

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO – UFRJ  
INSTITUTO DE MACROMOLÉCULAS PROFESSORA ELOISA MANO – IMA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE POLÍMEROS

**NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA ENCAPSULADAS COM PBS-PEG PARA USO  
NA HIPERTERMIA**

CARLOS AUGUSTO ZANONI SOUTO

Rio de Janeiro

2019

CARLOS AUGUSTO ZANONI SOUTO

**NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA ENCAPSULADAS COM PBS-PEG PARA USO  
NA HIPERTERMIA**

Dissertação em Ciência e Tecnologia de Polímeros, submetida ao Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências, em Ciência e Tecnologia de Polímeros.

Orientador: Prof. Fernando Gomes de Souza Jr.  
Corientador: Prof. André Romero da Silva

Rio de Janeiro

2019

## CIP - Catalogação na Publicação

A728n Augusto Zanoni Souto, Carlos  
Nanopartículas de magnetita encapsuladas com PBS  
PEG para uso na hipertermia / Carlos Augusto Zanoni  
Souto. -- Rio de Janeiro, 2019.  
76 f.

Orientador: Fernando Gomes de Souza Júnior.  
Coorientador: André Romero da Silva.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do  
Rio de Janeiro, Instituto de Macromoléculas  
Professora Eloisa Mano, Programa de Pós-Graduação em  
Ciência e Tecnologia de Polímeros, 2019.

1. Hipertermia magnética . 2. Nanopartículas .  
3. Fármacos . 4. Polímero biodegradável. 5. Câncer .  
I. Gomes de Souza Júnior, Fernando, orient. II.  
Romero da Silva, André, coorient. III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob a responsabilidade de Miguel Romeu Amorim Neto - CRB-7/6283.

**CARLOS AUGUSTO ZANONI SOUTO**

**NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA ENCAPSULADAS COM PBS-PEG PARA USO  
NA HIPERTERMIA**

Dissertação em Ciência e Tecnologia de Polímeros, submetida ao Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências, em Ciência e Tecnologia de Polímeros.

Aprovado em: 27/02/2019

**BANCA EXAMINADORA**



Orientador Prof. Dr. Fernando Gomes de Souza Junior  
Universidade Federal do Rio de Janeiro



Profª. Dra. Elizabeth Fernandes Lucas  
Universidade Federal do Rio de Janeiro



Profª. Dra. Vania Emerich Bucco de Campos  
Fundação Centro Universitário Estadual da Zona Oeste



Dra. Geiza Esperandio de Oliveira  
Universidade Federal do Rio de Janeiro

## RESUMO

O câncer é uma das principais causas de morte no mundo e, com base no documento *World Cancer Report* (2014) da Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) da Organização Mundial da Saúde (OMS), é inquestionável que o câncer é um problema de saúde pública, especialmente entre os países em desenvolvimento. Assim, o investimento em pesquisa e desenvolvimento de métodos e tratamentos medicamentosos tem sido alavancado nas últimas décadas. Embora novos métodos terapêuticos tenham sido descobertos, ainda existem tipos de neoplasias para os quais o medicamento não possui uma estratégia de tratamento definida. Devido a isso, uma técnica tem recebido atenção particular, a hipertermia, um modelo que combinado com a nanotecnologia e chamado de magnetohipertermia, baseado no princípio de que as nanopartículas magnéticas são direcionadas para o local de interesse e geram calor através de um campo magnético alternado. Desta forma, ocorre a liberação de energia térmica, conseqüentemente, eliminando as células tumorais devido às altas temperaturas. A hipertermia interfere diretamente na vida celular, causando necrose por efeito físico, interferindo na membrana plasmática, no núcleo e no citoesqueleto.

Nesse estudo, foram sintetizados nanopartículas de magnetita que foram encapsuladas com um copolímero poli (succinato de butileno) conjugado com poli (etileno glicol) (PBS-PEG). O copolímero também foi sintetizado durante o trabalho, o PBS-PEG foi escolhido por ser um material com características de biocompatibilidade necessárias para aplicações biomédicas. A presença do PEG na estrutura do polímero causa o aumento da solubilidade das nanopartículas em um meio aquoso devido a boa interação do PEG com a água, essa característica aumenta o tempo de circulação das nanopartículas na corrente sanguínea. O sistema imunológico tem dificuldade em reconhecer partículas com boa solubilidade em meio aquoso e com diâmetro até 200 nm, impedindo que o corpo elimine as nanopartículas antes que o procedimento de hipertermia seja realizado. Nesta pesquisa também realizou-se a caracterização de nanopartículas de magnetita livres e encapsuladas assim como a caracterização do copolímero PBS-PEG.

Palavras Chaves: Câncer, hipertermia, polímero, magnetita, carreadores nanoparticulados.

## **ABSTRACT**

Cancer is one of the leading causes of death worldwide and, based on the World Cancer Report (2014) document of the International Agency for Research on Cancer (IARC) of the World Health Organization (WHO), it is unquestionable that cancer is a public health problem, especially among developing countries. Thus, investment in research and development of methods and drug treatments have been leveraged in the last decades. Although new therapeutic methods have been discovered, there are still types of neoplasms for which the medicine has no defined treatment strategy. Because of this, a technique has received particular attention, hyperthermia, a model that combined with nanotechnology and called magnetohyperthermia, based on the principle that the magnetic nanoparticles is directed to the place of interest and generate heat through an alternating magnetic field. In this way, the release of thermal energy occurs, consequently, eliminating tumor cells due to high temperatures. Hyperthermia directly interferes with cell life causing necrosis by physical effect, interfering with the plasma membrane, nucleus, and cytoskeleton.

In this study, magnetite nanoparticles were synthesized which were encapsulated with a poly (butylene succinate) conjugated poly (ethylene glycol) copolymer (PBS-PEG). The copolymer was also synthesized during study, PBS-PEG was chosen because it is a material with biocompatibility characteristics necessary for biomedical applications. The presence of PEG in the polymer structure causes increased solubility of nanoparticles in an aqueous environment due to the good interaction of PEG with water, which increases the circulation time of the nanoparticles in the blood stream. The immune system has difficulty to recognizing particles with good solubility in aqueous medium and with a diameter until to 200 nm, preventing the body from eliminating the nanoparticles before the hyperthermia procedure is performed. In this research also carried out the characterization of free and encapsulated magnetite nanoparticles as well as the characterization of the PBS-PEG copolymer.

**Keywords:** Cancer, hyperthermia, polymer, magnetite, nanoparticulate carriers.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Unidade repetitiva do PBS e a presença do grupo éster.....	35
Figura 2: Representação do PEG.....	36
Figura 3: Estrutura do Citrato de Sódio .....	44
Figura 4: Espectro do DRX da magnetita.....	48
Figura 5: Espectro de FTIR da magnetita.....	49
Figura 6: Espectro de FTIR dos polímeros PBS, PEG e PBS-PEG.....	50
Figura 7: Estrutura do PBS-PEG.....	50
Figura 8: Gráfico de TGA das nanopartículas de magnetita.....	51
Figura 9: Gráfico de TGA dos polímeros PBS, PEG, PBS-PEG e das nanopartículas de magnetita encapsuladas.....	52
Figura 10: Gráfico de DSC das nanopartículas de magnetita.....	53
Figura 11: Gráfico de DSC dos polímeros PBS, PEG, PBS-PEG e das nanopartículas de magnetita encapsuladas.....	54
Figura 12: Distribuição de tamanho das nanopartículas de magnetita obtido por (DLS) .....	55

Figura 13: Distribuição de tamanho das nanopartículas de magnetita encapsulada obtido por (DLS).....	56
Figura 14: Imagem obtida no MEV das nanopartículas de magnetita.....	58
Figura 15: <b>(A)</b> Gráfico da espectroscopia EDS das nanopartículas de magnetita, <b>(B)</b> Imagem obtida no MEV da região analisada pelo EDS.....	59
Figura 16: Imagem obtida no MEV das nanopartículas de magnetita encapsulada.....	60
Figura 17: <b>(C)</b> Gráfico da espectroscopia EDS das nanopartículas de magnetita encapsulada, <b>(D)</b> Imagem obtida no MEV da região analisada pelo EDS.....	61
Figura 18: Estudo estatístico Corrente <i>versus</i> Tempo dos testes de hipertermia para as nanopartículas de magnetita encapsulada.....	64
Figura 19: Estudo estatístico Valores preditos <i>versus</i> Valores observados do teste de hipertermia para as nanopartículas de magnetita encapsulada.....	65

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Levantamento bibliográfico de artigos no Google Acadêmico e Science Direct.....	39
Tabela 2: Fatores e níveis aplicados nos ensaios de indução das nanopartículas de magnetita encapsulada.....	47
Tabela 3: Testes de potencial zeta.....	57
Tabela 4: Resultados da variação da temperatura obtidos pelo fatorial.....	62
Tabela 5. Estudo estatístico dos teste de hipertermia para as nanopartículas de magnetita encapsulada.....	63

## LISTA DE ABREVIATURAS

CMA - Campo magnético alternado DLS - Espalhamento dinâmico de luz

DSC - Calorimetria diferencial de varredura

EDS - Espectroscopia por energia dispersiva

FTIR - Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier

HPV - Papiloma vírus

HT - Hipertermia

IARC - Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer

INCA- Instituto Nacional do Câncer no Brasil

MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura

OMS - Organização Mundial da Saúde

PBS-PEG - Poli (succinato de butileno-b-etilenoglicol)

PBS - Poli (succinato de butileno)

PEG - Poli (etileno glicol)

PVA - Álcool polivinílico

DRX - Difração de raio x

STA - Termo Análise Simultânea

TDI - Tolueno Diisocianato

TGA - Análise termogravimétrica

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	13
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	14
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	15
3.1	CÂNCER	15
3.2	A HISTÓRIA DO CÂNCER	16
3.3	CÉLULAS CANCERÍGENAS	19
3.4	O PROCESSO DE CARCINOGENESE	21
3.5	FORMAS TRADICIONAIS DE TRATAMENTO DO CÂNCER	22
<b>3.5.1</b>	<b>Cirurgia</b>	22
<b>3.5.2</b>	<b>Radioterapia</b>	24
<b>3.5.2</b>	<b>Quimioterapia</b>	26
3.6	HIPERTERMIA	28
3.7	NANOPARTÍCULAS METÁLICAS	29
3.8	NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS	31
3.9	NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE FERRO	32
3.10	NANOTECNOLOGIA E OS SISTEMAS CARREADORES DE FÁRMACOS	32
3.11	PBS-PEG	35
3.12	BIBLIOMETRIA	37
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	40
4.1	MATERIAIS	40
<b>4.1.1</b>	<b>Para a síntese do PBS e sua modificação com TDI</b>	40
<b>4.1.2</b>	<b>Para a síntese do PBS-PEG</b>	40
<b>4.1.3</b>	<b>Purificação do PBS-PEG</b>	40
<b>4.1.4</b>	<b>Síntese da magnetita</b>	40
<b>4.1.5</b>	<b>Síntese das nanopartículas</b>	41

4.2	LISTA DOS EQUIPAMENTOS	41
4.3	METODOLOGIA	42
4.3.1	<b>Síntese do PBS</b>	42
4.3.2	<b>Modificação do PBS com TDI</b>	42
4.3.3	<b>Síntese do PBS-PEG</b>	42
4.3.4	<b>Purificação do PBS-PEG</b>	43
4.3.5	<b>Síntese das nanopartículas de magnetita</b>	43
4.3.6	<b>Encapsulamento das nanopartículas de magnetita</b>	44
4.4	CARACTERIZAÇÕES	45
4.4.1	<b>Espalhamento dinâmico de luz (DLS) e potencial zeta</b>	45
4.4.2	<b>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e espectroscopia por energia dispersiva (EDS)</b>	45
4.4.3	<b>Difração de Raios X (DRX)</b>	46
4.4.4	<b>Espectroscopia de Infravermelho (FTIR)</b>	46
4.4.5	<b>Termo Análise Simultânea (STA)</b>	46
4.4.6	<b>Indução magnética</b>	47
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	47
5.1	DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)	48
5.2	ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER – (FTIR)	49
5.3	ANÁLISES TERMOGRAVIMÉTRICAS (TGA) E DE CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC)	51
5.4	ESPALHAMENTO DINÂMICO DE LUZ (DLS)	55
5.5	POTENCIAL ZETA	57
5.6	MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA (MEV) E ESPECTROSCOPIA POR ENERGIA DISPERSIVA (EDS)	58
5.7	INDUÇÃO MAGNÉTICA	62
6	<b>CONCLUSÃO</b>	67
	<b>REFERÊNCIAS</b>	69

## 1 INTRODUÇÃO

Com base no documento World cancer report 2014 da International Agency for Research on Cancer (IARC), da Organização Mundial da Saúde (OMS), é inquestionável que o câncer é um problema de saúde pública, especialmente entre os países em desenvolvimento (INCA, 2016).

Estimativas realizadas em 2012 mostraram que os tipos de câncer mais incidentes no mundo foram pulmão (1,8 milhão), mama (1,7 milhão), intestino (1,4 milhão) e próstata (1,1 milhão). Nos homens, os mais frequentes foram pulmão (16,7%), próstata (15,0%), intestino (10,0%), estômago (8,5%) e fígado (7,5%). Em mulheres, as maiores frequências foram encontradas na mama (25,2%), intestino (9,2%), pulmão (8,7%), colo do útero (7,9%) e estômago (4,8%) (INCA, 2016; HOWLADER *et al.*, 2017).

A estimativa para o Brasil, biênio 2018-2019, aponta a ocorrência de cerca de 600 mil casos novos de câncer. Excetuando-se o câncer de pele não melanoma (aproximadamente 170 mil casos novos), ocorrerão cerca de 420 mil casos novos de câncer. O perfil epidemiológico observado assemelha-se ao da América Latina e do Caribe, onde os cânceres de próstata (68 mil) em homens e mama (60 mil) em mulheres serão os mais frequentes. Sem contar os casos de câncer de pele não melanoma, os tipos mais frequentes em homens serão próstata (31,7%), pulmão (8,7%), intestino (8,1%), estômago (6,3%) e cavidade oral (5,2%). Nas mulheres, os cânceres de mama (29,5%), intestino (9,4%), colo do útero (8,1%), pulmão (6,2%) e tireoide (4,0%) figurarão entre os principais. (INCA, 2018).

O impacto econômico dos tratamentos do câncer estava em torno de US\$ 895 bilhões em 2008, desconsiderando os custos médicos diretos. Esse valor representava 1,5% do PIB do mundo naquela época. Os gastos com câncer foram 19% maiores que os destinados às doenças cardíacas (\$ 753 bilhões), sendo esta a segunda causa de morte no mundo (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2009).

Diante dos fatos, o investimento em pesquisa e o desenvolvimento de métodos e tratamentos medicamentosos foram alavancados nas últimas décadas. Novos quimioterápicos foram descobertos (ALTIERI, 2008), terapias padrão foram associadas (cirurgia, radioterapia e quimioterapia) (JALALI; MUNSH; ARORA, 2008) com novas terapias como a hormonioterapia (LEVIN; PIETRAS, 2007), imunoterapia (ZITVOGEL *et*

*al.*, 2008) e a hipertermia (TARATULA *et al.*, 2015). Os avanços da oncologia têm reduzido os efeitos colaterais como alopecia (queda de cabelo), alterações gastrintestinais (náuseas, vômitos e diarreia) e adinamia (prostração física), bem como aumentado o tempo de vida dos pacientes.

Apesar de novos métodos terapêuticos terem sido descobertos, existem ainda tipos de neoplasias para as quais a medicina não tem estratégia definida de tratamento. Devido a isto, uma técnica tem recebido especial atenção, a hipertermia, um modelo que combinado com a nanotecnologia chamada magnetohipertermia, baseado no princípio de que as nanopartículas magnética seja direcionado ao local de interesse e gere calor por meio de um campo magnético alternado. Desta forma ocorre a liberação de energia térmica, eliminando, conseqüentemente, as células tumorais devido a temperaturas elevadas. A hipertermia interfere diretamente na vida celular, causando necrose por efeito físico, interferindo na membrana plasmática, no núcleo e no citoesqueleto.

## **2 OBJETIVOS**

O objetivo principal deste trabalho é sintetizar e encapsular nanopartículas de magnetita no copolímero poli (succinato de butileno-b-etilenoglicol) (PBS-PEG) com a finalidade de serem usadas na hipertermia magnética para o tratamento do câncer.

### **2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Realizar a síntese do copolímero PBS-PEG;
- Realizar a síntese da magnetita;
- Caracterização do tamanho das nanopartículas;
- Avaliar o aquecimento das nanopartículas gerado por meio de testes de indução magnética.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 CÂNCER

O câncer ou neoplasia (neo = novo; plasia = formação) é o nome que se dá ao conjunto de doenças onde ocorre a proliferação descontrolada de determinados tipos celulares no organismo. Ao se multiplicarem excessivamente sem controle, essas células acabam tendo suas funções alteradas (como a perda da capacidade de diferenciação celular) e formam aglomerados denominados de tumores. O tumor ou tumoração é qualquer aumento de volume localizado em um órgão, independentemente da causa, em que o edema resulta do processo inflamatório. As células tumorais passam por uma série de alterações morfo-funcionais de expressão gênica, conferindo um fenótipo tumoral. Estas sofrem uma série de mutações, que ocorrem principalmente em genes cujos produtos estão envolvidos com a indução da proliferação celular (o que explica o crescimento descontrolado do tumor) e inibição do processo apoptótico (o que explica a grande sobrevivência destas células) (MARCELO MANTOVANI; MARTINIANO DE AZEVEDO, 2005; ARTUR MALZYMER; RICARDO CAPONERO, 2013).

O câncer é uma doença multifatorial, ou seja, não há apenas uma causa para esta doença e sim um conjunto de fatores. Além disso, cada câncer é diferente do outro, ou seja, as causas de uma neoplasia podem ser totalmente diferentes de outra. Em geral, as causas são mutações espontâneas juntamente com a ação de numerosos agentes cancerígenos de origem física (ex. radiação), química (ex. benzeno) ou biológica (ex. papiloma vírus - HPV) aos quais nos expomos ao longo da vida. Os fatores genéticos também contribuem para o aparecimento da doença (MARCELO MANTOVANI; MARTINIANO DE AZEVEDO, 2005; ARTUR MALZYMER; RICARDO CAPONERO, 2013; RYAN *et al.* 2013).

