angiogênese é o processo de formação de novos vasos sanguíneos, que permite a chegada de oxigênio e nutrientes na região tumoral e, assim, possibilita o seu crescimento. Entretanto, no câncer, esse processo ocorre rapidamente e apresenta defeitos, tais como a formação de capilares largos e janelas de 300 nm a 700 nm¹². Além disso, o tumor apresenta baixo retorno venoso e drenagem linfática ineficiente. Todas essas características tumorais são conhecidas como efeito EPR (do inglês *Enhanced Permeability and Retention*, que significa “permeabilidade e retenção aumentada”), ilustrado na **Figura 3**. Esse efeito consiste no acúmulo preferencial de nanoestruturas na região tumoral por meio das janelas dos vasos, e permanecem no local por um longo período, permitindo, assim, maior eficiência. Contudo, apesar de o efeito EPR minimizar efeitos adversos associados ao tratamento, ele não impede o acúmulo de nanoestruturas em outros órgãos que apresentam janelas endoteliais, tais como o fígado e baço¹⁰. Além disso, a heterogeneidade do tumor pode dificultar uma biodistribuição homogênea das nanoestruturas para toda a região tumoral, o que reduz a especificidade desse tipo de entrega.

Figura 3. Efeito de Retenção e Permeabilidade Aumentada (EPR) como estratégia de entrega passiva de nanofármacos. A presença de fenestras de 300 nm a 700 nm permite o acúmulo preferencial de nanoestruturas no tecido tumoral. Além disso, o baixo retorno venoso e a drenagem linfática ineficiente contribuem para a entrega passiva de nanoestruturas na região tumoral. Nota: figura criada com imagens de domínio público obtidas do *Servier Medical Art*



Fonte: elaborada pelos autores.

Outro fator intrínseco do sítio tumoral e que também facilita a liberação de fármacos nanoencapsulados é o seu microambiente ácido. Devido ao elevado metabolismo das células neoplásicas, estas passam a realizar respiração anaeróbia, produzindo ácido láctico e ácido carbônico. Além disso, um acúmulo de íons H^+ é promovido pela baixa drenagem linfática¹³. Essa diminuição do pH colabora para a desestabilização de nanoestruturas, como micelas poliméricas e de polimerossomos, promovendo a liberação dos seus conteúdos no local do câncer, como descrito no trabalho de Huang e colaboradores (2015). Eles elaboraram micelas compostas por triblocos poliméricos (PEG-PAU-PEG) carregando o quimioterápico doxorrubicina (DOX), que liberaram até 96% do fármaco encapsulado dentro de 48 horas de exposição a um ambiente ácido (pH 4)¹⁴. De modo similar, Hu e sua equipe (2013) criaram uma nanopartícula com núcleo de hidrogel e DOX, e casca de sílica mesoporosa, com atividade anticâncer de mama (MCF-7), que também foi responsiva ao pH ácido, liberando a DOX contida no núcleo¹⁵.

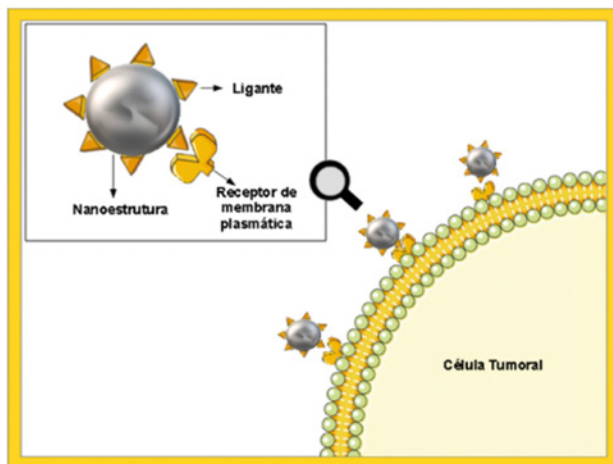
Embora suas características sugiram uma forma de entrega eficiente, o efeito EPR é bastante limitado. Segundo Wilhelm e colaboradores (2016), menos de 1% dos sistemas nanoestruturados chegam aos tumores que possuem alto efeito EPR¹⁶. Entretanto, de modo geral, a nanoencapsulação de fármacos aumenta a eficiência de entrega e a retenção no sítio tumoral, se comparada com a administração do fármaco livre¹¹.

Dessa forma, nanoestruturas ditas de segunda geração representam alternativa à entrega passiva¹⁰. Essa classe de nanoestruturas possui superfícies funcionalizadas por moléculas específicas, que aumentam a especificidade e a eficiência da entrega do fármaco de interesse, como será visto a seguir.

2.2 Entrega ativa

A entrega ativa consiste em uma entrega direcionada de nanoestruturas por meio da funcionalização de suas superfícies com ligantes (anticorpos, ácido fólico, carboidratos, peptídeos, proteínas, oligonucleotídeos, entre outros) de receptores presentes na célula tumoral, como ilustrado na **Figura 4**. Essa estratégia baseia-se nas relações de afinidade, geradas por atração química e/ou eletrostática (interações entre cargas, forças de van der Waals, afinidade química, polaridade...) entre moléculas complementares, como anticorpo-antígeno, receptores-ligantes e enzima-substrato^{10,17}.

Figura 4. Entrega ativa de nanoestruturas, mediada por ligantes que reconhecem, especificamente, receptores de membrana da célula tumoral. Nota: figura criada com imagens de domínio público obtidas do *Servier Medical Art*



Fonte: elaborada pelos autores.

Para que a entrega de nanoestruturas por via ativa seja eficiente, é importante que elas possuam baixa afinidade por células saudáveis e que permaneçam estáveis por tempo suficiente para evitar degradação precoce, interação com proteínas não específicas presentes na corrente sanguínea e o processo de opsonização¹⁰. A superfície de alguns tipos de células tumorais apresenta moléculas específicas, denominadas biomarcadores, que facilitam a sua detecção. Assim, considerando a presença e a natureza desses biomarcadores, a funcionalização específica de nanoestruturas permite aumentar a sua afinidade e a interação com o tecido tumoral, e, conseqüentemente, melhorar a sua eficiência. Alguns exemplos de biomarcadores tumorais são mencionados a seguir.

Os receptores de folato são biomarcadores intensamente expressos em diversos cânceres, como de ovário, mama, cervical, fígado, pulmão, colorretal e cérebro. Eles estão presentes, também, em tecidos sau-

dáveis (placenta, pulmão, fígado e plexo coroide), porém, em menor quantidade e apenas na parte apical das células, diminuindo os riscos de interação com células saudáveis¹⁷. Nanocápsulas poliméricas de poli-lactato-co-glicolato (PLGA), contendo um núcleo de quercetina e conjugadas a polietilenoglicol (PEG) e moléculas de folato, apresentaram efeito citotóxico com cerca de 40% de redução da viabilidade celular, *in vitro*, em células HeLa (câncer cervical humano). Além disso, houve maior captação *in vivo* em HeLa e em IGROV-1 (células de câncer ovariano humano), quando comparado com a quercetina livre e nanocápsulas sem PEG e/ou sem folato¹⁸.

Outro biomarcador encontrado em maior quantidade em tecidos tumorais, como colorretal, cérebro, mama, ovário, pâncreas e próstata, são os receptores de fator de crescimento epidérmico (EGFR). Esses receptores são conhecidos por estimular o crescimento tumoral e o processo de metástase^{19,20}. Nanoesferas de ouro revestidas por aptâmeros (pequenas moléculas de RNA/DNA) e anticorpo demonstraram maior afinidade por receptores de fator de crescimento epidérmico, presentes em células tumorais de cabeça e pescoço, quando comparado com nanoesferas sem revestimento, *in vitro* e *in vivo*²¹.

Receptores de transferrina são considerados biomarcadores de algumas células de câncer de cólon, por apresentarem intensa expressão na superfície destas. Nanocápsulas de H-ferritina contendo doxorubicina (HF_n-DOX, 12 nm de diâmetro) foram formuladas por Liang e colaboradores (2014) para avaliar a inibição da viabilidade celular de células de câncer de cólon (HT-29). A nanoencapsulação de elevadas concentrações de doxorubicina dentro da casca de ferritina aumentou em mais de 10 vezes a captação de HF_n-DOX pelas células HT-29 *in vitro* e resultou em um efeito inibitório significativo sobre a massa tumoral *in vivo*, quando comparado aos camundongos BALB/c tratados com PBS, doxorubicina livre, doxorubicina lipossomal (Doxil) ou nanocápsulas de HF_n vazias²².

Receptores transmembrana do tipo integrina possuem papel fundamental na adesão e migração celular, assim como na regulação do citoesqueleto. Em células tumorais de carcinoma de células escamosas da cavidade oral (HSC-3), esses receptores apresentam papel na regulação do processo de metástase. Portanto, nanopartículas de ouro acopladas ao peptídeo RGD (arginina-glicina-ácido aspártico), que possui expressiva afinidade por receptores de integrina, foram capazes de inibir a migração celular e, conseqüentemente, controlar a metástase *in vitro*²³. Além disso, receptores do tipo integrina podem ser alvo de nanomateriais elaborados para diagnóstico de câncer. Pontos quânticos de sulfeto de prata, acoplados ao peptídeo arginina-glicina-ácido aspártico-(D)-fenilalanina-lisina (molécula com afinidade para receptor integrina), demonstraram maior acúmulo na região tumoral (câncer de mama) após administração pela veia da cauda, *in vivo*, permitindo a sua detecção por técnicas de imagens²⁴.

Esses estudos são apenas uma pequena amostra dos exemplos de nanomateriais funcionalizados, que realizam entrega ativa de moléculas para o diagnóstico e/ou tratamento de carcinomas, tanto *in vitro* como *in vivo*, e demonstram possibilidades de terapias inovadoras e promissoras.

2.2 Internalização e destino intracelular

A entrega de nanoestruturas na região tumoral, como visto anteriormente, é apenas a parte preliminar do seu caminho no organismo. Elas podem interagir com componentes da membrana plasmática e serem internalizadas pela célula. Contudo, a internalização não é sempre necessária. De fato, uma nanoestrutura presente no microambiente tumoral pode liberar o seu conteúdo, constituído por moléculas pequenas, tais como doxorrubicina, que podem atravessar a membrana plasmática por difusão simples¹⁰. Entretanto, a internalização permanece de maior interesse e pode ocorrer de forma passiva (simples difusão, microinjeção ou eletroporação) ou de forma ativa por meio de mecanismos de endocitose²⁵.