Ao manter hábitos de vida saudáveis como a prática de exercícios, manter uma dieta balanceada, não possuir vícios como o cigarro e álcool e evitar longas exposições ao sol ajudam a prevenir certos tipos de câncer, porém não elimina a possibilidade de se ter a doença. Existem mais de 200 tipos de câncer que afetam diferentes órgãos ou

sistemas no corpo. Alguns cânceres são mais facilmente curados por serem mais comuns e mais conhecidos do que outros, além disso o tratamento também é influenciado pelo estágio em que o câncer é descoberto. Existem 4 estágios do câncer, o estágio conhecido como I é quando a neoplasia ou a parte de maligna existente é precocemente diagnosticada e o estágio IV é quando o câncer está amplamente espalhado (VAL SPEECHLEY; MAXINE ROSEFIELD, 2003; SWEENEY *et al.*, 2015; SASSE *et al.*, 2017).

### 3.2 A HISTÓRIA DO CÂNCER

Algumas das primeiras evidências de câncer humano foram encontradas entre os ossos fossilizados de múmias humanas no Egito antigo. E também foi descrito pela primeira vez (embora a palavra câncer não tenha sido utilizada) também no Egito, há cerca de 3000 a.C. no conhecido “Edwin Smith Papiro” (uma cópia de parte de um livro egípcio antigo) foi na Escola de Medicina de Hipócrates na Grécia (pioneiros a separar a medicina da magia) que primeiramente se definiu a doença. Esta foi definida como um tumor duro que, muitas vezes, reaparecia depois de retirado. Desta época até o século XVI, os conhecimentos gerais de medicina consideravam que o câncer era um desequilíbrio dos fluídos corpóreos e/ou um desequilíbrio do sistema linfático (COLLINS, 2004; TEIXEIRA; FONSECA, 2007).

Durante o Renascimento, a partir do século XV, os cientistas desenvolveram uma maior compreensão do corpo humano. Cientistas como Galileu e Newton começaram a usar o método científico, que mais tarde foi usado para estudar a doença. Autópsias, feitas por Harvey (1628), levaram a uma compreensão da circulação do sangue através do coração e do corpo que até então era um mistério (CANCER.ORG, 2016).

Somente no século XVIII, com os estudos do patologista italiano Giovanni Morgagni que o câncer passou a ser entendido de forma diferente. Ele foi responsável por caracterizar o câncer como uma unidade específica, localizada em uma parte do corpo. Ainda neste mesmo período, o médico Marie Bichat colaborou mostrando que os órgãos possuíam diferentes tecidos que, por sua vez, eram afetados por diferentes

tipos de câncer. E o médico Joseph Claude Anthelme Recamier foi o primeiro a identificar um caso de metástase causada pela corrente sanguínea ou linfática (HAJDU, 2011a, 2011b, 2012b).

O famoso cirurgião escocês John Hunter (1728-1793) também deu sua contribuição sugerindo que alguns tipos de câncer poderiam ser curados por cirurgia e descreveu como o cirurgião pode decidir qual câncer operar. Se o tumor não tinha invadido tecidos nas proximidades e for "móvel", disse ele, "não há nenhuma impropriedade em removê-lo." (SOUZA, 2011)

Com o advento da cirurgia, a doença ganhou novo patamar, possibilitado tanto pelo início da utilização de anestésicos como éter e clorofórmio quanto pelas técnicas de assepsia e anti-sepsia criadas pelo cirurgião Joseph Lister. No fim do século XIX, com o aumento dos conhecimentos de técnicas cirúrgicas e o crescente interesse dos médicos pela oncologia, surgiram os primeiros casos de sucesso em procedimentos cirúrgicos, como a remoção de um tumor no estômago (1881) e a mastectomia (1890) (TEIXEIRA; FONSECA, 2007).

Apesar da cirurgia ampliar as possibilidades de intervenção contra o câncer, as grandes transformações no tratamento vieram da colaboração entre a medicina e outros campos de investigação, como a física e a química. Com a descoberta dos raios X, pelo físico alemão Wilhelm Konrad Roentgen, no início do século XX alguns diagnósticos sobre tumores e outras doenças começaram a ser feitos. A técnica precária da utilização dos raios X fazia com que a elaboração de uma chapa levasse cerca de 30 minutos para ser concluída. Esse tempo alto de exposição foi visto como um aspecto negativo, pois gerava irritações e queimaduras na pele dos pacientes, além de afetar os pesquisadores que trabalhavam com essa nova tecnologia. Mas ao longo do tempo, alguns médicos observaram que essas exposições mais intensas também causavam a destruição dos tecidos e de lesões cancerígenas. Com esta descoberta, logo também passaram a testá-la na busca da cura de diversas doenças. No caso do câncer, a utilização da radioterapia parecia ser promissora. Em 1902, surgiram os primeiros trabalhos na Associação Americana de Cirurgia, afirmando a importância dos raios X no tratamento das displasias. A partir de então, a técnica começou a ser utilizada por alguns médicos no tratamento de cânceres cutâneos e, em seguida, em

tumores internos (HAJDU, 2012a; HAJDU; DARVISHIAN, 2013; HAJDU; VADMAL, 2013).

O crescimento do interesse das diversas áreas científicas pelo câncer propiciou a fundação de muitos centros especializados como o “*German Central Committe for Cancer Research*” na Alemanha (1900), “*American Association for Cancer*” (1907) e o Instituto Radium de Paris (1919). Este último foi fundado pelo governo francês e pela ilustre cientista Marie Curie, que teve papel fundamental no aprimoramento das técnicas de raios X. Com as novas políticas de paz implantadas com o final da Primeira Guerra Mundial, os países criaram diversas associações de saúde e institutos específicos para a doença com troca de conhecimentos entre eles (ação que inspirou o surgimento do INCA- Instituto Nacional do Câncer no Brasil em 1948) (TEIXEIRA; FONSECA, 2007).

O período entre a Primeira e a Segunda Grandes Guerras Mundiais foi marcado pelo surgimento de uma das práticas mais importantes de tratamento para o câncer: a quimioterapia. O gás mostarda que era usado como arma química durante os combates por ser uma substância altamente tóxica. Seu contato direto causa a morte em cerca de poucos minutos. Assim foi estudado em algumas pesquisas médicas conduzidas com soldados sobreviventes na época. Os resultados mostraram que o contato moderado com esta substância causava a diminuição de leucócitos no sistema linfático e na medula óssea, indicando um caminho para combater a leucemia (TEIXEIRA; FONSECA, 2007).

Em 1941, dois farmacologistas americanos pesquisadores da Universidade de Yale, Louis Goodman e Alfred Gilman, demonstraram em cobaias animais que o gás mostarda causava a redução de alguns linfomas e, posteriormente, concluiriam que também proporcionava o desaparecimento de tumores em pessoas doentes. No ano seguinte, estes farmacologistas em parceria com o cirurgião Gustav Linskog, desenvolveram e aplicaram o primeiro fármaco para tratamento do câncer, a Mecloretamina que é utilizada para casos de linfoma de Hodkin e leucemia. Após a criação de alguns fármacos específicos para o combate ao câncer pela indústria farmacêutica, uma descoberta mudou os rumos do tratamento quimioterápico. Ao assimilar a mesma estratégia de tratamento utilizada para o tratamento de tuberculose com antibióticos (em que cada fármaco associado deve combater um agente específico

da doença), foi criado um método para dificultar a metástase e a recorrência dos tumores. Os primeiros estudos conduzidos usando esta estratégia ocorreram em centros americanos como o “*St. Jude Children’s Research Hospital*” e o “*National Cancer Institute*” e abriram caminhos para novos métodos, como a terapia adjuvante (terapia após a cirurgia), neo-adjuvante (terapia realizada antes da cirurgia) e outras que são usadas nos dias de hoje (TEIXEIRA; FONSECA, 2007).

### 3.3 CÉLULAS CANCERÍGENAS

As células neoplásicas possuem genes especiais chamados de protooncogenes, que a princípio estão inativos em células normais. Estes genes quando ativados transformam-se em oncogenes, que são responsáveis pela malignização (transformação) das células normais. Essas células transformadas passam a ter um comportamento anormal, multiplicando-se de maneira descontrolada. A principal diferença entre uma célula tumoral e uma célula normal é que o crescimento ou a multiplicação desta última persiste mesmo na ausência de fatores de crescimento. Com a constante proliferação celular, há a necessidade de formação de novos vasos sanguíneos, para que haja a nutrição destas células, em um processo denominado angiogênese. O acúmulo de massa dessas células em constante multiplicação forma o tumor (BELIZÁRIO, 2002; ALMEIDA *et al.*, 2005; MING-CHUN *et al.*, 2018).

Para um tumor ser considerado maligno não basta que as células se multipliquem em excesso. Elas precisam ignorar as restrições de crescimento impostas pelas células vizinhas normais e pelas diferentes partes do organismo. O que realmente diferencia um tumor benigno de um maligno é a capacidade deste de invadir outros tecidos compostos de células normais e formar novos cânceres. Por este motivo, considera-se cancerosa uma célula que adquire as seguintes características: 1. Perda do controle de crescimento e da divisão celular; 2. Imortalização celular, promovida pela ativação da enzima telomerase; 3. Presença de alterações de forma e de número dos cromossomos; 4. Perda de função celular e da capacidade de especialização ou diferenciação; 5. Perda de propriedades adesivas da membrana plasmática, que promove o reconhecimento célula-célula e também a inibição por contato do movimento

e crescimento celular; 6. Capacidade de invadir tecidos vizinhos, vasos sanguíneos e formar metástase (nova lesão tumoral a partir de outra); e 7. Capacidade de angiogênese. Estas características serão explicadas mais detalhadamente adiante (BELIZÁRIO, 2002; ALMEIDA *et al.*, 2005; JAMES *et al.*, 2017).

Uma das principais características das células cancerosas é a sua imortalidade que é geneticamente determinada. Por causa das diversas alterações que a célula sofre, esta escapa do seu ciclo celular normal, aumentando o tempo de vida e o tempo de permanência na divisão celular. O conceito de imortalidade celular está intimamente relacionado ao conceito de um relógio celular, capaz de contar o número de replicações e a cessação das mesmas. O telômero é o responsável pelo limite de divisões celulares de uma célula normal, este se encurta a cada divisão celular e com as sucessivas divisões os telômeros ficam tão curtos que desencadeiam a morte celular (apoptose). Uma célula neoplásica não possui este limite de replicações e isto se dá pela expressão da enzima telomerase. A telomerase ativa permite que os telômeros mantenham seu comprimento máximo e assim a célula consiga se dividir muitas vezes e ainda continuar viva (PARSONS, 2003; SILVA *et al.*, 2014). Outra característica marcante está relacionada aos cromossomos. Os núcleos das células cancerosas possuem formato aberrante e irregular, nos cromossomos estão presentes translocações, quebras e cópias extras de braços. Durante o processo de divisão celular (mitose) das células neoplásicas, ocorrem alterações que ocasionam em separação anormal das cópias de cromossomos fazendo com que as células filhas possuam número de cromossomos diferentes da célula mãe (aneuploidia). Com isso, as células do câncer apresentam instabilidade genética (BELIZÁRIO, 2002; ALMEIDA *et al.*, 2005; ROBINSON *et al.*, 2015).

Outra característica das células neoplásicas é que, geralmente estas são menos especializadas nas suas funções do que as suas correspondentes normais. Assim, conforme as células cancerosas vão substituindo as células normais, os tecidos invadidos vão perdendo suas funções e ocorre disfunção orgânica que pode levar à falência do órgão ou, em casos mais graves, a morte do paciente. A Bioquímica das células tumorais também é diferente, estas apresentam uma diminuição das estruturas juncionais, mudanças de expressão das moléculas de adesão (caderinas) e diminuição

da fibronectina, com isso ocorre a perda das propriedades adesivas da membrana plasmática e aumenta a capacidade de motilidade e evasão destas células. Com este aumento da motilidade, as células tumorais podem adquirir a capacidade de se desprenderem do tumor e de migrarem, invadindo inicialmente os tecidos vizinhos, podendo alcançar o interior de um vaso sanguíneo ou linfático e, através destes, disseminarem-se, chegando a órgãos distantes do local onde o tumor se iniciou, formando as metástases (BELIZÁRIO, 2002; ALMEIDA *et al.*, 2005).

### 3.4 O PROCESSO DE CARCINOGENÊSE

O processo de formação do câncer é denominado carcinogênese, e em geral se dá de forma lenta. Para que uma célula cancerosa prolifere e origine um tumor possível de ser detectável pode demorar anos e esse processo passa por vários estágios. Estes estágios são: o de iniciação; o de promoção; e o de progressão que serão explicados individualmente adiante. (ALMEIDA *et al.*, 2005; INCA, 2018b)

**Estágio de iniciação:** Conhecido como a primeira fase da carcinogênese. Nesta, as células sofrem uma consequência irreversível da interação com um agente oncogênico, que provoca modificações em alguns dos seus genes. As células encontram-se geneticamente alteradas, porém ainda não é clinicamente possível se detectar um tumor. Neste estágio, as células encontram-se "preparadas", ou seja, "iniciadas" para a ação de um segundo grupo de agentes que atuará no próximo estágio (H.YUSPA, 2000; ALMEIDA *et al.*, 2005; BAMIAS *et al.*, 2017; INCA, 2018b).

**Estágio de promoção:** É conhecida como a segunda fase da carcinogênese. Nesta, as células "iniciadas" (geneticamente alteradas) sofrem o efeito dos agentes conhecidos como oncopromotores. Este é um processo reversível, onde a célula alterada é transformada em célula maligna, de uma forma lenta e gradual. Para que ocorra essa malignização, é necessário um longo e continuado contato da célula com o agente cancerígeno promotor e a suspensão do contato muitas vezes interrompe o processo nesse estágio (H.YUSPA, 2000; ALMEIDA *et al.*, 2005; SHORE *et al.*, 2016; INCA, 2018b).

Estágio de progressão: É a terceira e última fase. Esta caracteriza-se pela multiplicação descontrolada e desordenada, sendo um processo irreversível. O tumor já está instalado, evoluindo até o surgimento das primeiras manifestações clínicas da doença. Os fatores que promovem a iniciação e/ou progressão da carcinogênese são chamados agentes oncoaceleradores ou carcinógenos. O fumo é um agente carcinógeno completo, pois possui componentes que atuam nos três estágios da carcinogênese (ALMEIDA *et al.*, 2005).

### 3.5 FORMAS TRADICIONAIS DE TRATAMENTO DO CÂNCER

Existem três tipos principais de tratamento para o câncer: cirurgia; radioterapia e quimioterapia, sendo que o objetivo de cada um destes tratamentos pode ser a cura ou apenas o controle da doença, normalmente por meio da terapia combinada, onde é associado mais que um tipo de tratamento. Cada um destes tratamentos principais serão abordados com mais detalhes abaixo. A escolha do tratamento irá depender se o câncer está confinado a um órgão ou área do corpo ou se está espalhado (TEIXEIRA; FONSECA, 2007; ARTUR MALZYMER; RICARDO CAPONERO, 2013).

#### 3.5.1 Cirurgia

A cirurgia é utilizada para prevenir, diagnosticar a fase e tratar o câncer. A cirurgia também pode aliviar o desconforto ou problemas relacionados ao câncer. Às vezes, uma cirurgia pode cuidar de mais de um desses objetivos. Em outros casos, diferentes operações podem ser necessárias ao longo do tempo.

Como foi descrito, a cirurgia é uma maneira de ajudar a diagnosticar o câncer. Na maioria dos casos, a única maneira de saber se uma pessoa tem câncer e qual o tipo de câncer é através da retirada de um pequeno pedaço de tecido e analisá-lo. Este procedimento é chamado de biópsia. Após a biópsia, um patologista (médico especializado na interpretação de exames laboratoriais e avaliação de células, tecidos e órgãos) examina o tecido (“cancer.org/surgery”, 2016).

A cirurgia também pode ser feita para descobrir o quanto o câncer se espalhou e assim detectar o estágio da doença, esta é chamada de encenação. Durante esta operação, a área em torno do câncer, incluindo os gânglios linfáticos e órgãos adjacentes é examinada. Isto é importante porque fornece informações para orientar as decisões de tratamento e também prever como as pessoas vão reagir ao tratamento. Já a cirurgia curativa ou primária é normalmente feita quando o câncer é encontrado em apenas uma parte do corpo, e é provável que todo o câncer possa ser removido. Neste caso, a cirurgia é o tratamento principal, mas pode ser usada em conjunto com outros tratamentos, como a quimioterapia ou terapia de radiação, que podem ser administrados antes ou após a operação. A cirurgia de diminuição de volume é usada para remover uma parte, mas não o câncer todo e é geralmente feita quando a retirada de todo o tumor pode causar muitos danos aos órgãos ou tecidos próximos. Neste caso, outros tipos de tratamentos são necessários para eliminar a doença (“Centro de oncologia”, 2016).

A cirurgia paliativa é utilizada para tratar os problemas causados pelo câncer avançado e não para o tratamento do câncer propriamente dito. Esta pode ser utilizada para corrigir um problema que está causando desconforto ou alguma deficiência no organismo. Por exemplo, alguns tipos de câncer no abdômen podem crescer o suficiente para obstruir o intestino. Se isso acontecer, a cirurgia pode ser usada para remover o bloqueio. A cirurgia paliativa também pode ser utilizada para tratar a dor quando esta é difícil de controlar por outros meios. A cirurgia de apoio é feita para ajudar a tornar mais fácil outros tipos de tratamento. Por exemplo, um dispositivo de acesso vascular, que pode ser colocado cirurgicamente numa veia grande e conectado a um pequeno dispositivo que é colocado sob a pele. A cirurgia reconstrutiva é usada para melhorar a forma como o paciente se olha após cirurgia do câncer. Também é usada para restaurar a função de um órgão ou parte do corpo após a cirurgia. Exemplos incluem a reconstrução da mama após mastectomia ou a utilização de retalhos de tecido, enxertos ósseos, ou prótese. A cirurgia preventiva ou profilática é feita para remover o tecido do corpo que está susceptível a se tornar um câncer, embora não exista sinais de câncer no momento da cirurgia. Às vezes, um órgão inteiro é removido, isso ocorre quando a pessoa tem uma condição que a coloca em risco

muito elevado de ter câncer no local. A cirurgia é feita para reduzir o risco de câncer e ajudar a prevenir este risco, mas não garante a prevenção do câncer (“Paciente com câncer”, 2016).

### **3.5.2 Radioterapia**

A radioterapia utiliza radiações de alta energia para diminuir os tumores e matar as células tumorais. As radiações usadas são geralmente raios gama, radioisótopos como cobalto-60, raios-X e até prótons e mésons pi negativos. A radioterapia é comumente usada em conjunto com a cirurgia, com incremento da eficiência do tratamento, mas mesmo isoladamente, ela pode diminuir tumores grandes, diminuir a recorrência e a chance de metástase, sendo uma metodologia antineoplásica muito usada (“cancer.org/radiotherapy”, 2016).

A radioterapia mata as células cancerosas, danificando seu DNA. Ela pode danificar o DNA diretamente ou criar partículas carregadas (radicais livres) no interior das células, que por sua vez podem danificar o DNA. As células cujo DNA é danificado param de se dividir ou morrem. Quando as células danificadas morrem, elas são decompostas e eliminadas através de processos naturais do corpo. Entretanto, a terapia de radiação também pode danificar as células normais, levando a efeitos secundários. A quantidade de radiação que o tecido normal pode receber com segurança é conhecida por todas as partes do corpo e os médicos usam essas informações para ajudá-los a decidir para onde apontar a radiação durante o tratamento (“cancer.org/radiotherapy”, 2016).

A radioterapia, assim como a cirurgia, pode ser usada para diferentes fins. A terapia de radiação é por vezes usada com finalidade curativa, ou seja, com a esperança de que o tratamento cure o câncer, quer pela eliminação de um tumor, pela prevenção da recorrência do câncer ou ambos. Em tais casos, a terapia de radiação pode ser utilizada sozinha ou em combinação com cirurgia, quimioterapia ou ambos. A radioterapia também pode ser remissiva, quando o objetivo é apenas a redução tumoral; profilática, quando se trata a doença em fase subclínica, isto é, não há volume tumoral presente, mas possíveis células neoplásicas dispersas; paliativa, quando se

busca a remissão de sintomas tais como dor intensa, sangramento e compressão de órgãos; e ablativa, quando se administra a radiação para suprimir a função de um órgão (INCA, 2018b).

A radioterapia possui algumas limitações. Se uma área do corpo foi previamente tratada com a terapia de radiação, dependendo da quantidade de radiação que foi administrada durante o tratamento inicial, esta região não poderá ser tratada com radiação por uma segunda vez. Porém, se uma parte do corpo já recebeu a dose máxima segura de radiação, uma outra área do corpo pode ainda ser tratada com terapia de radiação, se a distância entre as duas zonas for grande o suficiente.

O paciente pode receber terapia de radiação antes, durante ou após a cirurgia. Alguns pacientes podem receber terapia de radiação sozinha, sem cirurgia ou outros tratamentos. Alguns pacientes podem receber terapia de radiação e quimioterapia, ao mesmo tempo. O momento da terapia de radiação depende do tipo de câncer a ser tratado e do objetivo do tratamento (cura ou paliativo). A terapia de radiação administrada antes da cirurgia pode ser dada para encolher o tumor, assim quando este é removido por cirurgia eles ficam menos propensos a regressar. A terapia de radiação dada durante a cirurgia é chamada de radioterapia intra-operatória e pode ser por terapia de feixe externo de radiação ou braquiterapia. Quando a radiação é administrada durante a cirurgia, os tecidos normais vizinhos podem ser fisicamente protegidos contra a exposição à radiação. A terapia de radiação dada após a cirurgia é chamada de radioterapia pós-operatória ou adjuvante. A combinação de quimioterapia e terapia de radiação administradas ao mesmo tempo é, por vezes, chamado radioquimioterapia. Para alguns tipos de câncer, a combinação de quimioterapia e terapia de radiação pode matar mais células cancerosas, aumentando a probabilidade de uma cura, porém também pode provocar efeitos mais adversos (INCA, 2018b).

Com esses métodos de tratamento citados, um terço dos pacientes consegue ser curado através de medidas locais (cirurgia ou radioterapia), que são eficazes quando o tumor ainda não sofreu metástase. Todavia, nos demais casos, a neoplasia caracteriza-se pelo desenvolvimento precoce de micro-metástases, indicando a necessidade de uma abordagem sistêmica, que pode ser efetuada, em cerca de 60-70% dos casos com a quimioterapia (INCA, 2018b).

### 3.5.3 Quimioterapia

O objetivo da quimioterapia é destruir as células neoplásicas, preservando as normais. Contudo, a maioria dos fármacos quimioterápicos atua de forma não-específica, lesando tanto células doentes quanto as saudáveis, particularmente as células de rápida divisão como as células gastrointestinais, as da medula óssea, dos folículos pilosos, de reprodução e as do sistema imunológico. Por este motivo, a maior parte dos efeitos adversos da quimioterapia são náuseas, erosões do trato gastrointestinal (mucosite, aftas), perda de cabelo, diminuição da fertilidade e maior susceptibilidade às infecções, devido a diminuição do número de células do sangue (mielossupressão, manifestada por anemia, baixa de glóbulos brancos e/ou das plaquetas). Apesar de durante o tratamento estes efeitos aparecerem, o corpo consegue se recuperar destes inconvenientes após o tratamento, e o uso clínico desses ativos exige que os benefícios sejam confrontados com a toxicidade, na procura de um índice terapêutico favorável. Um fator muito importante para obtenção de êxito na quimioterapia é a precocidade do diagnóstico tumoral (entre  $10^9$  e  $10^{12}$  células, ou seja, um tumor com tamanho inferior a 1 cm). É desejável na quimioterapia usar doses altas, capazes de atingir o maior nível de morte celular possível. Mesmo assim, é imprescindível repetir o tratamento em múltiplos ciclos, para matar todas as células tumorais (ALMEIDA *et al.*, 2005; MORRIS *et al.*, 2018).

A quimioterapia também pode ser empregada para diferentes finalidades. Ela pode ser curativa, quando é usada com o objetivo de se conseguir o controle completo do tumor. A quimioterapia pode ser adjuvante, quando se segue à cirurgia curativa, tendo o objetivo de esterilizar células residuais locais ou circulantes, diminuindo a incidência de metástases à distância. Pode ser neoadjuvante ou prévia, quando indicada para se obter a redução parcial do tumor, visando uma complementação terapêutica com a cirurgia e/ou radioterapia. E também pode ser paliativa, quando não tem finalidade curativa. Usada para melhorar a qualidade de vida ou até mesmo prolongar a sobrevivência do paciente (INCA, 2018b).

Os tumores que são curáveis pela quimioterapia são chamados de quimiossensíveis e o tratamento destes com a quimioterapia fornece uma grande e rápida destruição das células tumorais. Porém, esta destruição em massa de células pode ter algumas consequências muito sérias como insuficiência renal, aumento do potássio a níveis críticos, entre outras. Os principais fármacos antineoplásicos empregados no tratamento do câncer classificam-se em: agentes alquilantes; antimetabólitos; antibióticos antitumorais; inibidores mitóticos e outros. Os agentes alquilantes são compostos capazes de substituir em outra molécula um átomo de hidrogênio por um radical alquil. Eles se ligam ao DNA impedindo a separação dos dois filamentos da dupla hélice espiralar. Este fenômeno é indispensável para a replicação das células. Os agentes alquilantes afetam de modo inespecífico as células em todas as fases do ciclo celular. Apesar de serem efetivos como agentes em monoterapia para inúmeras formas de câncer, eles raramente produzem efeito clínico ótimo sem a combinação com outros agentes fase-específicos do ciclo celular (INCA, 2018b).

Os agentes antimetabólitos afetam as células inibindo as funções do DNA e do RNA de diversas maneiras. Esta inibição pode ser dirigida às purinas, neste caso com a inibição de precursores essenciais do DNA. Pode ser também dirigida à produção de ácido timidílico ou a outras etapas da síntese de ácidos nucleicos. Os antimetabólitos são particularmente ativos contra células que se encontram na fase de síntese do ciclo celular, conhecida como fase S. As células são impedidas de entrar em mitose pela ação dos agentes metabólicos que atuam nesta fase. Os antibióticos, também classificados como produtos naturais, possuem estrutura química variada que, embora interajam com o DNA inibindo a síntese deste ou a síntese de proteínas, não atuam especificamente sobre uma fase do ciclo celular. Apesar da variação na estrutura, promovem a produção de radicais livres reativos, através de anéis insaturados que permitem a incorporação de excesso de elétrons. Os antibióticos também podem apresentar outro grupo funcional que lhes acrescenta novos mecanismos de ação, como alquilação, inibição enzimática ou inibição da função do DNA por intercalação. Os inibidores mitóticos possuem ação sobre a proteína tubulina, formadora dos microtúbulos que constituem o fuso espiralar, pelo qual migram os cromossomos na mitose. Durante a metáfase, os cromossomos são impedidos de migrar, ocorrendo a

interrupção da divisão celular. Esta classe de fármacos, devido ao seu modo de ação específico, é muito usada em combinação com agentes específicos da fase S do ciclo, fornecendo uma maior efetividade da quimioterapia. Alguns fármacos não podem ser agrupados em uma determinada classe de ação farmacológica pois agem através de mecanismos distintos. Estes são então classificados como outros agentes (LAURENCE BRUNTON, 2012).

### 3.6 HIPERTERMIA (HT)

A hipertermia (HT) é um tipo de tratamento do câncer no qual o tecido do corpo é exposto a altas temperaturas (até 45°C). Pesquisas vem mostrando que altas temperaturas podem danificar e matar células cancerosas, geralmente com lesões mínimas nos tecidos normais (SAPARETO; DEWEY, 1984). Ao matar células cancerosas e danificar proteínas e estruturas interna das células (BASS; MOORE; COAKLEY, 1978), a hipertermia pode encolher tumores.

Vale ressaltar que as conseqüências de um aumento na temperatura dependem da duração da HT, homogeneidade da temperatura no tecido, tipo de tecido e contexto do tratamento. A indução de morte celular por necrose e / ou apoptose de células cancerígenas pode ocorrer mesmo com regimes de temperatura tão baixos quanto 42°C mantidos por mais de uma hora (SAPARETO; DEWEY, 1984). A HT pode ser utilizada também em conjunto com outras técnicas, aumentando minimamente a temperatura do tecido alvo para alterar sua fisiologia e preparar o tecido para uma resposta maior a outras modalidades terapêuticas, como quimioterapia ou radioterapia (CHATTERJEE *et al.*, 2013).

Uma variedade de técnicas têm sido empregadas para atingir a HT na clínica da prática moderna, incluindo a radiação eletromagnética, laser, microondas e radiofrequência ou ultra-som de alta intensidade focada. Dependendo da extensão da exposição do corpo ao calor, existem três tipos de HT convencionalmente empregados na prática clínica-corpo inteiro, regional e local. A HT de corpo inteiro é obtido usando mantas de água quente e câmaras térmicas, enquanto a HT regional inclui a perfusão de um membro portador de tumor com parte do sangue do paciente que é retirado e

aquecido e feita uma perfusão do peritônio com uma solução aquecida agentes anticancerígenos em casos de neoplasias peritoneais como o mesotelioma. Esses métodos não possuem especificidade e são tecnicamente desafiadoras para executar repetidamente com níveis de aquecimento reproduzíveis. O terceiro tipo é HT local, que possui especificidade. Técnicas de HT luminal e intersticial empregam sondas e aplicadores personalizados colocados perto do tumor individualmente ou como uma grade para alcançar um aquecimento relativamente uniforme do tumor. A colocação de fontes de aquecimento externas dentro de tumores ou antenas metálicas que são ativadas por uma fonte de energia externa são geralmente invasivas, desafiadoras para tumores profundos e, muitas vezes, resultam em distribuições de calor em todo o tumor que não são uniformes. As técnicas de aquecimento externo, como ultra-som e electromagnéticos não são invasivas como os implantes luminais e intersticiais, mas vêm com os seus próprios desafios com a obtenção e manutenção de níveis de aquecimento reproduzíveis e uniformes (FELDMAN *et al.*, 2003).

### 3.7 NANOPARTÍCULAS METÁLICAS

As nanopartículas são tradicionalmente definidas como materiais com sua dimensão mais longa menor que 100 nm, embora partículas com até 1 micrômetro de tamanho também sejam frequentemente incluídas nessa definição. Nanopartículas metálicas frequentemente demonstram propriedades únicas que podem ser exploradas para ganho terapêutico. Isso acontece devido a sua maior área superficial que aumenta a interação das partículas com o ambiente onde estão inseridas (CHATTERJEE; DIAGARADJANE; KRISHNAN, 2011).

Os avanços na fabricação e engenharia de nanopartículas permitem agora um nível sem precedentes de precisão no projeto de partículas com propriedades de superfície finamente ajustadas que podem ser modificadas para interação com sistemas biológicos. É nesse contexto que as nanopartículas são visualizadas como condutores para a geração de HT (CHATTERJEE; DIAGARADJANE; KRISHNAN, 2011). As nanopartículas podem ser projetadas como absorvedores específicos de radiação eletromagnética sintonizada para uma conversão eficiente dessa energia em calor, que

por sua vez é transmitida aos tecidos em que as nanopartículas residem (KRISHNAN; DIAGARADJANE; CHO, 2010).

As fontes de energia mais comuns usadas para gerar calor usando nanopartículas são campo magnético alternado e luz, as nanopartículas metálicas, sendo excelentes condutores de calor, transmitem eficientemente o calor gerado dentro delas aos tecidos adjacentes. Quando administrados por via intravenosa, eles podem se acumular preferencialmente em tumores através do efeito de permeabilidade e retenção, em que partículas em torno de 200nm, extravasam passivamente os vasos sanguíneos tumorais vazios, caóticos e imaturos (MAEDA, 2010). Os macrófagos circulantes e as células reticuloendoteliais residentes no baço e no fígado reconhecem essas partículas como estranhas, envolve e eliminam-nas da circulação. A redução do tamanho das partículas tem mostrado ajudar na depuração renal e evitar a captura reticuloendotelial (CHOI *et al.*, 2007).

Um método alternativo para evitar a captura é manter uma carga quase neutra na superfície das partículas, de forma que as proteínas plasmáticas não se adsorvam à sua superfície, e dispararem a depuração dos macrófagos. Outro método empregado é revestir a superfície das partículas com substâncias que as tornam menos perceptíveis para o sistema imunológico. Comumente, a superfície das nanopartículas é funcionalizada com materiais hidrofílicos e biocompatíveis que são resistentes à protease, não-imunogênicos e não antigênicos. Isso aumenta o tempo de circulação das nanopartículas permitindo uma maior acumulação passiva nos tumores. Além da acumulação passiva em tumores, nanopartículas podem ser revestidas com moléculas alvo, como peptídeos que se dirigem ao tumor e anticorpos que permitem a ancoragem a antígenos específicos do câncer (“alvo ativo”) para alcançar um acúmulo e especificidade ainda maiores, reduzindo assim dano térmico colateral aos tecidos normais adjacentes quando ativados por meio de um gatilho externo (CHERUKURI; GLAZER; CURLEYA, 2010). O direcionamento da distribuição de nanopartículas aos tumores reduz os efeitos colaterais do tratamento (WANG; THANOU, 2010). As nanopartículas não-direcionadas entram nas células através de mecanismos celulares inatos de endocitose onde a membrana plasmática que engloba e envolve a nanopartícula (SAHAY; ALAKHOVA; KABANOV, 2010). As nanopartículas internalizadas

podem impedir os processos celulares e causar estresse celular, que se manifesta por menor taxa de proliferação (WANG; THANOU, 2010), indução de estresse oxidativo (MANKE; WANG; ROJANASAKUL, 2013), ruptura do citoesqueleto (XU *et al.*, 2013), impedimento de diferenciação (PANARITI; MISEROCCHI; RIVOLTA, 2012) e dano ao DNA (SINGH *et al.*, 2009). Eles também podem causar autofagia e disfunções lisossomais e outros efeitos, que podem eventualmente desencadear apoptose ou induzir necrose (ELSAESSER; HOWARD, 2012).

### 3.8 NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

Quando o material ferromagnético é magnetizado à saturação (alinhamento de todos os domínios magnéticos) em uma direção, ele toma um campo magnético na direção oposta para retorná-lo ao seu estado original. Campos magnéticos alternados (CMAs) magnetizam e desmagnetizam esses materiais em direções opostas em um ciclo chamado ciclo de histerese. Quando esses materiais são reduzidos a nanopartículas pequenas, sua magnetização pode flutuar para frente e para trás na direção aleatória e rapidamente com mudanças na temperatura e isso resulta na medição da magnetização como zero (superparamagnetismo) na ausência de um campo magnético externo (DENNIS *et al.*, 2008).

No entanto, na presença de um campo magnético, essas nanopartículas superparamagnéticas se comportam como um paramagneto com um único domínio magnético (a soma de todos os spins de elétrons de todos os átomos da nanopartícula alinhados em um único momento magnético gigante), mas com maior suscetibilidade magnética. Quando essas nanopartículas superparamagnéticas são então colocadas em um CMA sintonizado, elas podem ser excitadas ressonantemente para gerar calor (DENNIS *et al.*, 2008).

O relaxamento provoca a liberação de energia quando o dipolo magnético de uma partícula oscila entre duas orientações estáveis dentro de um campo magnético que são separadas por uma barreira de energia. O relaxamento browniano causa colisão aleatória com outras partículas e rotação física de partículas dentro de um CMA.