É fundamental lembrar que as características físico-químicas de nanomateriais (tamanho, formato e propriedades de superfície) interferem no processo de internalização. Vários estudos investigaram a influência do tamanho da nanoestrutura na internalização. Foi relatado que uma mesma nanopartícula é mais bem internalizada quando possui tamanho maior. Por exemplo, uma nanoestrutura é mais bem internalizada quando apresenta tamanho de 17 nm em vez de 4 nm. Igualmente, a nanopartícula de 98 nm é mais bem internalizada por células de carcinoma cervical (HeLa) e de pele melanoma (A549) em comparação com a nanopartícula de 26 nm. Além disso, nanoestruturas com carga positiva apresentam maior internalização de que nanopartículas negativas²⁵. Portanto, controlando essas características, é possível direcionar o mecanismo de internalização e a sublocalização celular²⁶. Adicionalmente, Behzadi e colaboradores (2017) descrevem que uma nanoestrutura pode ser internalizada por meio de mecanismos distintos, de acordo com o tipo celular²⁵. Dessa forma, as características celulares e biológicas também devem ser consideradas antes da aplicação de nanoestrutura. A via de internalização, bem como o destino das nanoestruturas podem influenciar diretamente na ativação/funcionamento do composto bioativo/fármaco carregado e, consequentemente, em sua eficiência. Portanto, a compreensão dessas características contribui para a elaboração de um desenho racional de nanoestruturas ideais para aplicação na área de câncer^{25,26}.

Para melhor entendimento, diversos mecanismos de internalização e diferentes organelas de acúmulo de nanoestruturas são discutidos a seguir.

2.2.1 Mecanismos de internalização

As principais vias de internalização ocorrem por endocitose, classificadas em dois tipos, de acordo com o tipo celular e a natureza das moléculas envolvidas no processo: a fagocitose e a pinocitose (**Figura 5**)^{19,25}.

O processo de fagocitose ocorre normalmente em diversos tipos celulares, tais como macrófagos, monócitos, neutrófilos, células dendríticas, fibroblastos, células epiteliais e endoteliais, entre outras, e apresenta como principal objetivo a remoção de partículas estranhas, microrganismos infecciosos e células em senescência. Nanopartículas presentes no organismo podem ser fagocitadas por meio do reconhecimento de ligantes na sua superfície por receptores celulares superexpressos em tumores. A internalização de nanopartículas pode ocorrer, também, a partir da opsonização. Esse fenômeno consiste na adsorção de proteínas da corrente sanguínea na superfície dos nanomateriais. Em seguida, há interação dessas proteínas com receptores celulares, gerando a formação de vesículas (fagossomos) contendo os nanomateriais, que são levadas para dentro da célula. A fagocitose pode levar várias horas para acontecer e o mecanismo depende da natureza do nanomaterial e do tipo celular^{19, 25}.

A pinocitose é o processo de internalização mais comum, e é dividido em quatro subcategorias, de acordo com a molécula mediadora. A via de pinocitose mais estudada é denominada endocitose mediada por receptores de clatrina. Na maioria dos casos, nanoestruturas superiores a 200 nm são internalizadas por meio dessa via²⁷. Ela ocorre em região da membrana plasmática rica em clatrina, que representa em torno de 1% da superfície celular. Para a formação de vesículas que possuem de 100 nm a 150 nm, a membrana plasmática vai sofrer uma curvatura com auxílio de uma extensa maquinaria de proteínas (epsina, SNX9, anfifisina, entre outras). Uma desvantagem dessa via é que, geralmente, o conteúdo das vesículas é levado até os lisossomos, onde sofre degradação^{19, 25}. Portanto, essa via pode ser ineficiente para alguns tipos de nanoestruturas e é importante levar em consideração as propriedades dos nanomateriais, antes da aplicação. Nanopartículas magnéticas, acopladas com PEG e ácido fólico, demonstraram internalização em células de câncer cervical HeLa, via endocitose dependente de clatrina, com acúmulo maior em lisossomos. Em contrapartida, elas não foram internalizadas em células de câncer de mama MCF-7 e MDA-MB435. Porém, a atividade anticâncer não foi avaliada nesse caso²⁸.

Em outro estudo, a conjugação do peptídeo interleucina 13 (IL-13) às nanopartículas aumentou a internalização em células de glioma, por via de endocitose dependente de clatrina *in vitro* e *in vivo*. Além disso, a aplicação dessas nanoestruturas contendo doxorrubicina aumentou a taxa de sobrevivência de camundongos BALB/c²⁹.

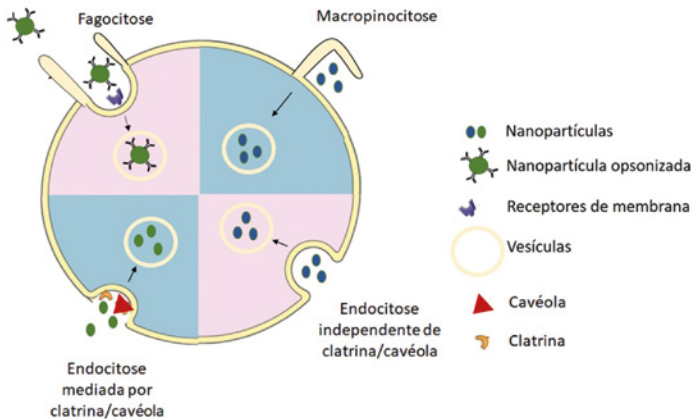
A pinocitose mediada por cavéolas apresenta papel fundamental em diversas atividades biológicas, tais como regulação de lipídios, ácidos graxos e sinalização celular. As cavéolas correspondem a uma curvatura da membrana plasmática, com a presença de várias proteínas, como a caveolina e a cavina. Essas proteínas ajudam na formação de vesículas (caveossomos), que apresentam em torno de 50 nm - 80 nm^{19,25,27}. Moléculas internalizadas por cavéolas podem escapar da degradação nos lisossomos, devido ao pH neutro dos caveossomos. Portanto, o conteúdo das vesículas é dirigido para outros compartimentos subcelulares, geralmente para o complexo de Golgi ou o retículo endoplasmático¹⁹.

A internalização pode ocorrer também por pinocitose, independente de clatrina e cavéola. Nesse caso, as células apresentam composição lipídica específica, principalmente colesterol^{19,25}. O ácido fólico é um exemplo de molécula que é internalizado por essa via. Portanto, nanoestruturas acopladas com ácido fólico possuem grande probabilidade de serem internalizadas por pinocitose, independente de receptor²⁵. Nanoestruturas lipossomais contendo o quimioterápico doxorrubicina foram internalizadas por via independente de clatrina e cavéola em células de carcinoma epitelial A375 e em células de hepatoma HepG2 *in vitro*³⁰.

Recentemente, a macropinocitose foi considerada como mais um mecanismo não específico de internalização de moléculas sem envolver proteínas ou lipídios. Esse processo consiste em rearranjo do citoesqueleto, permitindo formação de vesículas de 0,2 a 10 micrômetros por extensão da membrana plasmática (pseudópodos)^{19,26}. Microrganismos, tais como vírus e bactérias, são internalizados, principal-

mente via macropinocitose. Devido ao tamanho maior das vesículas (macropinosomo), nanoestruturas maiores podem ser internalizadas preferencialmente por essa via. Nanopartículas contendo doxorubicina foram internalizadas por células de glioma, via macropinocitose. A funcionalização da superfície dessas nanopartículas com peptídeo interleucina 13 levou a uma mudança de via de internalização²⁹.

Figura 5. Esquema ilustrando os diferentes mecanismos de internalização de nanoestruturas por endocitose: fagocitose; endocitose mediada por clatrina ou cavéola; endocitose independente de clatrina e cavéola; e macropinocitose. Nota: figura criada com imagens de domínio público obtidas do *Servier Medical Art*



Fonte: elaborada pelos autores.

2.2.2 Destino intracelular

Um fato interessante de se citar é que, além da seletividade por células tumorais, os nanomateriais elaborados recentemente podem apresentar especificidade por um compartimento subcelular. De fato, o acúmulo de nanoestruturas em um determinado compartimento intracelular está associado a um efeito anticâncer específico. Em outras palavras, o mecanismo de ação de uma determinada molécula depende da organela na qual ela é acumulada. Geralmente, o complexo de Golgi, o núcleo, o retículo endoplasmático, a mitocôndria e o lisossomo são os compartimentos intracelulares de maior acúmulo por nanomateriais^{25,26} (**Tabela 1**).

Tabela 1. Exemplos de nanoestruturas, mecanismo de internalização e destino intracelular em diversos tipos de câncer

Tipo de nanomaterial	Tipo de câncer	Tipo de internalização	Destino intracelular	Referência
Nanopartículas magnéticas com PEG e ácido fólico	Carcinoma cervical (HeLa)	Endocitose mediada clatrina	Lisossomo	[28]
Nanopartículas contendo doxorubicina	Glioblastoma (U87)	Macropinocitose	Macropinosomo	[29]
Nanopartículas acopladas a interleucina 13 contendo doxorubicina	Glioblastoma (U87)	Endocitose mediada por clatrina/fagocitose	Endossomo, fagossomo	[29]
Lipossoma contendo doxorubicina	Melanoma (A375) e hepatoma (HepG2)	Endocitose independente de receptor	Endossomo, lisossomo	[30]
Nanopartículas magnéticas com PEG FITC	Glioblastoma (U87)	-	Lisossomo	[31]
Nanopartículas de Timoquinona	Câncer de mama MCF-7 and MDA-MB-231	Endocitose mediada por caveolina e clatrina	Citoplasma e núcleo Endossomo e lisossomo	[32]

Fonte: elaborada pelos autores.

2.3 Aplicações da nanotecnologia na oncologia

2.3.1 Nanotecnologia e prevenção do câncer

De acordo com a Organização Mundial da Saúde³, metade dos cânceres podem ser prevenidos. A maioria das pessoas já ouviu falar de, pelo menos, uma das principais recomendações para prevenir o câncer, que incluem não fumar, manter alimentação saudável e peso corporal adequado, praticar atividade física, amamentar e realizar exames preventivos ginecológicos para mulheres, evitar bebida alcoólica e exposição ao sol entre as 10 horas e as 16 horas, vacinar contra o HPV, entre outros⁴. Provavelmente, a alimentação saudável é a recomendação mais explorada por cientistas e médicos. De fato, inúmeros livros sobre a dieta “anticâncer” podem ser encontrados nas livrarias. Apesar disso, 12,7 milhões de novos casos de câncer são ainda diagnosticados no mundo, por ano, o que leva pesquisadores a elaborarem novas estratégias para a prevenção dessa patologia³.