A reprodução cuidadosa do tamanho, forma e coercividade das nanopartículas e o ajuste da frequência e amplitude CMA aplicadas podem resultar em excitação ressonante de apenas nanopartículas e efeitos mínimos fora do alvo em tecidos normais. (DENNIS *et al.*, 2008).

### 3.9 NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE FERRO

Quando colocadas em um CMA, as nanopartículas de óxido de ferro podem gerar calor e possui aplicações clínicas favoráveis pela sua biocompatibilidade e a versatilidade de fabricação de partículas com uma ampla gama de diâmetros. Elas podem ser modificadas com revestimentos apropriados, incluindo moléculas orgânicas como polímeros, dextrano, dendrímeros, quitosana ou aminossilanos ou moléculas inorgânicas como o ouro, para evitar a agregação e aumentar sua meia-vida circulatória.

As nanopartículas de óxido de ferro, podem ser sintetizadas como nanopartículas superparamagnéticas, elas apresentam magnetização apenas na presença de um campo magnético externo. Quando retirado o campo magnético externo, a partícula não permanece magnetizada. Esse efeito é observado efetivamente em nanopartículas. Partículas superparamagnéticas são tipicamente feitas de óxido de ferro ou outros materiais ferrosos, e são extremamente pequenos, da ordem de 10-100 nanômetros.

A suscetibilidade magnética resultante é consideravelmente maior que a dos materiais paramagnéticos. O CMA faz com que as partículas rapidamente invertam sua polaridade magnética gerando calor. Diversos fatores podem influenciar na extensão desse aquecimento: a magnitude do CMA, o tamanho e a característica das nanopartículas, a concentração no tumor e a profundidade do tumor dentro do corpo (CASSIM *et al.*, 2011).

### 3.10 NANOTECNOLOGIA E OS SISTEMAS CARREADORES DE FÁRMACOS

Uma das áreas que se destaca é a nanotecnologia farmacêutica, que está envolvida no desenvolvimento, caracterização e aplicação de sistemas terapêuticos em

escala nanométrica dos chamados fármacos de liberação controlada. Os sistemas de liberação controlada oferecem vantagens quando comparados aos convencionais na produção de fármacos para uso, já que permitem que substâncias hidrofóbicas possam ser administradas diretamente no sistema circulatório, bem como, em outras vias, como pulmonar, nasal, transcutânea e oral (FAHNING *et al.*, 2013).

Para que um sistema de liberação seja considerado ideal para o uso no tratamento do câncer, ele deve permitir a liberação de concentrações terapêuticas do fármaco ao sítio alvo com pouco ou nenhum acúmulo em células saudáveis e, deve reduzir a agregação sem causar a perda ou alteração da sua atividade quando for incorporado no carreador. Além disso, o sistema não deve apresentar imunogenicidade e deve ser biodegradável (SOARES, 2009).

Pesquisas têm revelado que o acúmulo seletivo dos sistemas carreadores em células tumorais, se deve a presença de poros na faixa de 380 a 780 nm, canais transendoteliais e junções interendoteliais que caracterizam a barreira endotelial ineficiente do tumor (SHENOY *et al.*, 2005). Segundo Konan, Gurny e Allemann (2002), a extensiva angiogênese (formação de novos vasos), o aumento da permeabilidade em razão de vasos “mal vedados”, e a pobre drenagem linfática tumoral resultante de um sistema linfático subdesenvolvido possibilitam que os sistemas carreadores nanométricos possam atingir os sítios de ação por simples difusão.

Sistemas carreadores nanoparticulados como lipossomas, nanopartículas lipídicas, micelas poliméricas, dendrímeros, nanotubos e nanopartículas poliméricas, têm sido desenvolvidos para aumentar especificidade dos fármacos, bem como sanar os problemas da baixa solubilidade (Y. Xin *et al.*, 2016). Nanopartículas poliméricas têm sido amplamente estudadas como sistemas de liberação devido a maior capacidade de carregamento, por permitir a administração dos fármacos hidrofóbicos por via intravenosa. Além disso, a morfologia e a composição da matriz polimérica podem ser otimizadas para que a degradação do polímero seja controlada a fim de liberar a substância encapsulada (THAKOR; GAMBHIR, 2013).

Nanopartículas poliméricas são definidas como sistemas carreadores de fármacos, com diâmetro inferior a 1  $\mu\text{m}$ , e são preparados a partir de polímeros naturais ou sintéticos (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003; SOARES, 2009). Em função das diferenças

estruturais apresentadas e dependendo do método de preparo, elas podem ser classificadas como nanoesferas e nanocápsulas (FAHNING *et al.*, 2013; SOARES, 2009).

As nanoesferas são sólidas e esféricas, formadas assim por uma matriz polimérica, onde moléculas podem se ligar ou ser adsorvidas. Já as nanocápsulas são sistemas vesiculares que possuem em seu núcleo (oleoso ou aquoso) o fármaco rodeado por um invólucro sólido polimérico, podendo o fármaco estar dissolvido neste núcleo e/ ou adsorvido à parede polimérica (THAKOR; GAMBHIR, 2013; FAHNING *et al.*, 2013).

Interessantemente, as nanopartículas, que têm tamanhos entre 10 e 1000 nm, apresentam a importante característica de poderem ser administradas intravenosamente, o que não é possível com as micropartículas, que possuem tamanhos superiores a 1000 nm. O diâmetro dos menores vasos capilares está em torno de 5 a 6  $\mu\text{m}$  e, para que não ocorra embolia as partículas administradas devem ser significativamente menores (HANS; LOWMAN, 2002). Outro ponto importante, é que nanopartículas com tamanhos inferiores a 200 nm permanecem por mais tempo na corrente sanguínea por não serem tão facilmente reconhecidas pelas proteínas plasmáticas (opsoninas) responsáveis por facilitar a ação do sistema retículo endotelial (SILVA, 2007), o que lhe confere um maior acúmulo nos sítios alvos. Portanto, graças ao tamanho nanométrico das nanopartículas, a distribuição endovenosa e a eficiência no processo são otimizadas.

Diversos métodos de preparação de nanopartículas são descritos na literatura, sendo os mais comuns: método de emulsão e evaporação solvente, polimerização do monômero, nanoprecipitação e *salting out* (GOVENDER *et al.*, 1999). Dependendo das características físicas e químicas do polímero e do fármaco, é possível escolher o melhor método e polímero para se obter uma encapsulação eficiente.

As nanopartículas magnéticas feitas de óxidos de ferro, possuem excelente estabilidade química, controle preciso da composição e estrutura e, portanto, alta eficiência em aplicações médicas. No entanto, possuem pouco potencial zeta superficial, que é responsável por repulsões eletrostáticas fracas e, conseqüentemente, tem uma forte tendência a aglomerar-se. Portanto, para uso clínico, essas partículas

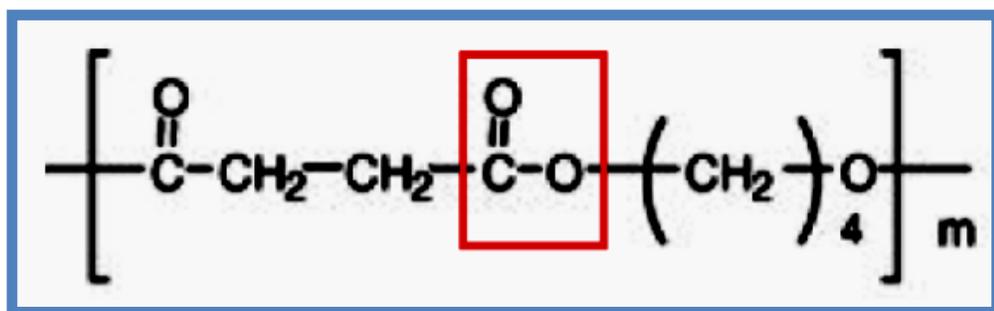
devem ser cobertas com material biocompatível para manter a estabilidade coloidal, mas conservando suas propriedades magnéticas. Os polímeros são os materiais mais utilizados para preparar nanocompósitos magnéticos que são mais interessantes que os NPMs puros para aplicações biomédicas.(GODAGE *et al.*, 2017)

### 3.11 PBS-PEG

O poli (succinato de butileno) (PBS) é um poliéster alifático termoplástico cristalino, este polímero tem recebido mais atenção porque pode ser obtido a partir de fontes renováveis, pela reação de policondensação do ácido succínico com 1,4-butanodiol. Ambos os reagentes podem ser conduzidos por rota fermentativa, caracterizando uma nova rota biotecnológica e sustentável para produção de polímeros (BORGES, 2011; FERREIRA *et al.*, 2014).

Este tipo de polímero pode ser degradado sob condições moderadas de temperatura e pressão (ANDRADE *et al.*, 2010). A biodegradabilidade dos poliésteres está diretamente ligada à presença do grupo éster, como mostra a (Figura 1), que é facilmente hidrolisada, levando à quebra das ligações.

Figura 1: Unidade repetitiva do PBS e a presença do grupo éster.



Fonte: (ADAPTADO, ANDRADE *et al.*, 2010).

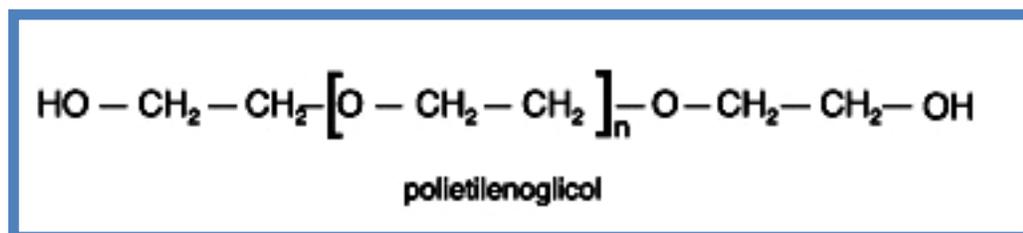
Desenvolvimentos recentes na técnica de fermentação podem ser produzidos por novos biomonômeros. O ácido succínico tem um grande potencial e é um dos principais biointimídeos produzidos a partir de carboidratos, tais como: sacarose, glicose, maltose ou frutose, utilizando o microorganismo *Anaerobiospirillum*

*succiniciproducens*. (ANDRADE *et al.*, 2010). Além disso, possui uma vantagem de, na sua produção por fermentação, o consumo de CO<sub>2</sub>, o que representa uma forma interessante de contribuir para o sequestro do carbono (BORGES, 2011). Já o 1,4-butanodiol, também utilizado na síntese do PBS, pode ser obtido a partir da hidrogenação do ácido succínico o 1,4-butanodiol ou por fermentação direta. Há, portanto, uma possibilidade de obter um polímero a partir de fontes totalmente renováveis (JACQUEL *et al.*, 2011).

O ácido succínico pode ser utilizado em uma variedade de aplicações industriais. Possui grande potencial de se tornar uma commodity, produzida em larga escala, pode ser usada em uma indústria química (onde se destaca a produção de biopolímeros de succinato e solventes verdes), na indústria de alimentos, indústria e cosméticos (produção de antibióticos, vitaminas e surfactantes) (BORGES, 2011). Porém o PBS é um material considerado hidrofóbico o que dificulta a administração intravenosa das nanopartículas, o que faz necessário uma modificação para torna as nanopartículas mais hidrofílicas.

O polietileno glicol (PEG) foi o polímero escolhido para aumentar a hidrofiliabilidade das nanopartículas, O PEG é um poliéter diol linear, comumente usado em uma ampla gama de formulações intravenosa humana, sendo considerado imunologicamente seguro, pois é eliminado do corpo intacto pelos rins (MOGHIMI; HUNTER, 2008).

Figura 2: Representação do PEG.



Fonte: Próprio autor

O PEG é um polímero estável quimicamente, sendo considerado inerte tanto em meio ácido como em meio básico. Devido ao grande número de oxigênios na cadeia polimérica, tem grande propensão à formação de complexos, podendo inclusive

associar-se a eletrólitos em soluções diluídas, é uma substância atóxica, por ser quimicamente inerte, e também apresenta poucos riscos ambientais, podendo ser descartado sem tratamento prévio. É empregado regularmente em cosméticos e como carga em produtos farmacêuticos, por ser expelido pelo corpo sem ser metabolizado (BRAMBILLA *et al.*, 2008).

É um polímero produzido pelo método de polimerização catalítica heterogênea, a partir de monômeros de óxido de etileno. Vários catalisadores são descritos na literatura, tais como: carbonatos e óxidos de metais alcalinos terrosos, compostos de alquil-zinco, alquil e alcoóxidos de alumínio, hidratos de cloreto, brometo e acetato férrico, alcoóxidos de zinco, magnésio, cálcio, e misturas desses materiais com vários sais inorgânicos. A massa molar dos polímeros depende do tipo de catalisador utilizado, bem como das condições de polimerização. Os polímeros de alta massa molar são obtidos como sólidos brancos, enquanto os de menor massa molar (< 1000) são líquidos à temperatura ambiente (MOGHIMI; HUNTER, 2008).

A alta solubilidade do PEG em água é uma característica que permite que ele seja um dos polímeros mais utilizados na liberação controlada. O aumento da interação com a água causado pelo PEG aumenta a solubilidade das nanopartículas, dificultando que o sistema imunológico reconheça as nanopartículas como um corpo estranho, devido a sua solubilidade em meio aquoso, causando assim um aumento do tempo de circulação das nanopartículas (BARRETO *et al.*, 2011).

### 3.12 BIBLIOMETRIA

A fim de destacar a importância do tema, foi feito um levantamento bibliográfico no Google Acadêmico e Science Direct sobre número de publicações entre os anos de 2006 e 2018 utilizando as seguintes palavras:

- Hyperthermia - Para que possamos ter uma ideia do total de artigos publicados em todos os temas envolvendo hipertermia;
- Hyperthermia + Cancer - Para identificarmos a relevância do câncer nos estudos utilizando a hipertermia;

- Hyperthermia + Cancer + Polymer - Para observar a importância dos sistemas poliméricos no tratamento do câncer envolvendo a hipertermia.
- Hyperthermia + Cancer + Polymer + Nanoparticles - Para compreendermos a relevância das nanopartículas poliméricas no tratamento do câncer utilizando a hipertermia;
- Hyperthermia + Cancer + Polymer + Nanoparticles + Magnetite - Para que tenhamos uma ideia da importância da magnetita em sistemas poliméricos nanoparticulados para o tratamento do câncer utilizando a hipertermia;
- Hyperthermia + Cancer + Polymer + Nanoparticles + Maghemite - Para que tenhamos uma ideia da importância da maghemita em sistemas poliméricos nanoparticulados para o tratamento do câncer utilizando a hipertermia.

**Palavras Chaves:**

1- *Hyperthermia*

2- *Hyperthermia + Cancer*

3- *Hyperthermia + Cancer + Polymer*

4- *Hyperthermia + Cancer + Polymer + Nanoparticles*

5- *Hyperthermia + Cancer + Polymer + Nanoparticles + Magnetite*

6- *Hyperthermia + Cancer + Polymer + Nanoparticles + Maghemite*

Total: Representa o total de artigos encontrados na base de dados Google Acadêmico no período de 2006 - 2018 para cada palavra chave.

Total\*: Representa o total de artigos encontrados na base de dados Science Direct no período de 2006 - 2018 para cada palavra chave.

Tabela 1: Levantamento bibliográfico de artigos no Google Acadêmico e Science Direct

Ano	Palavras chave					
	1	2	3	4	5	6
2006	8780	4130	739	425	209	86
2007	10300	5170	1460	1090	295	131
2008	11100	5500	1660	993	395	206
2009	11900	6040	1550	1020	481	244
2010	12300	6050	1770	1360	606	284
2011	13900	7110	2270	1740	799	410
2012	16400	8210	2660	2030	910	444
2013	16600	8630	3050	2500	1080	489
2014	17000	8810	3350	2810	1040	518
2015	17700	9270	3790	3200	1240	589
2016	18500	9800	4090	3560	1330	578
2017	19300	10600	4890	4370	1450	632
2018	13600	8560	4330	4370	1630	720
<b>Total</b>	<b>169680</b>	<b>97880</b>	<b>35609</b>	<b>29468</b>	<b>11465</b>	<b>5331</b>
<b>Total*</b>	<b>25013</b>	<b>9881</b>	<b>3452</b>	<b>2866</b>	<b>1085</b>	<b>537</b>

Fonte: Próprio autor

A Tabela 1 mostra uma visão geral dessas publicações. Utilizando o google acadêmico ao todo foram encontrados 169.680 artigos para hipertermia, sendo 97.880 (57.7%) voltadas para o tratamento do câncer. Dos artigos em hipertermia para o tratamento do câncer 35.609 (36,4%) utilizam algum tipo de polímero na sua formulação, e desses artigos com polímeros 29.468 (82.7%) utilizam nanopartículas, dos 29.468 artigos 11.465 (38,9%) utilizam magnetita e 5331 (18.1%) utilizam maghemita para gerar aquecimento, demonstrando que óxidos de ferro representam aproximadamente 57% das formulações que utilizam nanopartículas poliméricas como carreadores na hipertermia para o tratamento do câncer. Um padrão semelhante foi encontrado no *science direct*, embora seja uma base de dados mais restrita que o google acadêmico; os óxidos de ferro representam (56.6%) das formulações que utilizam nanopartículas poliméricas como carreadores na hipertermia para o tratamento do câncer, somando 1622 artigos no período.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 MATERIAIS**

#### **4.1.1 Para a síntese do PBS e sua modificação com TDI**

Ácido Succínico P.A. ACS (99,0%) - VETEC

1,4 Butanodiol P.S. (99,3%) - VETEC

Ácido orto fosfórico P.A. - VETEC

Graxa de silicone - VETEC

Banho de silicone

Clorofórmio P.A. (99,8%) – VETEC

2,4 Diisocianato de Tolueno – Reduc;

#### **4.1.2 Para a síntese do PBS-PEG**

PBS modificado com TDI

Ácido orto fosfórico P.A. - VETEC

Poli(etilenoglicol) 5000 - Sigma Aldrich

#### **4.1.3 Purificação do PBS-PEG**

Álcool etílico - SYNTH

Diclorometano P.A. ACS (99,5%) - VETEC

#### **4.1.4 Síntese da magnetita**

Cloreto de Ferro III, hexahidratado - VETEC

Hidróxido de potássio - VETEC

Sulfato Ferroso - VETEC

Citrato de sódio - VETEC

Filtro 200nm - CHROMAFIL

#### 4.1.5 Síntese das nanopartículas

Diclorometano P.A. ACS (99,5%) - VETEC

PBS-PEG

Magnetita

Álcool polivinílico (PVA) P.A. (99%) - Sigma Aldrich

#### 4.2 LISTA DOS EQUIPAMENTOS

Os equipamentos utilizados, disponíveis no IMA-UFRJ - Rio de Janeiro - RJ são listados a seguir:

Agitador mecânico (IKA);

Análise Termogravimétrica modelo STA 6000, da Perkin – Elmer;

Balança Analítica Marte AY 220;

Placa de aquecimento com agitação eletromagnética (IKA);

Termopar com visor digital (IKA);

Bomba Primatec modelo 131;

Espectrômetro com transformada de Fourier Perkin-Elmer;

Liofilizador Liotop L101;

Microscópio eletrônico de varredura tabletop marca Hitachi modelo TM3000

Turrax T10 IKA modelo S10N com hastes 10G e 8G;

Destilador de água em inox CIENTEC CT-422;

Deionizador de água JAPI;

Indutor magnético Ambrell EASYHEAT L1

## 4.3 METODOLOGIA

### 4.3.1 Síntese do PBS

Para a síntese do PBS foram utilizados 35,9 g de ácido succínico e 27mL de 1,4-butanodiol e 0,1mL de ácido fosfórico, como catalisador. Estes foram misturados em um balão de 3 bocas, o qual foi fechado sob fluxo de nitrogênio. O vácuo foi aplicado com auxílio de uma bomba. Empregou-se na saída do condensador um balão imerso em um banho de água com gelo, para manter baixa a temperatura da água e evitar que entrasse em ebulição. O trap foi continuamente resfriado em contato com nitrogênio líquido. O sistema foi aquecido a 150°C imerso em um banho de óleo vegetal, sob agitação magnética, durante 7 horas utilizando uma placa de aquecimento.

### 4.3.2 Modificação do PBS com TDI

Para a modificação do PBS com TDI (diisocianato de tolueno) foi adicionado 10mg de PBS em 50ml de clorofórmio sob agitação de 15min, após a agitação foi adicionado 0,14ml de TDI e colocado sob agitação por mais 10min.

### 4.3.3 Síntese do PBS-PEG

Para a síntese do PBS-PEG, foi adicionado 0,05 ml de ácido fosfórico na solução de PBS com TDI e solubilizou-se 10mg de um PEG comercial em 50ml de água em um béquer separado. Após ambas estarem solubilizadas as soluções foram colocadas em um único béquer, onde formam uma mistura bifásica que foi colocada sob agitação por 15min, após a agitação a mistura ficou em repouso por 24 horas para formar um filme de PBS-PEG na interface entre as duas fases.

#### 4.3.4 Purificação do PBS-PEG

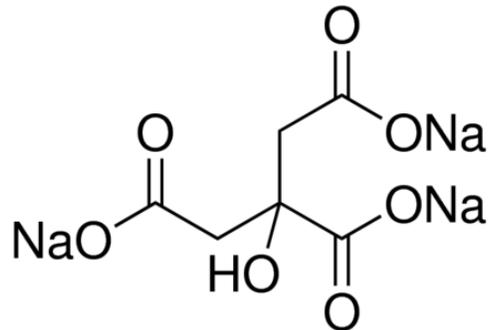
O PBS-PEG sintetizado foi purificado através de dissolução em diclorometano utilizando um bécher e agitação magnética através da placa de agitação. Após a dissolução, foi adicionado etanol em excesso para a precipitação e lavagem dos polímeros purificados. Após aguardar a precipitação por 24 horas, foi feita filtração à vácuo e secagem à temperatura ambiente por 48 horas.

#### 4.3.5 Síntese das nanopartículas de magnetita

As partículas de óxido de ferro (magnetita) ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) foram sintetizadas pelo processo de oxi-redução de  $\text{Fe}^{+2}$  e  $\text{Fe}^{+3}$ , a partir de sais de cloreto de ferro III e sulfato de ferro II, seguida de co-precipitação em solução alcalina, tal como descrito anteriormente por nosso grupo de pesquisa (Pereira, 2016).

Para a síntese das nanopartículas de magnetita foram preparados 25ml de uma solução aquosa de cloreto férrico hexidratado (2,5 mmol) e 25ml de uma solução aquosa de sulfato ferroso heptahidratado (2,5 mmol). As duas soluções foram misturadas em um béquer, onde foi adicionado mais 25ml de água deionizada e deixado sob agitação por 15min. Preparou-se 25ml de uma solução de hidróxido de potássio (2 mol), de onde foi retirado 22,5ml dessa solução e adicionado a mistura após a agitação e a mistura foi colocada novamente sobre agitação por mais 30 min. Após os 30 min foi realizada a etapa de lavagem, onde e colocado um ímã abaixo do béquer para decantar as nanopartículas de magnetita para o fundo e foi retirado o sobrenadante, esse procedimento foi realizado até que o meio onde se encontrava as nanopartículas de magnetita ficasse com pH próximo do neutro. Com o pH neutralizado foi acrescentado citrato de sódio na solução com magnetita a uma concentração de 1,5 (m/v), e a solução ficou sobre agitação por mais 1h. Após a agitação foi feita a etapa de filtração utilizando um papel de filtro para a retirada das partículas de tamanhos maiores e após essa primeira filtragem e feita uma outra filtragem com um filtro acoplado em uma seringa com poros de 200nm. Posteriormente as nanopartículas de magnetita foram liofilizadas.

Figura 3: Estrutura do Citrato de Sódio.



Fonte: Próprio autor

#### 4.3.6 Encapsulamento das nanopartículas de magnetita

As nanopartículas foram preparadas pelo método de emulsão/evaporação. A emulsão foi formada pela por duas fases, na fase aquosa foi adicionado álcool polivinílico (PVA) dando origem a uma solução 0,5% m/m de PVA. Na fase orgânica utilizamos o diclorometano como solvente, onde foi dissolvido PBS-PEG e acrescentado as nanopartículas de magnetita, no qual originou uma solução com 1% m/m de PBS-PEG e 0,3% m/m de magnetita, 3ml da fase orgânica foram adicionados a 30 mL da solução aquosa de PVA (0,5% m/m) através de uma seringa de vidro acoplada a uma agulha. A mistura orgânica/aquosa foi homogeneizada por 15 minutos a uma velocidade de 30.000 rpm através de um homogeneizador do tipo Turrax e um béquer de 100ml, em um banho de gelo para evitar um aumento de temperatura gerado pela agitação do Turrax. Após os 15min as partículas foram colocadas sobre agitação mecânica por 24h para a evaporação do diclorometano. As partículas obtidas foram lavadas usando o mesmo método aplicado na síntese das nanopartículas de magnetita, onde e colocado um ímã abaixo do béquer para decantar as nanopartículas de magnetita encapsulada para o fundo e foi retirado o sobrenadante sendo descartado a fim de eliminar o excesso de PVA presente em solução, esse procedimento foi realizado até não haver mais sinais de PVA residual e posteriormente foram liofilizadas.

## 4.4 CARACTERIZAÇÕES

### 4.4.1 Espalhamento dinâmico de luz (DLS) e potencial zeta

As medidas de potencial zeta e de distribuição de tamanho das nanopartículas foram realizadas via determinação da mobilidade eletroforética das partículas a 25°C, utilizando-se o equipamento Zetatrac da Microtrac com uma célula de teflon contendo um par de eletrodos de paládio. Uma alíquota de 1ml das soluções contendo as nanopartículas de magnetita livres ou encapsulados foram diluídas com água desionizada até o volume final de 5ml e posteriormente colocadas na célula de teflon e analisadas, obtendo os valores de potencial zeta e um gráfico da distribuição de tamanho das nanopartículas.

### 4.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e espectroscopia por energia dispersiva (EDS)

As análises de MEV foram feitas com soluções diluídas de onde foram retiradas alíquotas com uma pipeta Paster e dispersas em um filme condutor dupla face que foi fixado ao porta amostras. As amostras foram estudadas em um Microscópio JEOL JSL 5300 (Jeol Instruments). As amostras de nanopartículas de magnetita encapsuladas foram recobertas com uma fina camada de ouro com a finalidade de evitar o acúmulo de carga eletrostática na superfície do material.

Junto com o MEV foi feito o EDX (*energy dispersive x-ray detector*, EDX ou EDS) que é um acessório essencial no estudo de caracterização microscópica de materiais. Quando o feixe de elétrons incide sobre um mineral, os elétrons mais externos dos átomos e os íons constituintes são excitados, mudam de níveis energéticos. Ao retornarem para sua posição inicial, liberam a energia adquirida a qual é emitida em comprimento de onda no espectro de raios-x. Um detector instalado na câmara de vácuo do MEV mede a energia associada a esse elétron. Como os elétrons de um determinado átomo possuem energias distintas, é possível, no ponto de incidência do feixe, determinar quais os elementos químicos estão presentes naquele local e assim

identificar em instantes que mineral está sendo observado. O diâmetro reduzido do feixe permite a determinação da composição mineral em amostras de tamanhos muito reduzidos, permitindo uma análise quase que pontual. Dessa forma podemos observar as diferenças na composição das nanopartículas de magnetita antes e após a encapsulação.

#### **4.4.3 Difração de Raios X (DRX)**

Para análise das nanopartículas de magnetita foi utilizado o equipamento difratômetro de raios X – DRX Modelo Miniflix Marca Rigaku. A fonte de radiação é de voltagem de 40KV por corrente de 20mA. O alvo do equipamento é placa de cobre, produzindo radiação  $\text{CuK}\alpha$  com comprimento de onda de 0,154 nm. A varredura foi feita em ângulo  $2\theta$ , variando entre 25 e 70° em tempo fixo (FT), sob passo de 0,05°/min.

#### **4.4.4 Espectroscopia de Infravermelho (FTIR)**

As análises foram feitas no espectrômetro com transformada de Fourier Perkin-Elmer 1720X, no qual foi acoplado um acessório ATR com cristal de diamante. A faixa analisada foi de 4000 a 600  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e em atmosfera inerte.

#### **4.4.5 Termo Análise Simultânea (STA)**

As análises de termogravimetria (TGA) e a calorimetria diferencial de varredura (DSC) foram feitas ao mesmo tempo no equipamento Perkin Elmer STA 6000, sob atmosfera de nitrogênio (gás de purga - 20  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ) e na faixa de temperaturas entre 30°C e 700°C, com taxa de aquecimento de 20 °C/min. As amostras foram acondicionadas em panela de alumina aberta. A massa utilizada nas amostras foi ajustada para cerca de 15mg. Antes da primeira análise foi feita uma corrida com o cadinho vazio (branco) para garantir a estabilidade do aparelho.

#### 4.4.6 Indução magnética

Os testes de hipertermia por indução magnética foram realizados usando um modelo Ambrell EASYHEAT L1. As soluções com nanopartículas de magnetita encapsuladas foram colocadas em um béquer que foi termicamente isolado por uma manta de celulose. Logo depois, cada amostra foi inserida dentro da bobina do indutor. Foi feito um fatorial variando variando o tempo e a potência em que as amostras seriam expostas, onde o fator mínimo (-) para o tempo e potência foram respectivamente 300s e 450A, o fator central (0) para o tempo e potência foram respectivamente 600s e 600A, o fator máximo (+) para o tempo e potência foram respectivamente 900s e 750A, como mostrado na (Tabela 2), onde cada ensaio foi feito em triplicata.

Tabela 2: Fatores e níveis aplicados nos ensaios de indução das nanopartículas de magnetita encapsulada.

Fatores Estudados	Níveis		
	-	0	+
Potência (A)	450	600	750
Tempo (s)	300	600	900

Ensaio	Tempo	Corrente
1	-	-
2	+	-
3	-	+
4	+	+
5	0	0

Fonte: Próprio autor

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

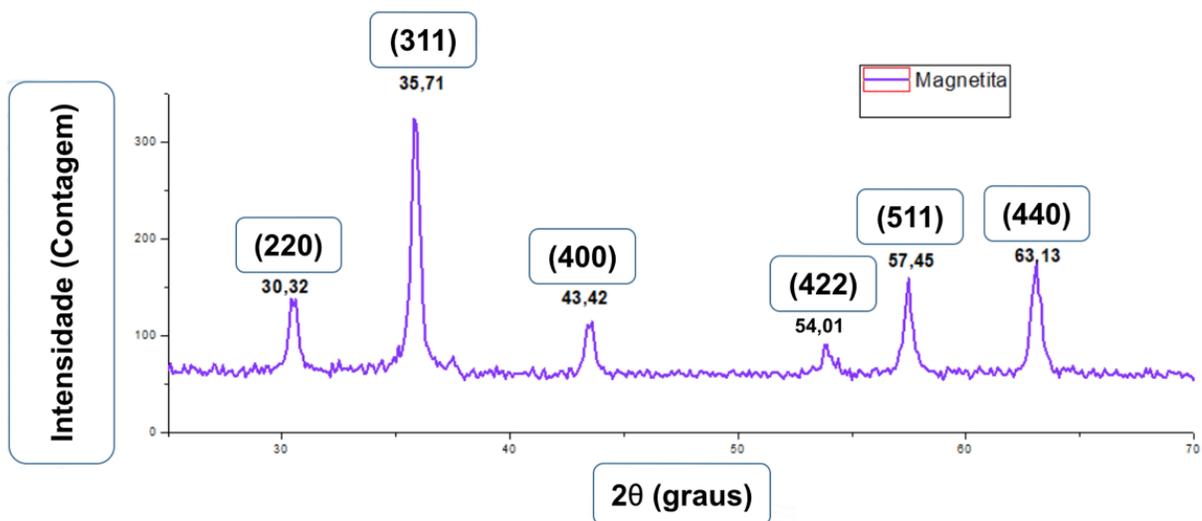
Neste capítulo são apresentados as discussões e os resultados que foram obtidos ao longo desse estudo.

## 5.1 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)

Na Figura 4 é apresentado o difratograma da magnetita. Nesta figura foi possível identificar os picos de difração no ângulo  $2\theta$  em;  $30,3^\circ$ ;  $35,7^\circ$ ;  $43,4^\circ$ ;  $54,0^\circ$ ;  $57,45^\circ$ ;  $63,1^\circ$ . Esses picos podem ser atribuídos aos índices de Miller de, (220), (311), (400), (422), (511) e (440), respectivamente.

Os ângulos da difração em  $2\theta$ , determinados na amostra, foram semelhantes aos apresentados no difratograma padrão (Haavik et al. 2000). Assim, por esse estudo foi possível confirmar que os planos cristalinos presentes na amostra produzida correspondem aos cristais de magnetita.

Figura 4: Espectro do DRX da magnetita.



Fonte: Próprio autor

O tamanho tamanho de partícula foi calculado segundo equação de Scherrer (Equação 1), usando o pico de difração que ocorre em ângulo de  $2\theta$  igual a  $35,71^\circ$ . O tamanho médio calculado foi de 18 nm. Isso é um indicativo de que essas partículas podem ser superparamagnéticas (CASSIM *et al.*, 2011).

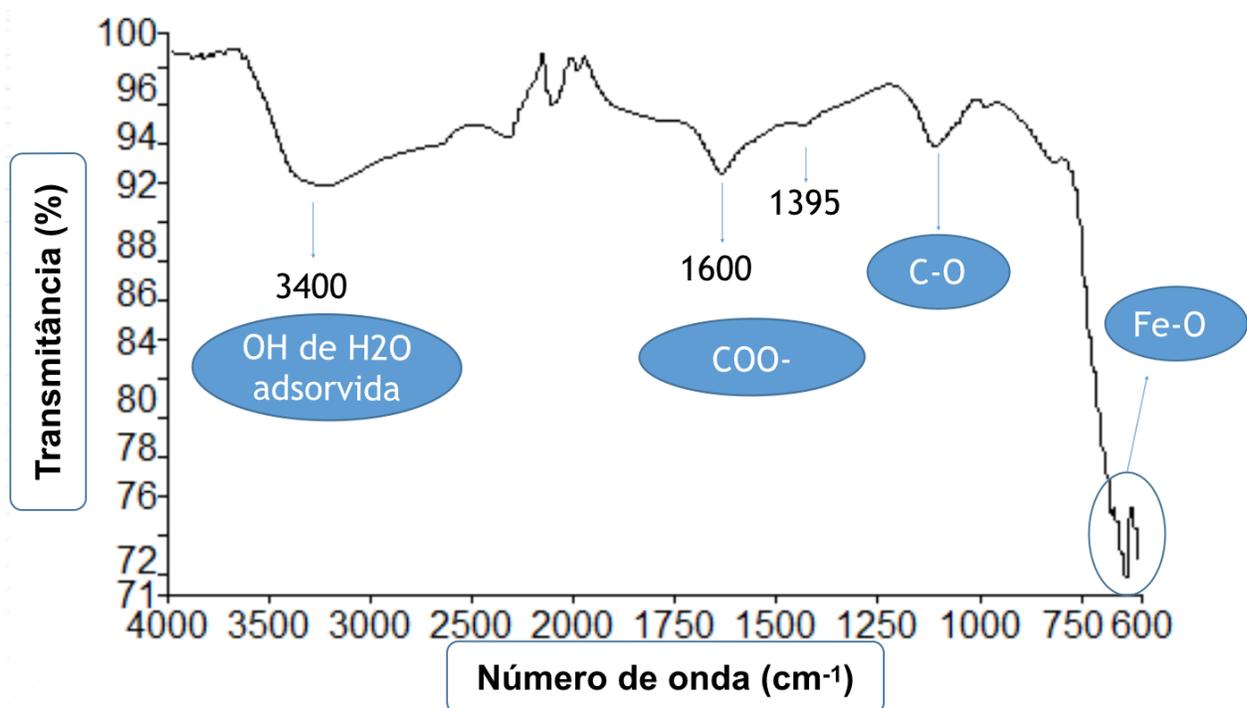
$$L_c = K\lambda / (\beta \cos \theta)$$

(Equação 1)

## 5.2 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER – (FTIR)

A Figura 5 mostra o espectro do FTIR da magnetita. Observou-se uma banda, de intensidade elevada, no comprimento de  $630\text{ cm}^{-1}$ , que pode ser atribuída às vibrações da ligação Fe-O do óxido de ferro. A ampla banda, observada em torno de  $3400\text{ cm}^{-1}$  é típica do estiramento dos grupamentos hidroxila (OH) presentes na superfície das partículas, ou devido a água residual, comuns em magnetita oriunda de sínteses em baixas temperaturas. É possível observar também picos em  $1600\text{ cm}^{-1}$  e  $1395\text{ cm}^{-1}$ , vibrações moleculares ocorridas no grupamento  $\text{COO}^-$  (carboxila), e  $1106\text{ cm}^{-1}$  vibrações ocorridas na ligação C-O, provenientes do citrato de sódio. O aparecimento dessas bandas pode confirmar que a síntese da magnetita foi bem sucedida.