O conceito de quimioprevenção foi introduzido por Sporn e colaboradores, em 1976, e consiste no uso de moléculas capazes de reduzir o risco de desenvolvimento e/ou progressão do câncer³². Essas moléculas foram denominadas de “nutracêuticos” por Stephen L. Defelice, em 1989, combinação dos termos “nutrientes” e “farmacêuticos”, que representam qualquer substância encontrada em um alimento que apresenta benefício à saúde, incluindo prevenção de doenças³². Classificados em agentes bloqueadores e supressores, os nutracêuticos agem no início da carcinogênese, prevenindo mutações do DNA, inibindo a proliferação e a diferenciação celular e ativando vias de morte celular^{33,34,35}. Dentre as moléculas empregadas na quimioprevenção, tais como vitaminas, ácidos graxos, fenóis, carotenoides, probióticos e prebióticos, entre outros, cerca de 40% apresentam baixa dispersão em meio aquoso e, portanto, biodistribuição e biodisponibilidade reduzidas no organismo. Dessa forma, o uso da nanotecnologia levou ao surgimento do conceito de “nanoquímio-prevenção”, que corresponde, basicamente, no uso de nanopartículas como carreadores de compostos bioativos para prevenir o desenvolvimento do câncer³⁴.

O efeito preventivo do epigallocatequina-3-galato, polifenol do chá-verde, encapsulado em nanopartículas poliméricas à base de PLA-PEG e PLGA-PEG, foi avaliado em células normais e cancerosas de próstata. A atividade preventiva foi observada *in vitro* e *in vivo* com efeitos pró-apoptótico, antiproliferativo e inibidor da angiogênese^{36,37}. De acordo com Sibbiqui e colaboradores (2015, 2016), o encapsulamento do resveratrol (polifenol não flavonoide) e da curcumina (polifenol) em nanoestruturas é bastante estudado na prevenção de diversos tipos de câncer, como ovário, próstata, glioma, cabeça e pescoço e cólon^{33,34} **(Tabela 2)**. Apesar dos resultados promissores, poucos estudos investigam o uso da nanotecnologia na prevenção do câncer, privilegiando buscas para diagnóstico e tratamento, como é visto a seguir.

Tabela 2. Exemplos de nanoestruturas aplicadas para prevenção de câncer

Tipo de nanomaterial	Tipo de câncer	Molécula carregada	Mecanismo de ação	Referência
Nanopartículas poliméricas à base de PLA-PEG	Próstata	Epigallocatequina-3-galato (EGCG) (polifenol do chá-verde)	Antiproliferativo	[36]
Nanopartículas poliméricas à base de PLGA-PEG	Próstata	Epigallocatequina-3-galato	Pró-apoptótico e inibição da angiogênese	[37]
Lipossomo	Próstata	Resveratrol/ curcumina	Antiproliferativo	[33,34]
Nanopartícula de quitosana	Melanoma	Resveratrol/ curcumina/5-fluorouracil	Indução de apoptose	[33,34]

Fonte: elaborada pelos autores.

2.3.2 Nanotecnologia aplicada ao diagnóstico de câncer

O diagnóstico precoce do câncer é fundamental para obter maiores chances de remissão tumoral. Várias técnicas podem ser usadas, tais como testes citológicos (hemograma) e histopatológicos (biópsia), ultrassonografia, tomografia computadorizada e imageamento por ressonância magnética. Contudo, esses testes apresentam limitações de detecção e, muitas vezes, detectam o tumor já em fase de desenvolvimento avançada^{38,39}. Portanto, testes mais sensíveis e específicos precisam ser elaborados. Os nanomateriais também podem ser utilizados como marcadores/sensores em exames diagnósticos, possibilitando uma maior sensibilidade de detecção da região tumoral. Essa vantagem é particularmente importante no diagnóstico de tumores em estágios iniciais, possibilitando, conseqüentemente, um tratamento mais precoce e eficaz.

Um exemplo real de nanossensor para a detecção de múltiplos cânceres foi prototipado por Peng e colaboradores (2010). É constituído de nanopartículas de ouro, arranjadas de forma circular sobre 10 pares de eletrodos de ouro dispostos de forma concêntrica, funcionaliza-

das com moléculas orgânicas capazes de se associarem a compostos voláteis originários da oxidação de substâncias da membrana de células tumorais, que estão presentes no hálito de pacientes portadores dos cânceres de pulmão, mamas, próstata e colorretal⁴⁰. Quando os pacientes portadores de câncer sopram no sensor, a ligação dos compostos voláteis às nanopartículas funcionalizadas altera a resistência do material, permitindo a captação desse sinal pelos eletrodos. Como cada câncer gerou um padrão diferente de variação de resistência elétrica, foi possível distinguir qual o tipo de câncer que o paciente possuía, além de determinar se havia a presença ou não de câncer. Além disso, vale ressaltar que essa foi uma estratégia não invasiva de detecção de neoplasias.

Outra aplicação interessante da nanotecnologia em sensores foi abordada no trabalho de Zhang e colaboradores (2005), que desenvolveu pontos quânticos funcionalizados com fitas simples de “DNA capturador” capazes de se ligar a um DNA-alvo, que, por sua vez, foi capaz de ligar-se a um DNA associado a uma fluoresceína (Cy5). Essas nanopartículas foram utilizadas para a detecção de uma sequência específica de DNA, contendo uma mutação pontual associada ao tumor de ovário, possuindo como diferencial uma maior capacidade de captura do DNA-alvo, além de possibilitar a amplificação da fluorescência de Cy5 por transferência de energia por ressonância de fluorescência (FRET), facilitando o imageamento desse nanossistema *in vitro*⁴¹.

Uma estratégia de entrega de plataformas nanoestruturadas reside nas células-tronco mesenquimais humanas (hMSCs), que funcionam como um “Cavalo de Troia”, já que estas podem carregar as nanopartículas em seu interior e direcioná-las ao sítio tumoral, devido à capacidade dessas células em serem espontaneamente atraídas para esse local. Conhecendo essa propriedade das hMSCs, Kim e colaboradores (2014) desenvolveram um agente de contraste baseado em nanopartículas de gadolínio, carregadas por células mesenquimais, para o diagnóstico *in vivo* de tumor de cólon por ressonância magnética⁴².

Tais estratégias tecnológicas apresentadas anteriormente, além de muitas outras, como as citadas na **Tabela 3**, demonstram que os nanomateriais, por estarem em uma escala de tamanho pequena (de 10^{-9} m), conseguem interagir com moléculas biológicas, a fim de gerar sinais amplificados que se podem captar, interpretar e auxiliar na tomada de decisões cruciais, com a finalidade de se tratar um câncer.

Tabela 3. Exemplos de nanomateriais utilizados no diagnóstico do câncer

Nanomaterial	Tipo de Câncer	Método Empregado	Sucesso	Referência
Nanopartículas de ouro	Pulmão, mamas, próstata e colorretal	Nanossensor de moléculas voláteis do hálito de pacientes	Deteção e distinção entre os cânceres de forma não invasiva	[40]
Nanocristal (QD) de CdSe-ZnS (core-shell)	Alguns tumores de ovário	Nanossensor de oligonucleotídeos específicos. Baseia-se na transferência de energia por ressonância de fluorescência (FRET)	Deteção de mutações pontuais presentes em oligonucleotídeos de alguns tumores de ovário	[41]
Óxido de grafeno e nanopartículas de poli-L-lactato (PLLA)	Próstata	Nanossensor para deteção de PSA e VEGF. Consiste em uma folha de grafeno que reveste os eletrodos recoberta por oligonucleotídeos ligantes de VEGF. Este, por sua vez, conjuga-se a nanopartículas de PLLA funcionalizadas com anti-VEGF e anti-PSA	Detecta, em menos de 1 hora, duas moléculas, concomitantemente, presentes no plasma de pacientes portadores do câncer de próstata, em concentrações acima de 50 pg/mL (VEGF) e 1 ng/mL (PSA), evitando diagnósticos falso-positivos	[43]
Nanopartículas de pululano e gadolínio internalizadas por células mesenquimais	Cólon (enxerto)	Agente de contraste nanoestruturado carregado por células mesenquimais até o sítio tumoral, otimizando a localização e a visualização do tumor por ressonância magnética	As células mesenquimais carregadas com as nanopartículas de gadolínio permitiram detectar o tumor no estágio inicial em apenas 2 horas após a sua administração endovenosa em camundongos	[42]

Filmes nanométricos de ouro	Leucemia	Chip de plástico com uma camada de ouro nanométrica, possuindo buracos nanométricos, revestida com proteína A como âncora de anticorpos específicos do antígeno lambda, superexpressos em pacientes portadores de leucemia. A detecção do anticorpo se dá por meio de ressonância plasmônica de superfície	Consegue detectar com sucesso um desequilíbrio na proporção de anticorpos, presente em amostras de sangue de pacientes com leucemia	[44]
-----------------------------	----------	--	---	------

Siglas: QD = pontos quânticos; PSA = antígeno prostático específico; VEGF = fator de crescimento endotelial vascular.

Fonte: elaborada pelos autores.

2.3.3 Uso de nanoestruturas no tratamento do câncer

Os tratamentos mais empregados para o câncer, atualmente, são a cirurgia, a quimioterapia e a radioterapia. Apesar de apresentarem eficácia, especialmente em casos diagnosticados precocemente, esses métodos apresentam também efeitos adversos, como fraqueza, vômitos, queda de cabelo, cansaço, diarreias, feridas na boca, queimaduras e ressecamento da pele^{45,46}; comprometendo a qualidade de vida dos pacientes. Portanto, a nanotecnologia pode ser empregada de diversas formas para contornar os efeitos adversos de tratamentos convencionais, trazendo várias vantagens.

2.3.3.1 Entrega de compostos bioativos (“Drug Delivery”)

Alguns dos principais problemas dos quimioterápicos convencionais são a toxicidade sistêmica, baixa especificidade celular e baixa dispersão no plasma sanguíneo. Tudo isso acarreta menor eficácia de tratamento, por limitar a dose máxima administrada, por induzir o surgimento de efeitos adversos e resultar em uma baixa biodisponibilidade do fármaco no organismo, diminuindo a eficiência de entrega ao tumor⁴⁷. Buscando superar tais desvantagens, muitos estudos citados a seguir demonstram empiricamente que fármacos convencionais, quando associados a nanoestruturas, têm sua dispersão em meio biológico melhorada, apresentam menor toxicidade, maior biodisponibilidade,

menos efeitos adversos e mantêm-se dentro da janela terapêutica por meio da sua liberação sustentada no sítio tumoral⁴⁷.

Dentre os principais nanomateriais utilizados como sistemas de entrega de fármacos, podem-se citar as nanopartículas poliméricas, as nanoemulsões (micelas), as nanopartículas lipídicas sólidas, os dendrímeros, os lipossomos, os nanotubos de carbono e as nanopartículas metálicas.⁴⁷

Em uma abordagem relativamente inovadora de exploração de novos fármacos naturais associados à nanobiotecnologia, Zhou e colaboradores (2013) elaboraram uma micela polimérica formada por blocos copoliméricos de quitosana-policaprolactano galactosilados (Gal-CH-PCLs) contendo curcumina, que é um polifenol de extratos vegetais insolúvel em água, com interessantes propriedades antitumorais.⁴⁸ Nesse trabalho, eles demonstraram um aumento de 2 a 4 vezes da captação da curcumina nanoencapsulada, em comparação com a curcumina livre, por células de câncer cervical (HeLa) e por células de hepatocarcinoma (HepG2) *in vitro*, e, conseqüentemente, uma indução da morte celular por apoptose e necrose 6 vezes maior, quando comparada com o tratamento com curcumina livre, após 72 horas de incubação. Isso corrobora com o paradigma de que a nanoestruturação favorece o aumento da eficiência de captação de compostos bioativos e melhora a biodisponibilidade de compostos hidrofóbicos.

Outra forma de entrega de fármacos, a nanoemulsão, foi estudada por Tagne e colaboradores (2008), que nanoemulsificaram o quimioterápico tamoxifen (causa danos ao DNA) associado a óleo de soja, formando micelas de diâmetro hidrodinâmico médio de 46 nm, e testaram seu efeito anticâncer em células de câncer de mama (HTB-20), *in vitro*.⁴⁹ O tamoxifen nanoemulsionado demonstrou uma diminuição da proliferação celular em 97%, contra 66% do tamoxifen livre. Além disso, essa nanoemulsão promoveu a apoptose em 40% das células tratadas em HTB-20, quatro vezes mais quando comparada ao fármaco livre.

Por sua vez, Zhang e colaboradores (2014) formularam dendrímeros peptídicos (glicina-fenilalanina-leucina-glicina, medindo cerca de 100 nm de diâmetro) contendo doxorrubicina (DOX), para a entrega nanoestruturada desse fármaco. Os ramos tetrapeptídicos são clivados pela enzima lisossomal catepsina B, abundante em células tumorais, liberando a DOX no meio intracelular de células de tumor mamário murino 4T1.⁵⁰ Os dendrímeros na dose de 4 mg/kg de doxorrubicina foram mais eficazes na inibição tumoral (~ 60%) *in vivo* do que a DOX livre na mesma concentração (~ 45%). Além disso, a DOX dendrímica nas concentrações testadas não apresentou citotoxicidade ao coração, fígado, baço, pulmão e rim, ao contrário do fármaco livre, corroborando com a teoria de que a nanoestruturação de quimioterápicos diminui a toxicidade aos tecidos e órgãos não alvo.

Um estudo que desperta a curiosidade foi o trabalho de Wang e colaboradores (2011) que avaliou os efeitos antitumorais, *in vitro* e *in vivo*, de lipossomos contendo resveratrol (~ 70 nm), funcionalizados com dequalinium polietilenoglicol-diestearoil-fosfatidiletanolamina (DQA-PEG200-DSPE) para o direcionamento mitocondrial, em células de carcinoma pulmonar não resistentes (A549) e resistentes (A549/cDDP).⁵¹ Os pesquisadores compararam a atividade anticâncer entre os lipossomos funcionalizados e os não funcionalizados, em combinação com lipossomos contendo vinorelbina (um alcaloide semissintético utilizado como quimioterápico). Os resultados indicaram uma expressiva atividade antitumoral *in vitro* dos lipossomos contendo resveratrol contra A549 (inibição > 80%) e A549/cDDP (inibição de cerca de 60%), após 96 horas de tratamento. Foi demonstrado que lipossomos contendo vinorelbina, combinados a lipossomos funcionalizados contendo resveratrol, foram eficazes no combate às células resistentes, o que não ocorreu no tratamento contendo apenas lipossomos de vinorelbina. O tratamento solo e combinado com lipossomos de resveratrol funcionalizados ocasionou uma diminuição do potencial de membrana mitocondrial, que, por sua vez, engatilhou a liberação de citocromo c, a ativação de caspases e culminou em apoptose nas células tratadas (A549 e A549/cDDP). E, por fim, no tratamento *in vivo*, ao longo de 27

dias, em camundongos nude, os lipossomos de resveratrol funcionalizados levaram a uma melhor distribuição do fármaco pelas camadas celulares tumorais e a uma diminuição da massa tumoral de 85,81%, contra 49,87% de remissão no tratamento com resveratrol livre.

Todos esses resultados apontam na mesma direção, fortalecendo a premissa de que a nanoencapsulação de compostos bioativos potencializa seus efeitos antitumorais. Dentre muitos outros, estes são apenas alguns exemplos de nanossistemas utilizados como carreadores de moléculas terapêuticas, visando a um tratamento mais eficaz contra o câncer e que reduza efeitos adversos provocados por quimioterápicos convencionais.

2.3.3.1.2. Componentes estruturais de nanoemulsões como componentes bioativos

Algumas nanoestruturas, como as nanoemulsões, podem apresentar constituintes estruturais (fase oleosa, por exemplo), que possuem atividade antitumoral. Pode-se citar o exemplo de um trabalho desenvolvido no Laboratório de Compostos Bioativos e Nanobiotecnologia da Universidade de Brasília, onde Sampaio (2017) formulou uma nanoemulsão à base de óleo de buriti (*Mauritia flexuosa* Mart.) que apresentou atividade antitumoral *in vitro* contra células de câncer de mama MCF-7, reduzindo a viabilidade de cerca de 50% das células quando tratadas com a concentração de óleo nanoemulsionado de 360 µg/mL por 24 horas.⁵² Assim, o óleo de buriti, por possuir em sua constituição ácidos graxos e outras moléculas com potencial terapêutico, atuou nessa nanoemulsão tanto como constituinte estrutural como componente bioativo.

Outro exemplo são as nanopartículas de prata (AgNPs), sintetizadas por Ombredane (2016), utilizando extrato de *Curcuma longa* L. para a redução do nitrato de prata⁵³. Além disso, o polissacarídeo quitosana foi adicionado à formulação, com o intuito de revestir as nanopartículas, aumentando a estabilidade, a biocompatibilidade e a biodegradabilidade das AgNPs. Essas nanopartículas foram testadas em células

de câncer de pele não melanoma (A431), e apresentaram citotoxicidade em cerca de 50% dessas células, com a concentração de 50 μ M após 24 horas de tratamento. Além disso, o revestimento das AgNPs por quitosana induziu a parada celular de A431 na fase G1 da divisão celular. Assim, a prata, que inicialmente exercia a função de componente estrutural, tornou-se também um componente bioativo dessa nanoestrutura.

2.3.3.2. Terapia fotodinâmica

A terapia fotodinâmica é uma estratégia promissora para a destruição de células tumorais, que se baseia na administração de moléculas fotossensibilizantes no paciente. Após exposição à luz em comprimento de onda específico e na presença de oxigênio, tais moléculas são ativadas e se tornam tóxicas, levando à morte celular por estresse oxidativo^{54,55}.

Pan et al. (2015) demonstraram que a associação do fotossensibilizante ftalocianina a nanoesferas de dióxido de titânio dopados com nitrogênio (N-TiO₂) (diâmetro entre 25 nm e 40 nm) aumentou a sua captação celular em carcinoma cervical humano (HeLa) e carcinoma nasofaríngeo humano (KB)⁵⁶. Além disso, a conjugação de ftalocianina a nanopartículas de N-TiO₂ conferiu uma maior faixa de absorção luminosa e incrementou em cerca de 2,6 vezes a produção de espécies reativas de oxigênio, quando comparada à ftalocianina livre na mesma concentração. O efeito citotóxico das nanopartículas com ftalocianina ocasionou morte celular de mais de 86% nas linhagens testadas, quando submetidas à faixa luminosa de 420-800 nm de comprimento de onda. As nanopartículas sem ftalocianina e a ftalocianina livre, quando expostas a essa mesma faixa luminosa, não inibiram mais do que 10% das células tratadas. Todos esses tratamentos não demonstraram citotoxicidade no escuro, sugerindo que o tratamento só é eficaz quando há a ativação do composto fotossensível na presença de luz⁵⁶. Os resultados obtidos por Pan e colaboradores sugerem um tratamento de alta performance promissor contra, pelo menos, dois tipos de neoplasias. Outros estudos *in vivo* devem ser conduzidos posteriormente para comprovar tal eficácia em animais não humanos e humanos.

Outro trabalho que demonstrou resultados interessantes foi o conduzido por Muehlmann e colaboradores (2015) no Laboratório de Nanobiotecnologia da Universidade de Brasília.⁵⁷ Em vez de utilizarem nanopartículas inorgânicas, os pesquisadores formularam uma nanoemulsão contendo o fotossensibilizante ftalocianina misturada em óleo de ricino, formando uma fase oleosa estabilizada na fase dispersante aquosa por uma camada do surfactante Cremophor®, gerando micelas com diâmetro hidrodinâmico médio de 25 nm. Em seguida, trataram células de adenocarcinoma mamário (MCF-7) com essas nanoemulsões e analisaram seu potencial anticâncer no escuro e na exposição à luz monocromática (comprimento de onda = 660 nm). Eles verificaram uma IC₅₀ (concentração necessária para inibir o crescimento de 50% das células) igual a 6,0 nM. Observaram, ainda, que a viabilidade dessas células tumorais diminuiu para 0% na concentração de 93 nM de nanoemulsão, e que a inibição só foi observada quando as células eram irradiadas em 660 nm. Vale ressaltar que a terapia fotodinâmica realizada com a ftalocianina livre não demonstrou atividade significativa contra as células tumorais *in vitro*.