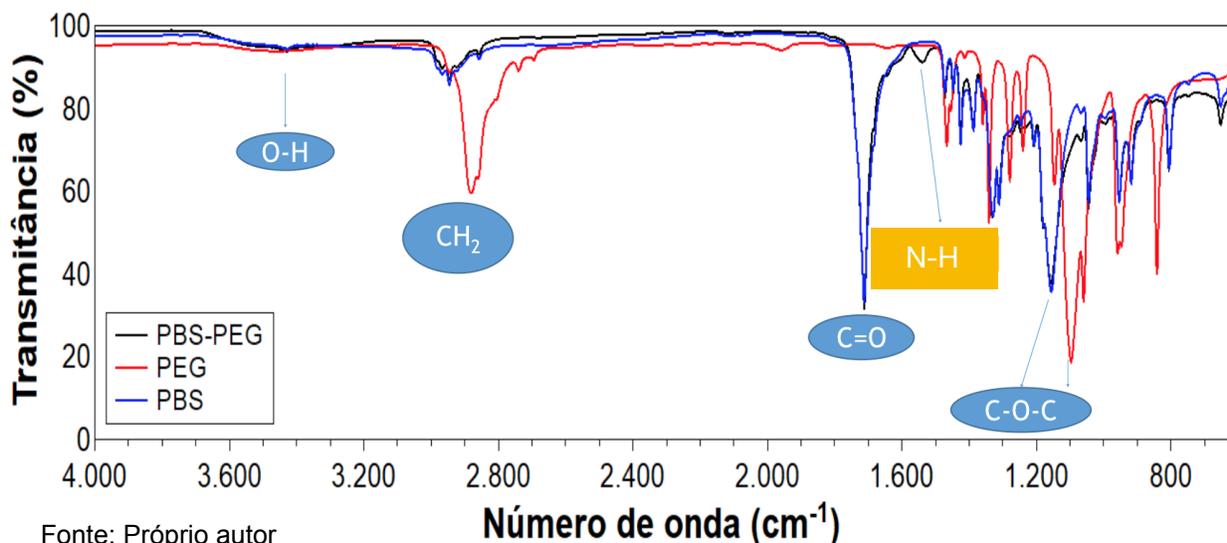
Figura 5: Espectro de FTIR da magnetita.



Fonte: Próprio autor

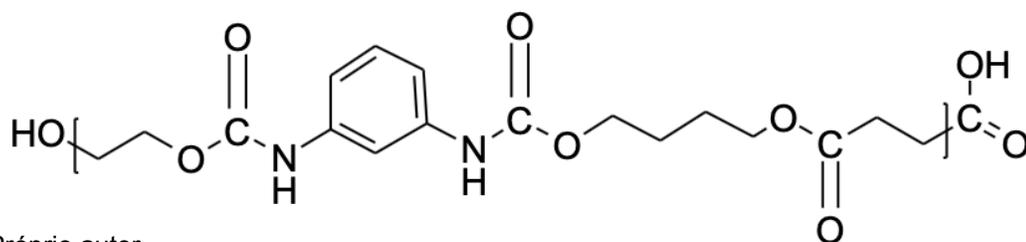
A análise dos polímeros também foi feita, o espectro da Figura 6 mostra a presença das bandas características. Os picos presentes em  $2882\text{ cm}^{-1}$  e  $2945\text{ cm}^{-1}$  estão relacionados às vibrações de deformação simétrica e assimétrica de  $\text{CH}_2$ . O pico situado em  $1099\text{ cm}^{-1}$  e proveniente do grupo C-O-C de um éter alifático, enquanto que o pico em  $1157\text{ cm}^{-1}$  corresponde ao estiramento do grupo C-O-C, proveniente do grupo éster alifático. Os picos em  $1711\text{ cm}^{-1}$  está relacionado com a vibração da ligação C=O que também é proveniente do grupo éster. Absorções presentes em torno de  $3400\text{ cm}^{-1}$ , correspondentes ao estiramento da ligação  $-\text{OH}$ . O pico em  $1539\text{ cm}^{-1}$  pertence a ligação N-H presente nas ligações uretânicas, que aparece apenas no copolímero PBS-PEG, indicando que a ligação entre os polímeros PBS e PEG utilizando o TDI foi realizada com sucesso, assim como a presença das bandas assinadas, é um forte indicativo da obtenção do copolímero.

Figura 6: Espectro de FTIR dos polímeros PBS, PEG e PBS-PEG.



Fonte: Próprio autor

Figura 7: Estrutura do PBS-PEG.

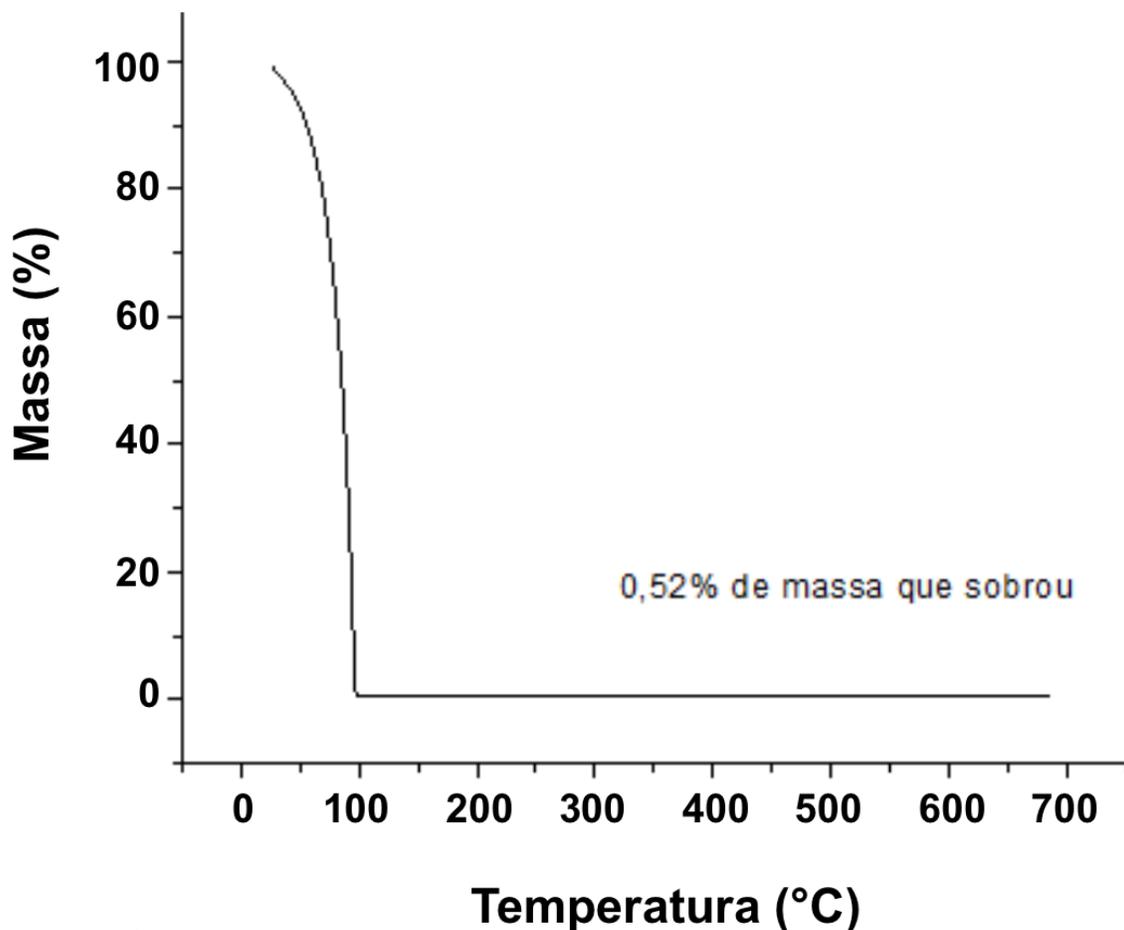


Fonte: Próprio autor

### 5.3 ANÁLISES TERMOGRAVIMÉTRICAS (TGA) E DE CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC)

Na Figura 8 temos o TGA da magnetita em meio aquoso após ser filtrada, por isso podemos observar uma queda abrupta da massa que finaliza aos 100°C. Após esse ponto não vemos mais perda de massa, o que era esperado pois a magnetita não sofre uma perda de massa significativa na faixa de temperatura do experimento até 700°C. Foi obtido uma massa residual de magnetita de 0,52%.

Figura 8: Gráfico de TGA das nanopartículas de magnetita.

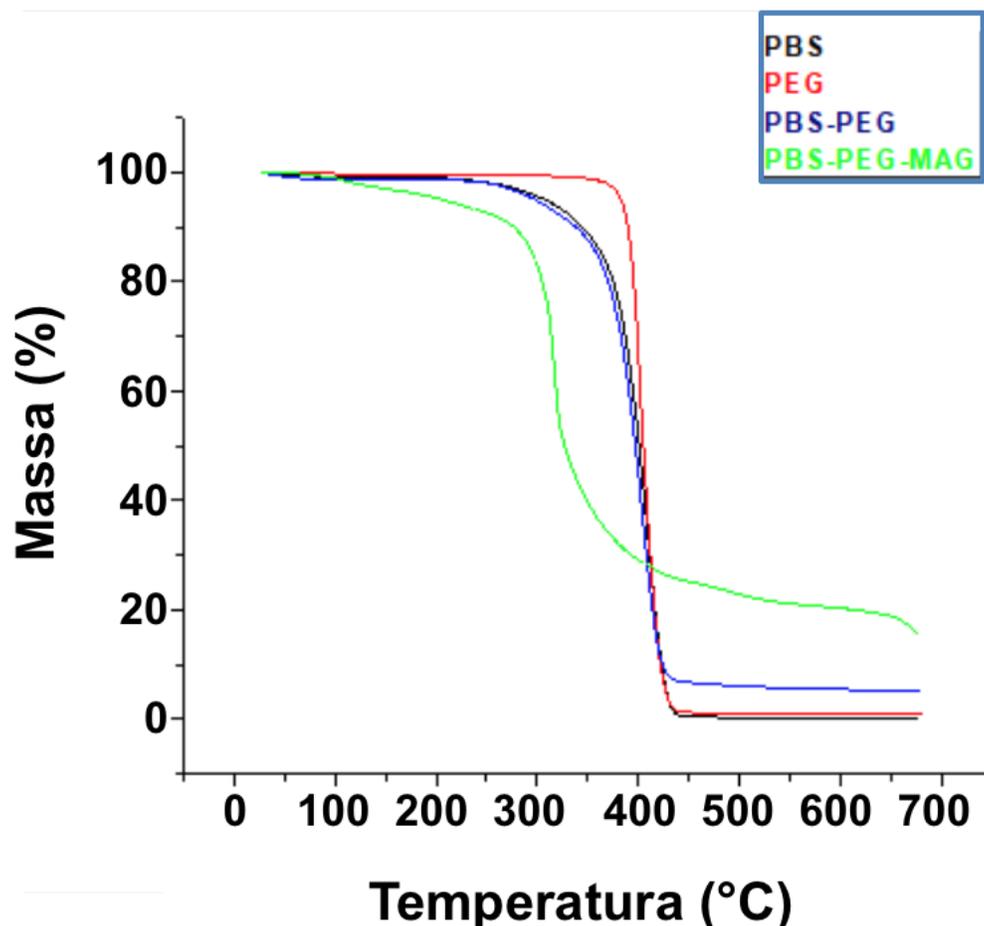


Fonte: Próprio autor

A Figura 9 mostra os termogramas dos polímeros: PBS, PEG, PBS-PEG e da magnetita encapsulada. O início da degradação do PBS ocorre em 230°C. Assim como o PBS-PEG, o PEG começa a perder massa em 367°C, enquanto que a magnetita encapsulada em PBS-PEG começa a perder massa em 135°C. Esse resultado indica

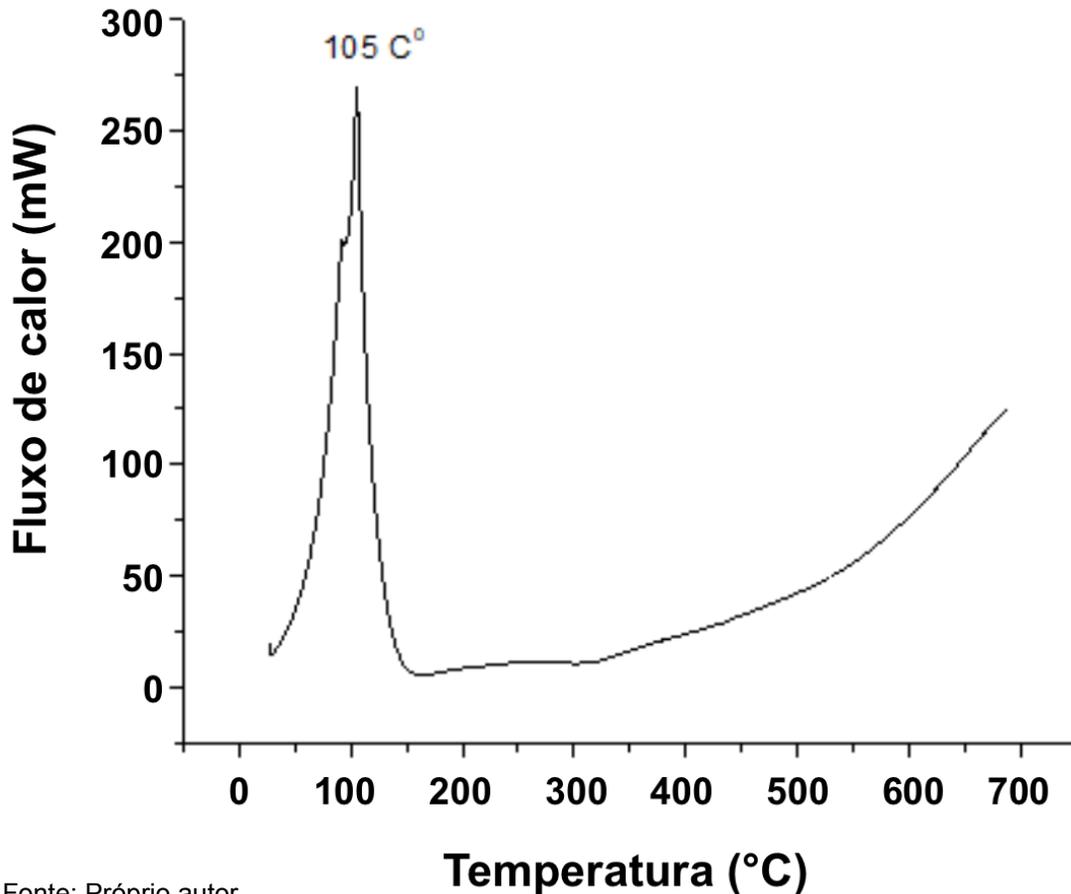
que a magnetita gerou uma grande perda de estabilidade térmica no polímero, provavelmente devido a algum efeito catalítico (PEREIRA, 2016). A maior taxa de degradação do PBS foi obtida na temperatura de 412,5°C, no PEG ocorreu em 411°C, no PBS-PEG foi em 407°C, enquanto que na magnetita encapsulada ocorreu em 319,5°C. O PBS praticamente cessa a perda de massa em 482°C, o PEG perde massa até os 455°C, o PBS-PEG perde a maior parte da massa até os 487°C e a magnetita encapsulada até os 525°C. A porcentagem de massa residual do PBS ao final da análise foi de 0,136%, o PEG teve um valor final de 0,78%, o PBS-PEG apresentou uma massa residual de 5,27%, provavelmente devido a algum grau de reticulação do copolímero, gerando um material que não sofreu despolimerização,. Por sua vez a magnetita encapsulada gerou um resíduo de 15,38%. Uma porcentagem de massa residual maior da magnetita encapsulada já era esperada, dada a grande estabilidade térmica deste material. Com esses valores, usando uma interpolação simples, podemos encontrar uma eficiência de encapsulamento de 36,59%.

Figura 9: Gráfico de TGA dos polímeros PBS, PEG, PBS-PEG e das nanopartículas de magnetita encapsuladas.



A Figura 10 mostra o DSC da magnetita em meio aquoso, onde podemos observar o pico endotérmico em 105°C devido a evaporação da água.

Figura 10: Gráfico de DSC das nanopartículas de magnetita.

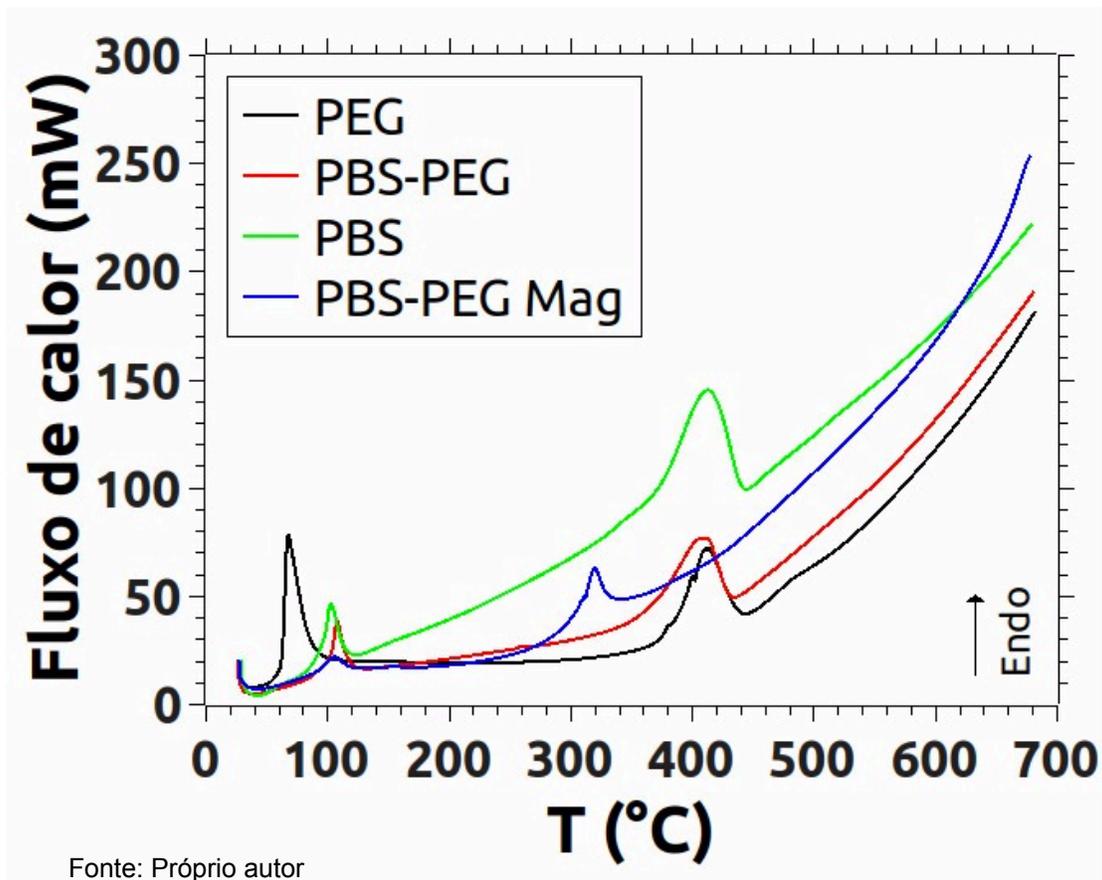


Fonte: Próprio autor

As análises de DSC dos polímeros: PBS, PEG, PBS-PEG e das nanopartículas de magnetita encapsuladas também foram realizadas (Figura 11). Nesse gráfico temos os picos endotérmicos de fusão dos polímeros e da magnetita encapsulada. Fica claro que os primeiros picos se referem a uma mudança de fase das amostras devido a ausência de perda de massa nas curvas de TGA na faixa de temperatura em que ocorrem os picos. O PBS tem o pico endotérmico de fusão em 102,6°C, enquanto no PEG o pico está na localizado em 67,5°C. Já o pico de fusão do PBS-PEG está em 107°C e o da magnetita encapsulada em 105°C. Pelo gráfico também é possível obter o valor de entalpia dessa mudança de fase de cada polímero e das magnetita

encapsulada. O PBS teve um  $\Delta H_f=59,8\text{J/g}$  no pico de fusão, enquanto que no PEG foi de  $\Delta H_f=148\text{J/g}$ , já no PBS-PEG o valor foi de  $\Delta H_f=58,7\text{ J/g}$ . Por sua vez, compósito possui  $\Delta H_f=36,7\text{J/g}$ . O segundo pico endotérmico representa a degradação dos polímeros e da magnetita encapsulada. No PBS o segundo pico endotérmico ficou em  $412,5^\circ\text{C}$  e um valor de  $\Delta H=280,2\text{J/g}$ , no PEG o pico foi observado em  $410,7^\circ\text{C}$  e foi obtido um  $\Delta H=147,8\text{J/g}$ , o PBS-PEG tem o segundo pico em  $407^\circ\text{C}$  e um  $\Delta H=262,2\text{J/g}$ , a magnetita encapsulada obteve o segundo pico em  $319,5^\circ\text{C}$  e o  $\Delta H=57,2\text{J/g}$ . Podemos observar que o PBS-PEG apresentou o primeiro pico endotérmico com uma temperatura superior ao PEG e ao PBS, isso provavelmente pelo fato dos cristais de PBS estarem circundados pelas cadeias do PEG, aumentando o gradiente térmico. Por isso podemos observar um aumento da temperatura de fusão mas não vemos um aumento de entalpia do PBS-PEG em relação ao PBS. A curva da magnetita encapsulada apresentou um perfil distinto dos outros polímeros, com os valores de entalpia menores e temperatura de degradação menor, o que corrobora com a ideia de algum efeito catalítico gerado pelas nanopartículas.

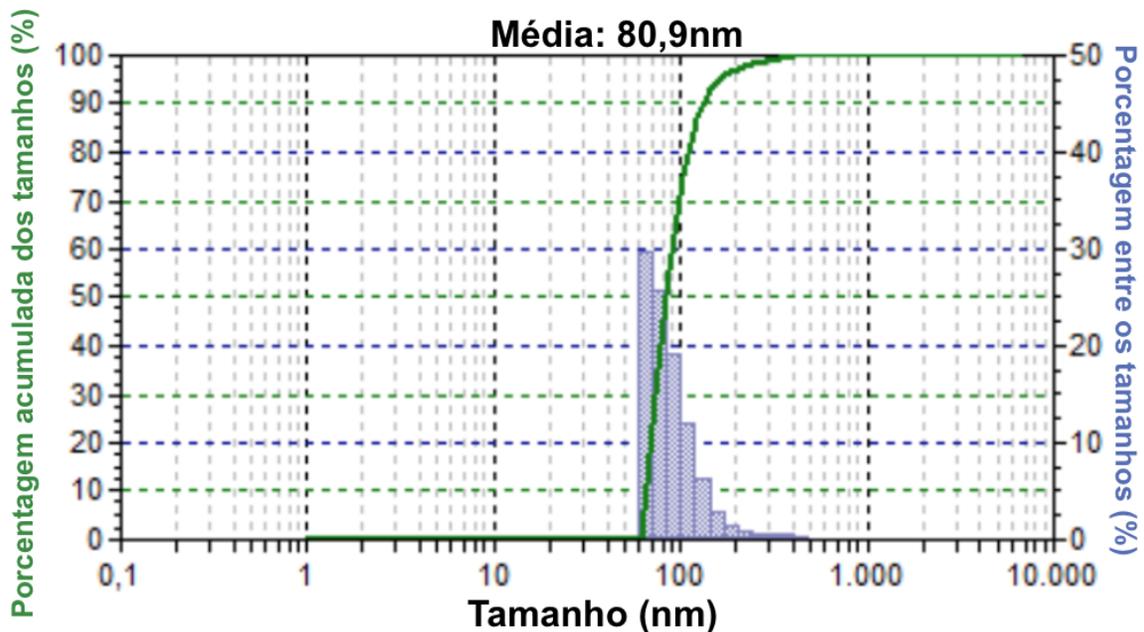
Figura 11: Gráfico de DSC dos polímeros PBS, PEG, PBS-PEG e das nanopartículas de magnetita encapsuladas.



#### 5.4 ESPALHAMENTO DINÂMICO DE LUZ (DLS)

Na análise de DLS podemos observar a distribuição de tamanho das nanopartículas de magnetita (Figura 12), nesta análise foi obtido um tamanho médio de 80,9nm das nanopartículas de magnetita, provavelmente são agregados de cerca de 91 nanopartículas de magnetita, já que a análise de DRX permitiu calcular um tamanho de 18nm para as nanopartículas. O gráfico demonstra também que a filtragem das partículas utilizando um filtro com poros de 200nm foi eficiente, pois a porcentagem de partículas com tamanhos maiores de 200nm foi pouco significativa.

Figura 12: Distribuição de tamanho das nanopartículas de magnetita obtido por (DLS).

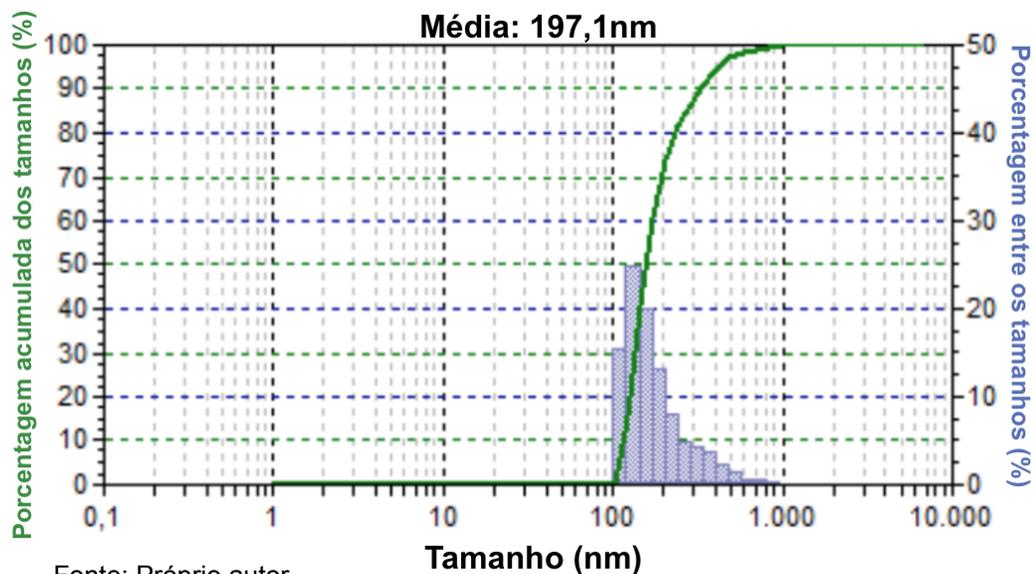


Fonte: Próprio autor

Outra análise de DLS foi feita com as nanopartículas de magnetita encapsuladas com PBS-PEG. Podemos observar na Figura 13 a distribuição de tamanho das nanopartículas onde o tamanho médio foi de 197,1nm e 70% das nanopartículas se concentra na faixa de 100-200nm. Isto é uma boa característica para partículas que irão circular na corrente sanguínea. Essas partículas, quando administrados por via intravenosa, podem se acumular preferencialmente em tumores. Esse acúmulo é devido ao efeito de permeabilidade e retenção. As partículas com tamanho em torno de

200nm extravasam passivamente os vasos sanguíneos tumorais vazios, caóticos e imaturos (MAEDA, 2010). Os macrófagos circulantes e as células reticuloendoteliais residentes no baço e no fígado reconhecem essas partículas como estranhas, envolve e eliminam-nas da circulação. Porém partículas com tamanhos de até 200nm dificultam que o sistema imunológico as identifiquem como um corpo estranho. Isso o aumenta o tempo de circulação dessas nanopartículas (CHOI *et al.*, 2007). Outro dado importante que podemos observar que não temos partículas maiores de 1000nm o que torna essa formulação apta a ser administrada intravenosamente sem riscos ao usuário, já que o diâmetro dos menores vasos capilares está em torno de 5 a 6  $\mu\text{m}$ , e para que não ocorra embolia as partículas administradas devem ser significativamente menores (HANS; LOWMAN, 2002). Nesta análise podemos fazer outra observação importante, após as nanopartículas de magnetita serem encapsuladas não observamos tamanho de partículas menores que 100nm, onde se encontravam a maior parcela de agregados de nanopartículas de magnetita, o gráfico de distribuição de tamanho sofreu um deslocamento fazendo com que a maior parte das partículas ficassem na faixa de 100-200nm, o que evidencia um aumento de tamanho gerado pela camada de PBS-PEG envolta das nanopartículas de magnetita. Esse aumento de tamanho das partículas devido a formação de camadas de polímero na superfície da partícula também foi constatado no trabalho (SEGURA *et al.*, 2018).

Figura 13: Distribuição de tamanho das nanopartículas de magnetita encapsulada obtido por (DLS).



## 5.5 POTENCIAL ZETA

A estabilidade de uma suspensão depende das propriedades físicas das partículas coloidais que as constituem, sendo necessário determiná-las para a compreensão das interações individuais de cada partícula que podem levar a desestabilização de uma suspensão. Em geral, busca-se maximizar as forças repulsivas entre as partículas a fim de minimizar as interações que levam a formação de agregados, os quais desestabilizam as suspensões coloidais. Dessa forma, as forças de interação nas superfícies dos colóides são as responsáveis pelo comportamento das suspensões, sendo as forças eletrostáticas repulsivas uma das vias pelas quais as partículas podem resistir à agregação. Potenciais na faixa  $\pm 40$  a  $\pm 60$  garantem uma boa estabilidade coloidal (GREENWOOD, KENDALL, 1999). Sendo assim, medidas do potencial zeta foram obtidas das nanopartículas a fim de prever a tendência de agregação.

As análises de potencial zeta demonstraram como podemos ver na Tabela 3 que as nanopartículas de magnetita possuem pequeno potencial zeta superficial, conseqüentemente, tem uma forte tendência a aglomerar-se, fato que podemos observar com a análise de DLS (Figura 12) onde a menor faixa de tamanho de nanopartículas encontrado estava entre 60nm e 70nm, enquanto que o resultado obtido no DRX indica que as nanopartículas de magnetita possuem 18,1nm, evidenciando assim a forte tendência de aglomeração dessas nanopartículas. Enquanto as nanopartículas de magnetita encapsuladas possuem uma maior carga superficial o que diminui a tendência de aglomerar, pois quanto maior o potencial zeta maior a repulsão entre as partículas. Esse resultado evidencia que a encapsulação da magnetita com o PBS-PEG melhorou uma propriedade importante para um sistema coloidal, garantindo maior estabilidade e menor tendência de agregação entre as partículas.

Tabela 3: Testes de potencial zeta.

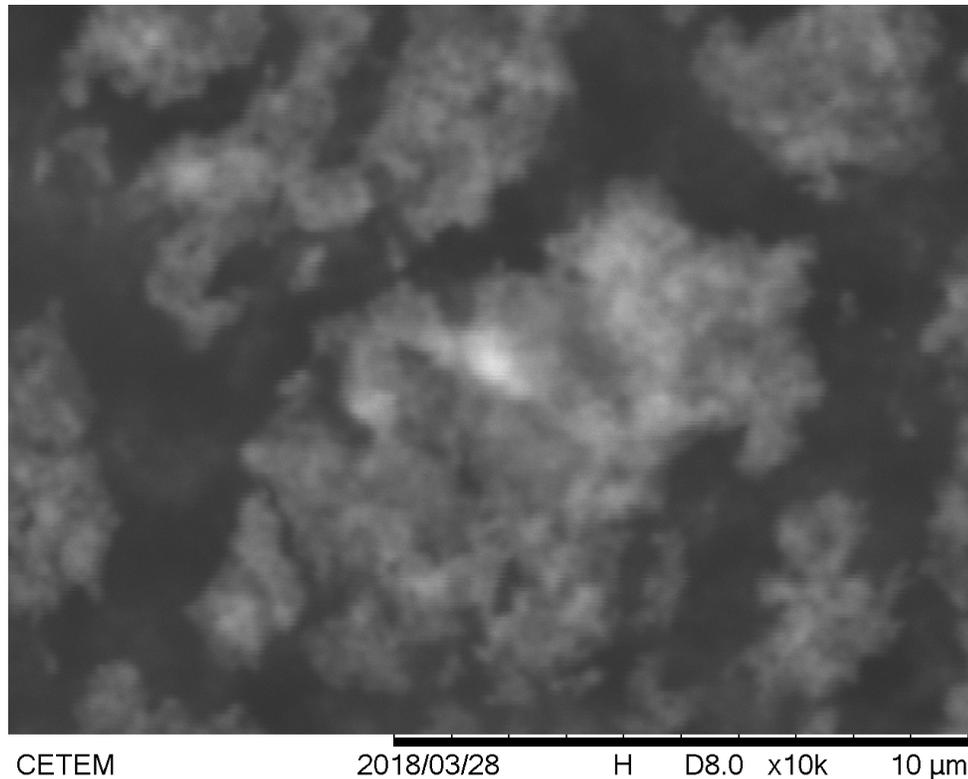
<b>Amostra</b>	<b>Potencial zeta (mv)</b>		
Magnetita livre	2,51	2,79	7,13
Magnetita encapsulada	-53,35	-57,23	-51,64

Fonte: Próprio autor

## 5.6 MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA (MEV) E ESPECTROSCOPIA POR ENERGIA DISPERSIVA (EDS)

Foram feitas imagens das nanopartículas de magnetita no MEV, onde podemos perceber que o tamanho das partículas realmente está em tamanho nanométrico pois trabalhamos no máximo da resolução do MEV porém não foi suficiente para visualizarmos com nitidez as nanopartículas de magnetita, porém podemos observar as regiões onde se encontram as nanopartículas, que aparecem na (Figura 14) como regiões mais claras.