Por último, Wang e colaboradores (2011) executaram um teste *in vivo* em camundongo utilizando nanocristais de NaYF₄ cobertos com o fotossensibilizante Clorina e6 (Ce6) e funcionalizados com PEG, e estudaram a eficácia antitumoral da terapia fotodinâmica (comprimento de onda = 980 nm) em carcinoma mamário murino (4T1) com a administração intratumoral de soro, Ce6 livre e as nanopartículas NaYF₄-Ce6 (diâmetro ~ 30 nm)⁵⁸. Os resultados evidenciaram que a terapia fotodinâmica com Ce6 nanoestruturada se mostrou quase duas vezes mais eficaz que com a Ce6 livre e o controle, após 12 dias de tratamento. Além disso, as nanopartículas foram totalmente excretadas em menos de 2 meses após a administração.

Um estudo clínico utilizando terapia fotodinâmica com resultados promissores foi conduzido por Passos e colaboradores (2012) com pacientes do Hospital Regional da Asa Norte, em Brasília, portadores de queratose actínica, carcinomas basocelulares superficiais e doença

de Bowen (neoplasias de pele)⁵⁹. Sobre as feridas, foram aplicadas nanoemulsões contendo ácido aminolevulínico que, posteriormente, foram expostas à luz de LED no comprimento de onda de 635 nm. O percentual de cura dos pacientes foi superior a 80% após 12 meses de tratamento para as três classes de neoplasias de pele avaliadas.

Todos os exemplos citados de terapia fotodinâmica, utilizando moléculas fotossensibilizantes associadas a nanoestruturas, mostraram resultados promissores na inibição tumoral nos carcinomas cervical, de pele e mamários, *in vitro* e/ou *in vivo*.

2.3.3.3. Hipertermia magnética

De forma resumida, a hipertermia magnética, ou magneto-hipertermia, é o aquecimento gerado pela conversão da energia eletromagnética em energia térmica, quando nanopartículas superparamagnéticas são submetidas a um campo magnético alternado. Células tumorais apresentam maior sensibilidade ao aumento de temperatura, quando comparado com células saudáveis, o que torna essa terapia mais específica à região tumoral⁶⁰. Nessa terapia, nanopartículas magnéticas que atingem a região tumoral são submetidas a um campo magnético alternado. Em resposta, essas nanopartículas alinham-se ao campo magnético e geram calor. A elevação da temperatura em mais de 40° C em células tumorais acarreta a desnaturação de proteínas, que formam agregados e resultam na morte celular por apoptose ou necrose, dependendo do grau de aquecimento e do tamanho do dano causado⁶¹.

Nesse âmbito, serão abordados, a seguir, alguns estudos sobre o tratamento de tumores *in vitro* e *in vivo*, que demonstraram expressiva eficácia utilizando a magnetohipertermia, viabilizada pela distribuição intracelular de nanopartículas magnéticas. Detalhes sobre essa técnica são mais bem explorados no capítulo 7 sobre magneto-hipertermia deste livro.

Dennis e colaboradores (2009) sintetizaram nanocristais de ferrita (Fe_3O_4) recobertos com dextran (diâmetro médio de 96 nm), com a finalidade de estabilização coloidal e melhor biocompatibilidade, e injetaram esse nanossistema na região intratumoral em fêmeas de camundongos portadoras de tumor mamário (MTG-B)⁶². Eles constataram que quanto maior a intensidade do campo magnético, menor foi o tamanho da massa tumoral após a magnetohipertermia, e que, em média, os animais submetidos a uma “intensidade” de campo magnético de 700 Oe não apresentaram crescimento tumoral após 60 dias de tratamento.

Um outro estudo conduzido por Lee e colaboradores (2011) comparou, experimentalmente, os efeitos da magnetohipertermia entre nanopartículas de *core-shell* de CoFe_2O_4 - MnFe_2O_4 (15 nm), o Feridex (uma nanopartícula magnética convencional de Fe_3O_4 , 120-180 nm) e os controles: doxorrubicina (quimioterápico convencional), tratamento magnético sem as nanopartículas e animais não tratados⁶³. Os tratamentos foram injetados diretamente no enxerto abdominal de tumor cerebral humano (U87MG) em camundongos. Após uma sessão de magnetohipertermia (500 kHz; $37.3 \text{ kA}\cdot\text{m}^{-1}$) com as nanopartículas *core-shell*, os tumores mostraram remissão total, enquanto, com Feridex e os controles, o volume tumoral progrediu. Isso ocorreu devido a uma maior capacidade de liberação de energia pela nanopartícula *core-shell* do que pelo Feridex.

Uma terceira pesquisa, descrita por Bae e colaboradores (2012), também comparou Feridex a nanocubos ferromagnéticos de óxido de ferro (FIONs) revestidos com quitosana (aprox. 30 nm).⁶⁴ Após a magnetohipertermia local em carcinoma pulmonar (A549), cerca de 90% das células tumorais contendo os nanocubos FIONs morreram por apoptose, contra menos de 20% de morte celular no tratamento com Feridex. Tais nanocubos FIONs também apresentam uma capacidade de liberação de calor maior do que o Feridex, justificando o aumento da eficácia.

2.3.3.4 Terapia combinatória

A terapia combinatória, como o próprio nome sugere, baseia-se em um tratamento que utiliza dois ou mais fármacos, que podem apresentar efeitos aditivos ou sinérgicos entre si, ou seja, o efeito terapêutico final dos fármacos combinados é maior do que os efeitos das drogas isoladas. Isso abre a possibilidade de se combinarem quimioterápicos convencionais, em dosagens menores, a outros compostos bioativos, atingindo uma eficácia igual ou maior que o tratamento convencional^{64,65}.

Alguns nanomateriais têm a capacidade de carrear em uma mesma nanoestrutura duas ou mais substâncias bioativas. Por exemplo, Jiang e colaboradores (2011) formularam lipossomos contendo na sua bicamada apolar o esfingolipídio C6-ceramida, um pró-apoptótico que é naturalmente neutralizado em células cancerosas; lipossomos contendo o inibidor da síntese de glucosilceramida PDMP (D-threo-1-phenyl-2-decanoylamino-3-morpholino-1-propanol), que impede a degradação intracelular de C6-ceramida; e lipossomos com ambos C6-ceramida e PDMP. Eles avaliaram os efeitos solo e combinados de tais formulações a gemcitabina livre, um quimioterápico convencional que interfere na duplicação e na transcrição do DNA em células de câncer pancreático (PANC-1) *in vitro* e *in vivo*.⁶⁵ A concentração para inibir 50% das células PANC-1 (IC50) para o lipossomo contendo apenas C6-ceramida foi equivalente a 2,6% do IC50 para a gemcitabina livre. Os efeitos pró-apoptóticos das terapias combinatórias foram exacerbadamente superiores aos tratamentos isolados, com indução de mais de 60% de apoptose para o lipossomo C6 administrado com gemcitabina, maiores que 50% para o lipossomo contendo C6 e PDMP, e cerca de 90% para o lipossomo contendo ambos C6 e PDMP administrado com a gemcitabina. Por último, o teste *in vivo* evidenciou que os tratamentos combinatórios foram estatisticamente mais eficazes na inibição tumoral.

Em um estudo mais recente, que concatena tanto a terapia combinatória quanto a entrega de ácidos nucleicos, He e colaboradores (2014) conseguiram sintetizar nanodiscos hexagonais (100 nm de diâmetro,

30 nm de espessura) contendo cisplatina e pequenos RNAs interferentes (siRNA) de genes antiapoptóticos para tratar tumores ovarianos resistentes (SKOV-3).⁶⁶ A cisplatina livre, os discos contendo somente a cisplatina e a cisplatina livre combinada aos siRNAs livres tiveram uma eficácia muito menor do que os discos contendo cisplatina conjugados aos siRNAs, os quais reduziram a menos de 20% o total de células viáveis após o tratamento *in vitro*.

Sriraman e colaboradores (2015) desenvolveram lipossomos revestidos com PEG (polietileno glicol) carreadores de NCL-240 (um agente pró-apoptótico) e cobimetinib (inibidor da via das quinases reguladas por sinais extracelulares, MEK/ERK), para avaliar a atividade antitumoral em HCT 116 (câncer de cólon) dessas duas moléculas combinadas⁶⁷. Os resultados demonstraram atividade sinérgica devido à combinação dessas moléculas, que interromperam o ciclo celular na fase G1, e induziram a apoptose com uma eficácia 3 a 4 vezes maior do que os grupos-controle (fármacos separados livres, fármacos separados nanoestruturados, fármacos combinados livres e células não tratadas).

Mais uma vez, esses estudos evidenciam o importante papel da nanobiotecnologia no incremento de terapias antitumorais, servindo como uma plataforma de carregamento e encapsulação de fármacos que, juntos, são muito mais eficazes.

Além dos exemplos de abordagens nanotecnológicas investigados para o tratamento de câncer já citados nos tópicos acima, outros exemplos são citados na **Tabela 4**, de modo a complementar o panorama explicado nos parágrafos anteriores.

Tabela 4. Exemplos de sistemas nanoestruturados investigados para o tratamento de câncer

Nanomaterial	Tipo de Câncer	Método Empregado	Taxa de Sucesso	Referência
Micelas poliméricas (Gal-CH-PCL) carregadas com curcumina	Carcinoma hepatocelular humano (HepG2)	Entrega de composto bioativo	Capacidade até 6 vezes maior de induzir morte celular em HepG2 em comparação à curcumina livre	[48]
Nanoemulsão à base de tamoxifen	Mama (HTB-20)	Entrega de fármaco	Inibição da multiplicação celular 20 vezes maior e aumento da taxa de apoptose em 4 vezes	[49]
Dendrímeros peptídicos contendo doxorubicina	Mama (4T1)	Entrega de fármaco	Os dendrímeros carregados com doxorubicina induziram uma taxa de apoptose das células tumorais quase 5 vezes maior do que o fármaco livre, administrados in vivo	[50]
N-TiO ₂ + ftalocianina	Câncer cervical (HeLa) e carcinoma nasofaríngeo (KB)	Terapia fotodinâmica	As nanopartículas de titânio dopadas com nitrogênio e funcionalizadas com ftalocianina não só facilitaram a entrada da ftalocianina nas células tumorais como aumentaram em 2,6 vezes a produção de espécies reativas de oxigênio	[56]
Nanoemulsão à base de ftalocianina	Mama (MCF-7)	Terapia fotodinâmica	Enquanto a ftalocianina livre não demonstrou eficácia, esse mesmo composto nanoencapsulado respondeu à terapia fotodinâmica e afetou significativamente a viabilidade das células tumorais in vitro	[57]
CoFe ₂ O ₄ -MnFe ₂ O ₄	Enxerto de tumor cerebral (U87MG)	Hipertermia magnética	Remissão completa do tumor in vivo em 16 dias de tratamento	[63]
Nanocubos ferromagnéticos estabilizados por quitosana	Pulmão (A549)	Hipertermia magnética	Durante o período de 6 dias de tratamento, o tumor diminuiu em 30% o seu volume, in vivo	[64]
Lipossomos de C6-ceramida e PDMP	Pâncreas (PANC-1)	Terapia combinatória	A combinação de C6-ceramida com o inibidor da neutralização de ceramidas (PDMP) permitiu que a ceramida realizasse sua atividade pró-apoptótica contra as células PANC-1	[65]
Nanodiscos metálicos dopados com cisplatina e funcionalizados com siRNAs	Ovário (SKOV-3)	Terapia combinatória	Inibição de mais de 80% das células tumorais, in vitro, na concentração de 150 µM por 72 horas de incubação	[66]
Nanocápsula polimérica poli(metil vinil éter-co-maleico anidrido) com selo e doxorubicina	Mama (4T1)	Terapia combinatória	Nanoestrutura contendo doxorubicina não reduziu o tumor, in vivo, em comparação com a doxorubicina livre. Entretanto, a nanoestrutura diminuiu a cardiotoxicidade	[68]

PDMP: D-threo-1-phenyl-2-decanoylamino-3-morpholino-1-propanol.

Fonte: elaborada pelos autores.

2.3.4 Nanoteranósticos: diagnóstico e terapia em um mesmo nanossistema

Outra possibilidade que a nanobiotecnologia proporciona é a combinação de compostos para diagnóstico com moléculas terapêuticas em uma mesma plataforma nanométrica. Esse tipo de sistema é chamado “nanoteranóstico” (**Tabela 5**). Eles permitem rastrear em tempo real a localização dos nanocompósitos terapêuticos, para que seja confirmada a internalização celular ou a sua chegada ao tumor, por exemplo.

Nanohíbridos magnetopoliméricos multifuncionais (MMPNs) foram arquitetados e sintetizados por Yang e seu grupo (2007), os quais eram constituídos de um núcleo de nanocristais magnéticos (ferrita) e o quimioterápico doxorrubicina, conferindo a capacidade de imageamento por ressonância magnética e quimioterapia, respectivamente; recobertos com blocos copoliméricos de PLGA-PEG-COOH e o anticorpo anti-HER, conferindo o direcionamento alvo-específico a células tumorais que expressam o receptor HER-2, como o carcinoma mamário⁶⁹. Eles conseguiram demonstrar uma expressiva eficácia desse nanossistema como agente de contraste para a detecção por imagem do tumor e, também, a inibição da proliferação tumoral por meio da associação de efeitos da quimioterapia com o direcionamento mediado por anticorpo.

Complementarmente, Zhang e colaboradores (2012) sintetizaram nanobastões de ouro recobertos com sílica mesoporosa carregando o quimioterápico doxorrubicina.⁷⁰ O ouro em forma de nanobastão tem a capacidade de imageamento eficiente e a propriedade de superaquecer quando irradiado com laser de comprimento de onda específico. Para complementar, a doxorrubicina, incorporada na casca de sílica mesoporosa, tem propriedades quimioterápicas conhecidas. Dessa forma, esse nanocompósito proporciona o diagnóstico por imageamento e o tratamento tanto fototérmico quanto quimioterápico, com eficácia de aproximadamente 70% na diminuição da viabilidade celular em A549 (células de tumor pulmonar humano), 20% maior do que o tratamento com a doxorrubicina livre.

Similarmente a esse trabalho, Chen et al. (2014) sintetizaram nanopartículas de gadolínio revestidas com albumina plasmática humana e funcionalizadas com um corante fluorescente (IR825, que é excitado em comprimento de onda próximo ao infravermelho), e testaram sua eficácia contra células metastáticas de câncer mamário murino (4T1) alojadas em linfonodos, quando submetidas à terapia fototérmica (geração de calor iniciada pela incidência de laser sobre uma nanopartícula fotossensível)⁷¹. Dessa forma, o gadolínio atuou como agente fotossensível na terapia fototérmica, enquanto o corante auxiliou no rastreamento por imagem da nanopartícula, quando o sistema foi irradiado. A eficácia do tratamento foi dependente da dosagem de fótons irradiados sobre as nanopartículas, que, ao serem absorvidos pelo gadolínio, culminaram na conversão da energia luminosa em energia térmica, acarretando hipertermia e ablação celular.

Como último exemplo, mas não menos interessante, Quintana e colegas (2002) realizaram um estudo no qual foram sintetizados dendrímeros poliméricos (PAMAM) de quinta geração, e a eles foram acopladas moléculas de folato, fluoresceína e metrotexato (quimioterápico), que conferiram a esse nanomaterial a capacidade de direcionamento alvo-específico às células KB (carcinoma epidermoide de boca), a capacidade de rastreamento intracelular e de tratamento quimioterápico, respectivamente⁷². Dessa forma, a terapia mostrou uma eficácia *in vitro* dezenas de vezes maior do que a terapia com o quimioterápico livre.

Conclui-se que os “nanoteranósticos” aqui apresentados se mostraram plataformas eficazes no rastreamento tumoral e no combate de tumores, simultaneamente.

Tabela 5. Exemplos de nanossistemas utilizados como “nanoteranósticos” em câncer

Nanomaterial	Tipo de Câncer	Método Empregado	Taxa de Sucesso	Referência
Nano-híbridos magneto-poliméricos multifuncionais (MMPNs)	Mama	Imageamento por ressonância magnética, quimioterapia com doxorubicina, e direcionamento pela funcionalização com anti-HER	Taxa de crescimento tumoral cerca de 3 vezes menor, quando tratado com o nano-híbrido	[69]
Nanobastões de Au revestidos com sílica mesoporosa para carregamento de doxorubicina	Pulmão (A549)	Imageamento por ressonância plasmônica de superfície localizada, entrega de quimioterápico e possibilidade de terapia fototérmica	A viabilidade das células tumorais caiu para 20% após tratamento com os nanobastões, associado a irradiação de laser (próximo ao infravermelho) por 8 minutos	[70]
Nanopartículas de gadolínio revestidas com albumina e funcionalizadas com a fluorescência IR825	Mama (4T1)	Terapia fototérmica pela ativação do gadolínio e imageamento por fluorescência	Viabilidade das células tumorais caiu para 10% após tratamento com as nanopartículas associadas à irradiação de intensidade 1,5 W/cm ²	[71]
Nanoemulsão acoplado à molécula de folato carregando docetaxel	Ovário (SKOV3)	Entrega de fármaco e imageamento por ressonância magnética	O docetaxel encapsulado em nanoemulsão acoplado ao folato apresentou citotoxicidade 3,3 vezes maior, comparando com o docetaxel livre	[73]

Fonte: elaborada pelos autores.

2.4 Fármacos antineoplásicos nanoestruturados disponíveis no mercado e os desafios da nanomedicina

Atualmente, já existem alguns fármacos antineoplásicos nanoestruturados, aprovados pelo FDA (*Food and Drug Administration*) e por órgãos regulamentadores de outros países, disponíveis para comercialização. Temos como exemplos: Abraxane[®], Doxil[®], DaunoXome[®], Marqibo[®], Onyvide[®], Myocet[®], Mepact[®], SMANCS[®], Genexol-PM[®] e Nanotherm[®].⁷⁴

O Abraxane[®] é uma nanopartícula proteica constituída pelo quimioterápico paclitaxel encapsulado em albumina humana, utilizado como tratamento contra as neoplasias em estágio avançado de pulmão, mama e pâncreas⁷⁴. Já como exemplos de formulações lipossomais, temos⁷⁴:

- **Doxil**[®], funcionalizado com PEG e encapsulando o quimioterápico doxorubicina. Utilizado na quimioterapia contra câncer ovariano e contra sarcoma de Kaposi relacionado à AIDS;
- **DaunoXome**[®], contém o quimioterápico daunorrubicina e é utilizado no tratamento de sarcoma de Kaposi;
- **Marqibo**[®], contém o quimioterápico vincristina, que é adotado na terapia contra a leucemia linfoblástica aguda;
- **Onyvide**[®], lipossomos revestidos com PEG carregam o quimioterápico irinotecan e são aplicados contra o câncer pancreático metastático;
- **Myocet**[®], lipossomo contendo o quimioterápico doxorubicina, não revestido com PEG, aplicado no tratamento de câncer mamário metastático; e
- **Mepact**[®], contendo muramil tripeptídeo fosfatidiletanolamina, utilizado no tratamento de osteossarcoma.

Há, também, os nanofármacos poliméricos carreadores de quimioterápicos convencionais: SMANCS[®] e Genexol-PM[®]. O primeiro é uma nanopartícula composta por poli (estireno-co-malato) associada ao fármaco neocarzinostatin, aplicada no tratamento de câncer hepático ou renal. O segundo é uma micela polimérica de PEG e PLA contendo paclitaxel, utilizada no tratamento de câncer de pulmão e de mama⁷⁴. Por último, o NanoTherm[®] é uma suspensão de nanopartículas de óxido de ferro utilizada na magnetohipertermia contra glioblastoma. Esses fármacos apresentam menores efeitos adversos, porém ainda compartilham alguns efeitos adversos que estão associados às terapias convencionais.

Uma grande crítica que é feita a respeito de nanofármacos é que há um grande número de pesquisas-piloto, porém poucas conseguem passar por todos os testes clínicos e chegar ao mercado, devido a dificuldades para passar nos testes de regulamentação e a questões mercadológicas. E mesmo após chegar ao mercado, alguns fármacos como o Bexxar[®] e o Mylotarg[®] foram dele retirados por obterem baixa

adesão de pacientes ao fármaco ou por demonstrarem um aumento do número de óbitos após o tratamento.

É preciso que haja uma maior preocupação dos pesquisadores em nanobiotecnologia desde a elaboração dos seus projetos, sobre os requisitos para a aprovação e comercialização de futuros fármacos nanoestruturados, sobre a importância de se focar em materiais e estratégias com um maior potencial terapêutico e com menores toxicidade e danos potenciais ao meio ambiente. Com isso, deve-se dar prioridade a materiais biodegradáveis, biocompatíveis, renováveis e alvo-específicos ao se elaborar uma nova estratégia nanobiotecnológica de diagnóstico, tratamento ou prevenção antitumoral.

3. Referências Bibliográficas

1. O QUE É O CÂNCER? Instituto Nacional do Câncer (INCA). Disponível em: <http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=322>. Acesso em: 25 ago. 2018.
2. HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A. Biological hallmarks of cancer. In: BAST JR, Robert C. et al. **Holland-Frei Cancer Medicine**. 9 ed. New Jersey: JohnWiley & Sons, 2017. Cap. 2, p.7-16.
3. CANCER: FACT SHEET. Organização Mundial da Saúde (OMS). Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>>. Acesso em: 20 mai. 2018.
4. COMO PREVENIR O CÂNCER. Instituto Nacional de Câncer (INCA). Disponível em: <<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/cancer/site/prevencao-fatores-de-risco/como-prevenir-cancer>> . Acesso em: 25 ago. 2018.
5. BU, H. et al. A TPGS-incorporating nanoemulsion of paclitaxel circumvents drug resistance in breast cancer. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 471, n. 1-2, p.206–213, ago. 2014.
6. FALAGAN-LOTSCH, Priscila; GRZINCIC, Elissa M.; MURPHY, Catherine J. New Advances in Nanotechnology-based Diagnosis and Therapeutics for Breast Cancer: An Assessment of Active-Targeting Inorganic Nanoplatfoms. **Bioconjugate Chemistry**, v. 28, n. 1, p.135-152, dez. 2016.
7. WHAT IS NANOTECHNOLOGY. National Nanotechnology Initiative, 2009. Disponível em: <<http://www.nano.gov/html/facts/whatIsNano.html>>. Acesso em: 25 ago. 2018.

8. PÉREZ-HERRERO, Edgard; FERNÁNDEZ-MEDARDE, Alberto. Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 93, n. 1, p.52-79, jun. 2015.
9. ESTANQUEIRO, M. et al. Nanotechnological carriers for cancer chemotherapy: the state of the art. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 126, n. 1, p.631-648, fev. 2015.
10. WICKI, A. et al. J. Nanomedicine in cancer therapy: Challenges, opportunities, and clinical applications. **Journal of Controlled Release**, v. 200, n. 1 p.138–157, fev. 2015.
11. ROSENBLUM, D. et al. Progress and challenges towards targeted delivery of cancer therapeutics. **Nature communication**, v. 9, n. 1410, p.1-12, dez. 2018.
12. LEMBO, David; CAVALLI, Roberta. Nanoparticulate delivery systems for antiviral drugs. **Antiviral Chemistry and Chemotherapy**, v. 21, n. 2, p.53–70, dez. 2010.
13. NAZIR, S. et al. Nanomaterials in combating cancer: Therapeutic applications and developments. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 10, n. 1, p. 19-34, jan. 2014.
14. HUANG, R. F. S. et al. Inhibition of colon cancer cell growth by nanoemulsions carrying gold nanoparticles and lycopene. **International Journal of Nanomedicine**, v. 10, n. 1, p.2823–2846, abr. 2015.
15. HU, X. et al. Multifunctional hybrid silica nanoparticles for controlled doxorubicin loading and release with thermal and pH dual response. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 1, n. 8, p.1109-1118, jan. 2013.

16. WILHELM, S. et al. Analysis of nanoparticle delivery to tumours. **Nature reviews/materials**, v. 1, n. 16014, p.1-12, abr. 2016.
17. KUMAR, Gannu P.; DIVYA, Ajmeera. Nanoemulsion based targeting in cancer therapeutics. **Medicinal Chemistry**, v. 5, n. 5, p.272-284, jun. 2015.
18. EL-GOGARY, R. I. et al. Polyethylene glycol conjugated polymeric nanocapsules for targeted delivery of quercetin to folate-expressing cancer cells in vitro and in vivo. **ACS Nano**, v. 8, n. 2, p.1384-1401, jan. 2014.
19. YAMEEN, B. et al. Insight into nanoparticle cellular uptake and intracellular targeting. **Journal of Controlled Release**, v. 190, n. 1, p.485-499, set. 2014.
20. SINGH, S. K. et al. Drug delivery approaches for breast cancer. **International Journal of Nanomedicine**, v. 12, n. 1, p.6205–6218, ago. 2017.
21. MELANCON, M. P. et al. Selective Uptake and Imaging of Aptamer- and Antibody-Conjugated Hollow Nanospheres Targeted to Epidermal Growth Factor Receptors Overexpressed in Head and Neck Cancer. **ACS Nano**, v. 8, n. 5, p.4530–4538, mai. 2014.
22. LIANG, M. et al. H-ferritin–nanocaged doxorubicin nanoparticles specifically target and kill tumors with a single-dose injection. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 41, p.14900-14905, set. 2014.
23. ALI, M. R. K. et al. Targeting cancer cell integrins using gold nanorods in photothermal therapy inhibits migration through affecting cytoskeletal proteins. **PNAS plus**, v. 114, n. 28, p.5655–5663, jul. 2017.

24. TANG, R. et al. Tunable Ultrasmall Visible-to-Extended Near-Infrared Emitting Silver Sulfide Quantum Dots for Integrin-Targeted Cancer Imaging. **ACS Nano**, v. 9, n. 1, p.220–230, jan. 2015.
25. BEHZADI, S. et al. Cellular uptake of nanoparticles: journey inside the cell. **Chemical Society Reviews**, v. 46, n. 14, p.4218-4244, jun. 2017.
26. JOANITTI, Graziella A. et al. Nanostructured systems for the organelle-specific delivery of anticancer drugs. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 3, p.224-236, 2017.
27. SUEN, Wai-Leung. L.; CHAU, Ying. Size-dependent internalisation of folate-decorated nanoparticles via the pathways of clathrin and caveolae-mediated endocytosis in ARPE-19 cells. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 66, n. 4, p.564–573, abr. 2013.
28. ALLARD-VANNIER, E. et al. Folic acid-capped PEGylated magnetic nanoparticles enter cancer cells mostly via clathrin-dependent endocytosis, **BBA - General Subjects, Tours**, v. 1861, n. 6, p.1578-1586, nov. 2016.
29. GAO, H. et al. Ligand modified nanoparticles increases cell uptake, alters endocytosis and elevates glioma distribution and internalization. **Scientific reports**, v. 3, n. 2534, p.1-8, ago. 2013.
30. LI, Y. et al. Lipid rafts-mediated endocytosis and physiology-based cell membrane traffic models of doxorubicin liposomes. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1858, n. 8, p.1801–1811, ago. 2016.
31. SPORN, Michael B. Approaches to prevention of epithelial cancer during the preneoplastic period. **Cancer Research**, v. 36, n. 7, p.2699–2702, jul. 1976.

32. DEFELICE, Stephen L., The nutraceutical revolution: its impact on food industry R&D. **Trends in Food Science & Technology**, v. 6, n. 2, p.59-61, fev. 1995.
33. SIDDIQUI, I. A. et al. Resveratrol nanoformulation for cancer prevention and therapy. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1348, n. 1, p.20–31, jun. 2015.
34. SIDDIQUI, Imtiaz A.; SANNA, Vanna. Impact of nanotechnology on the delivery of natural products for cancer prevention and therapy. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 60, n. 6, p.1330–1341, mar. 2016.
35. ARORA, Divya; JAGLAN, Sundeep. Nanocarriers Based Delivery of Nutraceuticals for Cancer Prevention and Treatment: A Review of Recent Research Developments, **Trends in Food Science & Technology**, v. 54, n. 1, p.114-126, abr. 2016.
36. SIDDIQUI, I. A. et al. Introducing Nanochemoprevention as a Novel Approach for Cancer Control: Proof of Principle with Green Tea Polyphenol Epigallocatechin-3-Gallate. *Cancer Research*, v. 69, n. 5, p.1712–1716, fev. 2009.
37. SANNA, V. et al. Targeted nanoparticles encapsulating (–)-epigallocatechin-3-gallate for prostate cancer prevention and therapy. **Scientific Reports**, v. 7, n. 41573, p.1-15, fev. 2017.
38. KRISHNAN, Samaya R.; GEORGE, Suraj K. Nanotherapeutics in Cancer Prevention, Diagnosis and Treatment. In: WALDMAN, Scott A; TERZIC, Andre. **Pharmacology and Therapeutics**, 1.ed. Philadelphia: Saunders, 2008. Cap. 8, p.235-253.

39. AMERICAN CANCER SOCIETY. **Limitations of Mammograms**. Artigo do site da Sociedade Americana do Câncer (American Cancer Society). Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/screening-tests-and-early-detection/mammograms/limitations-of-mammograms.html#written_by>. Acesso em: 25 ago. 2018.
40. PENG, G. et al. Detection of lung, breast, colorectal, and prostate cancers from exhaled breath using a single array of nanosensors. **British Journal of Cancer**, v. 103, n. 1, p.542-551, jul. 2010.
41. ZHANG, C. et al. Single-quantum-dot-based DNA nanosensor. **Nature Materials**, v. 4, n. 1, p.826-831, out. 2005.
42. KIM, Kyoung S.; PARK, Wooram; NA, Kun. Gadolinium-chelate nanoparticle entrapped human mesenchymal stem cell via photochemical internalization for cancer diagnosis. **Biomaterials**, v. 36, n. 1, p.90-97, jan. 2015.
43. PAN, X. et al. Enhancement of the photokilling effect of aluminum phthalocyanine in photodynamic therapy by conjugating with nitrogen-doped TiO₂ nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 130, n. 1, p.292-298, jun. 2015.
44. VALSECCHI, C. et al. Low-cost leukemic serum marker screening using large area nanohole arrays on plastic substrates. **ACS Sensors**, v. 1, n. 9, p.1103-1109, ago. 2016.
45. PERGUNTAS e respostas sobre quimioterapia. Instituto Nacional de Câncer (INCA). Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/8e973c004eb686f794f896f11fae00ee/perguntas_qt.pdf?MOD=AJPERES&CACHEID=8e973c004eb686f794f896f11fae00ee> . Acesso em: 25 ago. 2018.

46. PERGUNTAS e respostas sobre radioterapia. Instituto Nacional de Câncer (INCA). Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/d028e6804eb686f9950497f11fae00ee/perguntas_rx.pdf?MOD=AJPERES&CACHEID=d028e6804eb686f9950497f11fae00ee> . Acesso em: 25 ago. 2018.
47. WANG, Andrew Z.; LANGER, Robert; FAROKHZAD, Omid C. Nanoparticle Delivery of Cancer Drugs. **Annual Review of Medicine**, v. 63, n. 1, p.185–198, set. 2012.
48. ZHOU, N. et al. Galactosylated chitosan–polycaprolactone nanoparticles for hepatocyte-targeted delivery of curcumin. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, n. 1, p.420– 429, abr. 2013.
49. TAGNE, J. et al. A nanoemulsion formulation of tamoxifen increases its efficacy in a breast cancer cell line. **Molecular Pharmaceutics**, v. 5, n. 2, p.280-286, jan. 2008.
50. ZHANG, C. et al. Peptide dendrimer-Doxorubicin conjugate-based nanoparticles as an enzyme-responsive drug delivery system for cancer therapy. **Advanced Healthcare Materials**, v. 3, n. 8, p.1299-1308, abr. 2014.
51. WANG, X. X. et al. The use of mitochondrial targeting resveratrol liposomes modified with a dequalinium polyethylene glycol-distearoylphosphatidyl ethanolamine conjugate to induce apoptosis in resistant lung cancer cells. **Biomaterials**, v. 32, n. 24, p.5673-5687, ago. 2011.
52. SAMPAIO, Marina C. **Desenvolvimento e caracterização de nanoemulsões à base de óleo de buriti (*Mauritia flexuosa*) para avaliação de efeitos biológicos em células de câncer de mama *in vitro***. 2017. 87 f. Dissertação (Mestrado em Nanociência e Nanobiotecnologia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

53. OMBREDANE, Alicia Simalie. **Síntese verde de nanopartículas de prata a partir de extrato aquoso do tubérculo de *Curcuma longa* L. associadas à quitosana e avaliação da atividade anti-tumoral in vitro em câncer de pele não melanoma (linhagem A431)**. 2016. 146 f. Dissertação (Mestrado em Nanociência e Nanobiotecnologia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2016.
54. CALIXTO, G. M. F. et al. Nanotechnology-Based Drug Delivery Systems for Photodynamic Therapy of Cancer: A Review. **Molecules**, v. 21, n. 342, p.1-18, mar. 2016.
55. HONG, Eun J.; CHOI, Dae G.; SHIMN, Min S. Targeted and effective photo dynamic therapy for cancer using functionalized nanomaterials. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 6, n. 4, p.297–307, jul. 2016.
56. PAN et al. Enhancement of the photokilling effect of aluminum phthalocyanine in photodynamic therapy by conjugating with nitrogen-doped TiO₂ nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 130, n. 292, p.292-298, jun. 2015.
57. MUEHLMANN, L. A. et al. Aluminium-phthalocyanine chloride nanoemulsions for anticancer photodynamic therapy: Development and in vitro activity against monolayers and spheroids of human mammary adenocarcinoma MCF-7 cells. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 13, n. 36, p.1-11, mai. 2015.
58. WANG, C. et al. Near-infrared light induced in vivo photodynamic therapy of cancer based on up conversion nanoparticles. **Biomaterials**, v. 32, n. 26, p.6145-6154, set. 2011.
59. PASSOS, Simone Karst. **Terapia fotodinâmica com ácido 5-amino-levulínico em nanoemulsão no tratamento de queratoses actínicas e câncer de pele não melanoma: estudo clínico**. 2012. 124 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) - Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

60. LIMA-TENÓRIO, M.K. et al. Magnetic nanoparticles: In vivo cancer diagnosis and therapy. **International Journal of Pharmaceutics**, v.493, n. 1-2, p.313–327, set. 2015.
61. KAMPINGA, Harm H. Cell biological effects of hyperthermia alone or combined with radiation or drugs: A short introduction to newcomers in the field. **International Journal of Hyperthermia**, v. 22, n. 3, p.191-196, mai. 2006.
62. DENNIS, C. L. et al. Nearly complete regression of tumors via collective behavior of magnetic nanoparticles in hyperthermia. **Nanotechnology**, v. 20, n. 39, p.395103-395110, set. 2009.
63. LEE, J. H et al. Exchange-coupled magnetic nanoparticles for efficient heat induction. **Nature Nanotechnology**, v. 6, n. 1, p.418-422, jun. 2011.
64. BAE, K. H. et al. Chitosan oligosaccharide-stabilized ferrimagnetic iron oxide nanocubes for magnetically modulated cancer hyperthermia. **ACS Nano**, v. 6, n. 6, p.5266–5273, mai. 2012
65. JIANG, Y. et al. Combinatorial therapies improve the therapeutic efficacy of nanoliposomal ceramide for pancreatic cancer. **Cancer Biology & Therapy**, v. 12, n. 7, p.574-585, oct. 2011.
66. HE, C. et al. Nanoscale metal–organic frameworks for the co-delivery of cisplatin and pooled siRNAs to enhance therapeutic efficacy in drug-resistant ovarian cancer cells. **Journal of the American Chemical Society**, v. 136, n. 14, p.5181–5184, mar. 2014.
67. SRIRAMAN, S. K. et al. Cytotoxicity of PEGylated liposomes co-loaded with novel pro-apoptotic drug NCL-240 and the MEK inhibitor cobimetinib against colon carcinoma in vitro. **Journal of Controlled Release**, v. 220, n. 1, p.160-168, oct. 2015.

68. GANASSIN, R. et al. Selol nanocapsules with a poly (methyl vinyl ether-co-maleic anhydride) shell conjugated to doxorubicin for combinatorial chemotherapy against murine breast adenocarcinoma in vivo. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**, v. 29, n. 1, p.1-8, mai. 2018.
69. YANG, J. et al. Multifunctional magneto-polymeric nanohybrids for targeted detection and synergistic therapeutic effects on breast cancer. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 46, n. 1, p.8836-8839, nov. 2007.
70. ZHANG, Z. et al. Mesoporous silica-coated gold nanorods as a light-mediated multifunctional theranostic platform for cancer treatment. **Advanced Materials**, v. 24, n. 1, p.1418-1423, fev. 2012.
71. CHEN, Q. et al. An albumin-based theranostic nano-agent for dual-modal imaging guided photothermal therapy to inhibit lymphatic metastasis of cancer post- surgery. **Biomaterials**, v. 35, n. 34, p.9355-9362, ago. 2014.
72. QUINTANA, A. et al. Design and function of a dendrimer-based therapeutic nanodevice targeted to tumor cells through the folate receptor. **Pharmaceutical Research**, v. 19, n. 9, p.1310-1316, set. 2002.
73. GANTA, S. et al. Formulation development of a novel targeted theranostic nanoemulsion of docetaxel to overcome multidrug resistance in ovarian cancer. **Drug Delivery**, v. 23, n. 3, p.958-970, jun. 2016.
74. SHI, J. et al. Cancer nanomedicine: progress, challenges and opportunities. **Nature Reviews: Cancer**, v. 17, n. 1, p.20-37, nov. 2017.

SOBRE OS ORGANIZADORES



Graziella Anselmo Joanitti

Bióloga pela UnB, mestre e doutora em Biologia Animal, com ênfase em biologia celular e nanotecnologia, pela UnB; doutorado sanduíche (Northeastern University (EUA)); Profa. Assistente na UnB; credenciada no PPG em Nanociência e Nanobiotecnologia e no PPG em Ciências e Tecnologias em Saúde da UnB. É uma das pesquisadoras integrantes do INCT em Nanobiotecnologia. Atua na área de desenvolvimento de nanoestruturas baseadas em compostos naturais para aplicações biomédicas e nutracêuticas.



Paulo César de Morais

Especialista em nanomateriais; Professor Titular (UnB); Professor Emérito (UnB); Professor Visitante (HUST e AHU – China); Professor (UCB); Pesquisador CNPq-1A; Membro Sênior IEEE; Parecerista (40+); Membro de corpo editorial (7); 450+ trabalhos no WoS; 130+ palestras (20+ países); Orientador de 70+ estudantes; Coordenador de projetos nacionais (10+ instituições) e internacionais (15+ países). Bacharel em Química e Física (UnB); Mestre em Física (UnB); Doutor em Física (UFMG); Pós-doutorado (Bellcore – USA).



Ricardo Bentes de Azevedo

Biomédico pela UFPA, mestre e doutor em Biologia Celular e Tecidual pela USP-SP; pós-doutor pelo NIH (EUA). Prof. titular livre em Nanobiotecnologia pelo IB-UnB; Prof. Honorário pela Universidade de Jinan (China); bolsista de produtividade 1A do CNPq e Coordenador do INCT em Nanobiotecnologia. Possui mais de 200 artigos publicados em diferentes periódicos científicos, incluindo Nature, Biomaterials, Nanoscale, entre outros. Atua na área de Nanotecnologia aplicada a saúde humana e animal.

NANOTECNOLOGIA: CONSIDERAÇÕES EM MATERIAIS, SAÚDE E MEIO AMBIENTE

Qualquer leitor, com o mínimo de interesse em Tecnologia, não pode ficar alheio à Nanociência e Nanotecnologia (N&N), que representam importantes fronteiras do conhecimento científico e tecnológico. O traço da N&N é a transversalidade de sua atuação e o impacto que protagoniza nos dias de hoje, em franco crescimento. Este livro foi concebido e produzido para fornecer ao leitor informações básicas e aplicadas sobre a N&N. O livro destaca duas vertentes importantes da N&N: síntese e caracterização de nanomateriais e aplicações em saúde e meio ambiente. O texto não pretende cobrir todo o universo da N&N, porém inclui tópicos relevantes, organizados dos fundamentos para as aplicações, oferecendo ao leitor um marco introdutório, que por iniciativas individuais poderá se aprofundar em diferentes direções da N&N. O texto reflete parte da experiência acumulada pela rede de N&N, organizada a partir do trabalho conjunto de diferentes laboratórios e unidades acadêmicas pertencentes à Universidade de Brasília (UnB), com foco no ensino de pós-graduação, pesquisa, desenvolvimento e inovação. Esta rede foi organizada a partir do final da década de 1990, e nos anos subsequentes estendeu-se muito além da UnB, envolvendo cerca de duas dezenas de instituições parceiras no país e no exterior, coletando o saldo de quase um milhar de patentes e artigos publicados em revistas científicas indexadas e cerca de cinco centenas de orientações de alunos de pós-graduação.