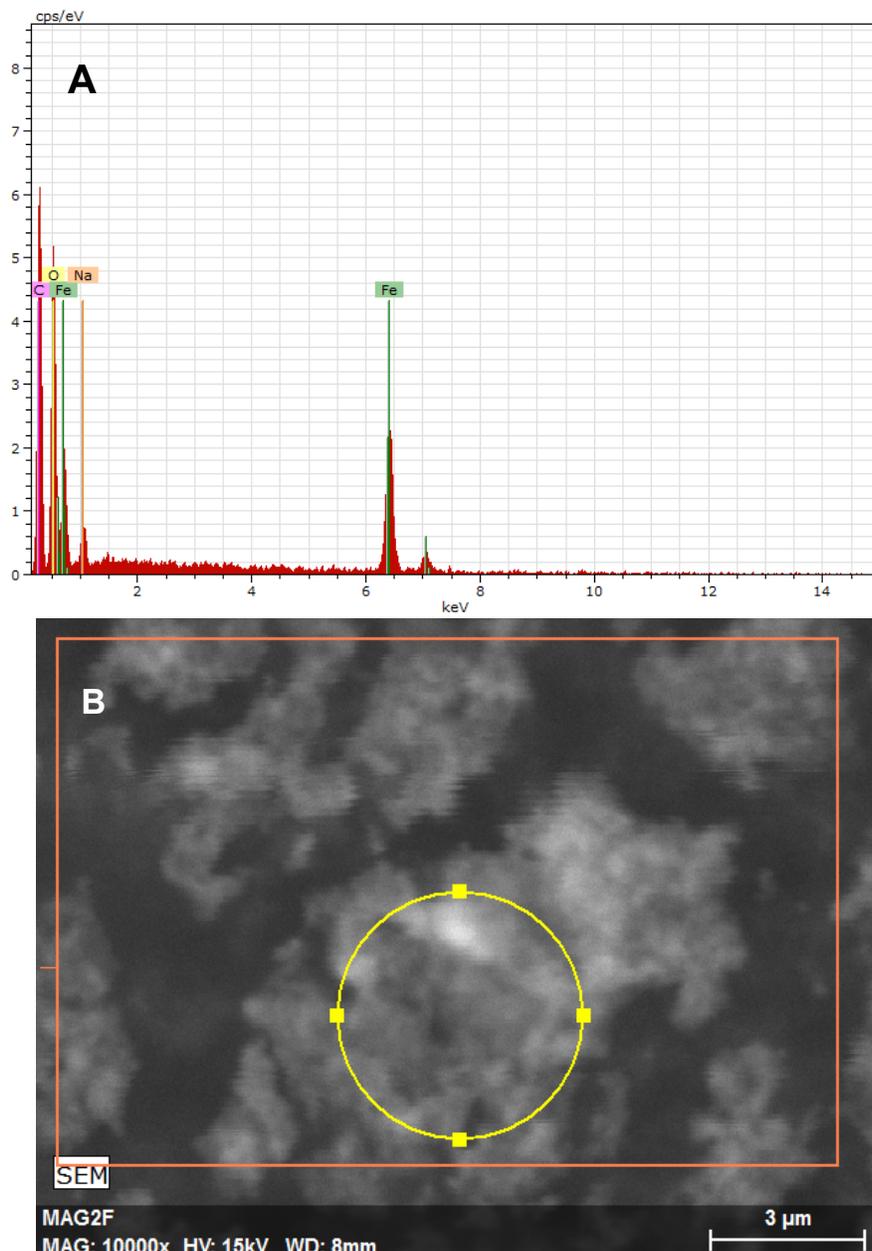
Figura 14: Imagem obtida no MEV das nanopartículas de magnetita



Fonte: Próprio autor

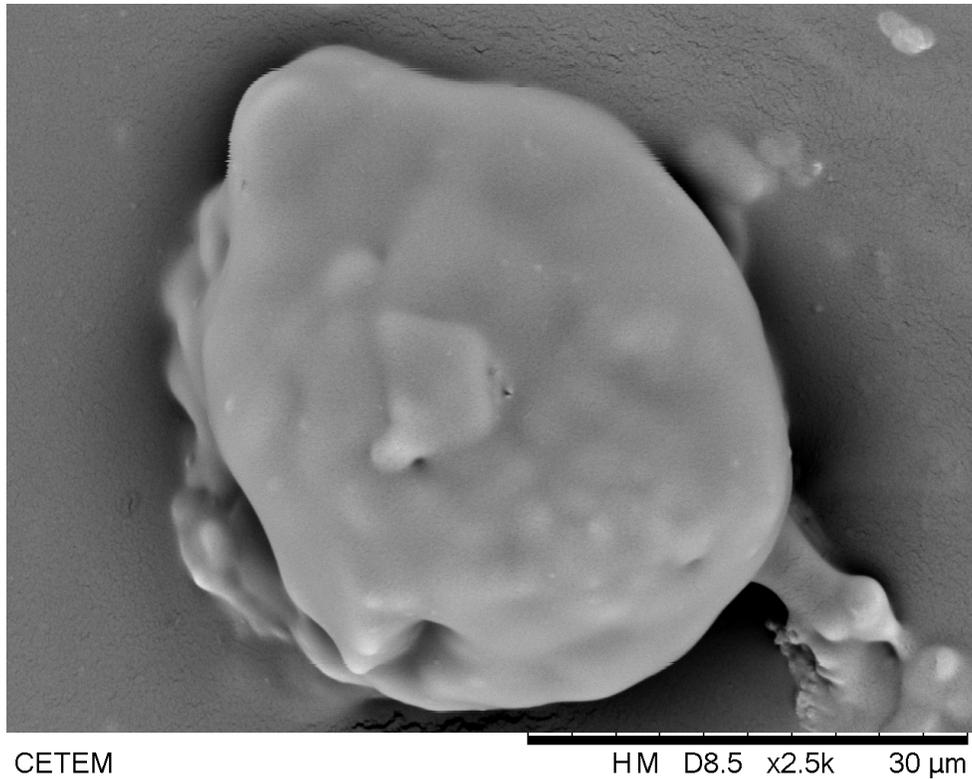
Na análise do EDS Figura 15, gráfico A, podemos confirmar que a região mais clara realmente são nanopartículas de magnetita com os picos que caracterizam o ferro (Fe) e oxigênio (O) aparecendo na análise com destaque, garantindo que na região marcada com o círculo amarelo na Figura 15, imagem B, existe uma boa concentração de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ). Podemos observar também um pico do sódio (Na) na análise do EDS, proveniente do citrato de sódio.

Figura 15: **(A)** Gráfico da espectroscopia EDS das nanopartículas de magnetita, **(B)** Imagem obtida no MEV da região analisada pelo EDS.



Foram feitas também imagens das nanopartículas de magnetita encapsuladas, porém assim como as imagens das nanopartículas de magnetita livre as imagens não ficaram nítidas para analisarmos a morfologia das nanopartículas, porém foi possível capturar a imagem de um agregado de nanopartículas onde podemos perceber pela imagem e aspecto do agregado, que ele é formado por várias partículas com característica esférica, como pode ser observado na Figura 16.

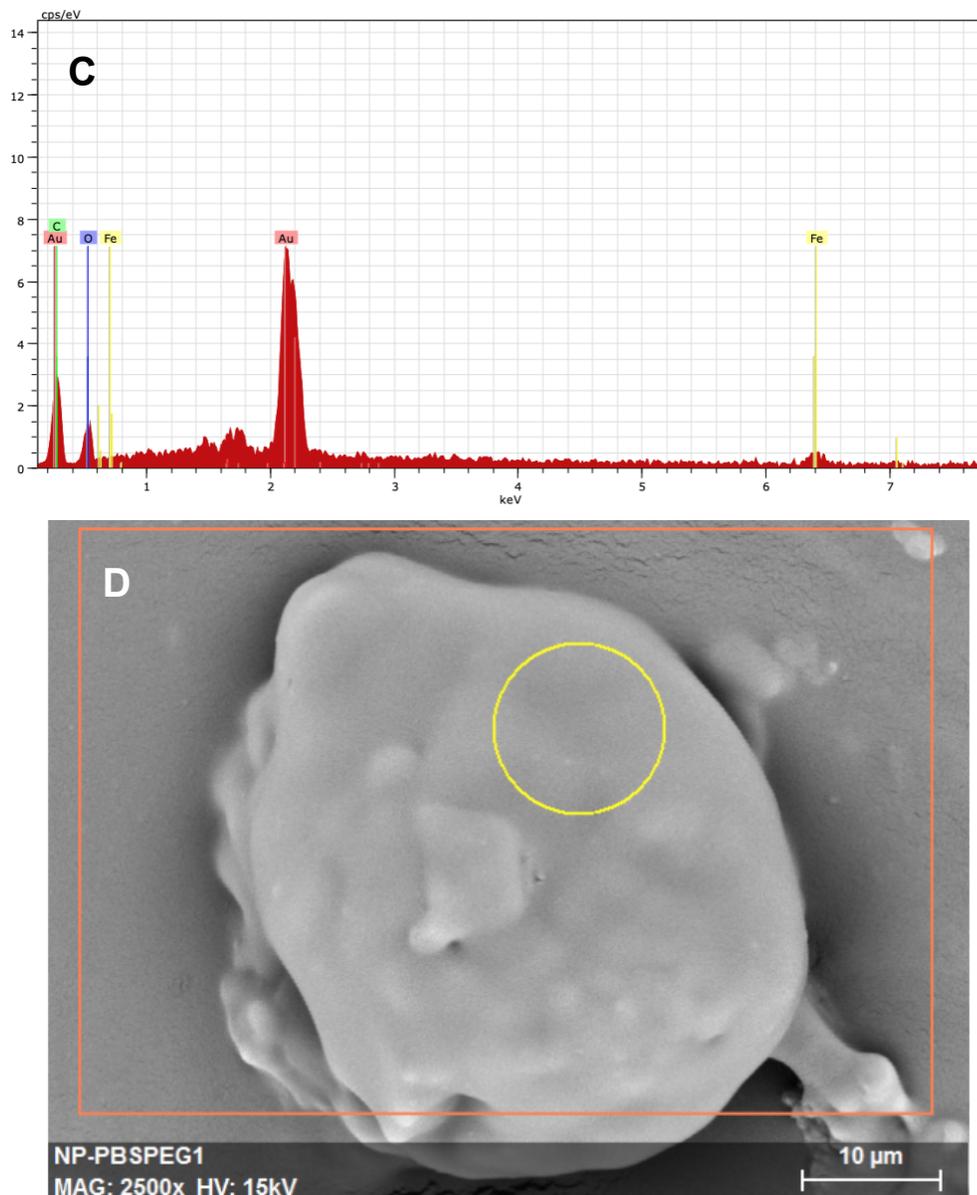
Figura 16: Imagem obtida no MEV das nanopartículas de magnetita encapsulada.



Fonte: Próprio autor

Na análise do EDS podemos observar na Figura 17 que a região analisada marcada com um círculo amarelo na imagem D possui picos na região do carbono (C) e oxigênio (O) que são elementos presentes no PBS-PEG, e podemos observar um pico menor e mais alargado do ferro (Fe) se comparado com o EDS realizado com as nanopartículas de magnetita livre, isso se deve ao fato da magnetita está recoberta com o PBS-PEG o que faz com que a presença do Fe seja menos perceptiva para o equipamento. O pico de ouro (Au) aparece no gráfico pois a amostra foi recoberta com ouro para melhorar a resolução das imagens.

Figura 17: **(C)** Gráfico da espectroscopia EDS das nanopartículas de magnetita encapsulada, **(D)** Imagem obtida no MEV da região analisada pelo EDS.



## 5.7 INDUÇÃO MAGNÉTICA

Nos ensaios de hipertermia obtivemos bons resultados, podemos observar na tabela 4 os resultados do planejamento fatorial em relação a variação de temperatura, a concentração utilizada para os testes foi de 4,217 mg/ml de nanopartículas.

Utilizando o menor tempo (-) e menor corrente (-) do planejamento foi obtido uma média de  $\Delta T = (1,47 \pm 0,25)^\circ\text{C}$ , utilizando o tempo máximo (+) e mantendo a menor corrente (-) obtivemos uma variação maior da temperatura como o esperado, com uma média de  $\Delta T = (2,67 \pm 0,15)^\circ\text{C}$ , quando utilizado o menor tempo (-) e a maior corrente (+) do fatorial observou-se uma média de  $\Delta T = (2,43 \pm 0,16)^\circ\text{C}$ , que ficou muito próxima da variação dos ensaios 4, 5 e 6. Os resultados para o ponto médio do fatorial com uma variação intermediária de tempo (0) e corrente (0) foi obtido uma média de  $\Delta T = (2,2 \pm 0,26)^\circ\text{C}$ . Nas amostras com o maior tempo (+) e maior corrente (+), foi obtido uma média de  $\Delta T = (4 \pm 0,27)^\circ\text{C}$  com a maior  $\Delta T$  do planejamento.

Tabela 4: Resultados da variação da temperatura obtidos pelo fatorial.

<b>Ensaio</b>	<b>Tempo (s)</b>	<b>Corrente (A)</b>	<b><math>\Delta T</math> (<math>^\circ\text{C}</math>)</b>
1	-	-	1,2
2	-	-	1,7
3	-	-	1,5
4	+	-	2,8
5	+	-	2,7
6	+	-	2,5
7	-	+	2,3
8	-	+	2,4
9	-	+	2,6
10	+	+	3,7
11	+	+	4,2
12	+	+	4,1
13	0	0	2,0
14	0	0	2,1
15	0	0	2,5

melhor entender estes resultados e observar as variáveis que influenciam o aumento de temperatura foi feito uma análise estatística, no programa STATISTICA, com 95% de confiança, que é mostrado na Tabelas 5. A Tabela 5 e a Figura 18 mostram o estudo estatístico feito para as nanopartículas de magnetita encapsulada, e de acordo com este, a corrente (2)i teve uma influência positiva na temperatura, com um efeito de magnitude 1,15 e um erro padrão de 0,13 com um grau de desconfiança (p) de 0.000005. O tempo (1)t também mostrou uma influência positiva com um efeito de magnitude 1,38 com um erro padrão de 0,13 e um grau de desconfiança (p) de 0.000001. Com o ponto central foi obtido uma curvatura (Curvatr.) na superfície de resposta, com um indicativo da possível presença de um mínimo ou máximo local. A sinergia entre a corrente e o tempo também não teve um efeito significativo sobre a temperatura.

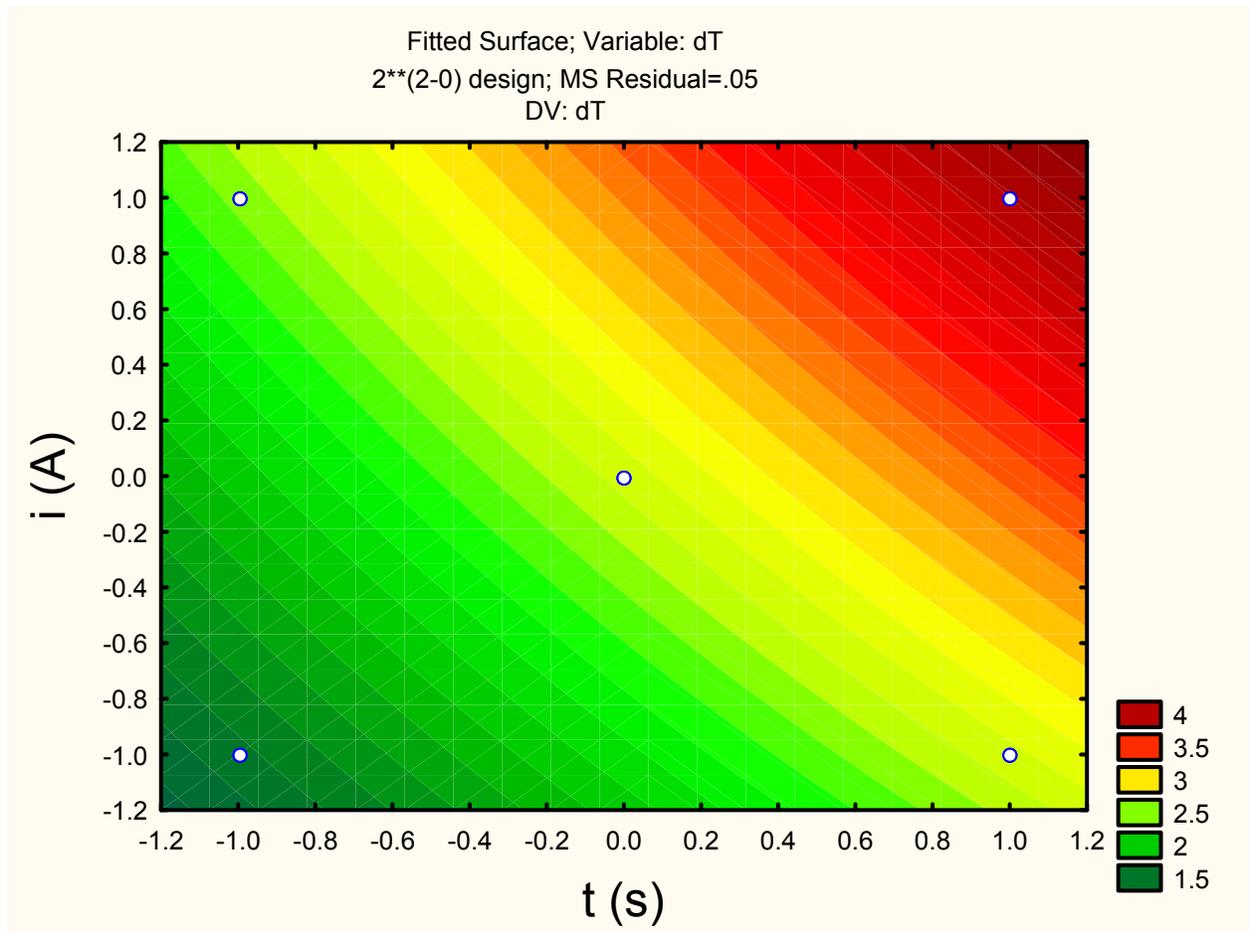
Tabela 5. Estudo estatístico dos teste de hipertermia para as nanopartículas de magnetita encapsulada.

	<b>Efeito</b>	<b>Erro Padrão</b>	<b>p</b>
<b>Média/Interação</b>	2.641667	0.064550	0.000000
<b>Curvatr.</b>	-0.883333	0.288675	0.012045
<b>(1)t</b>	1.383333	0.129099	0.000001
<b>(2)i</b>	1.150000	0.129099	0.000005
<b>(1)t (2)i</b>	0.183333	0.129099	0.185997

Fonte: Próprio autor

Na Figura 18 podemos observar o efeito da corrente e do tempo sobre a temperatura, onde fica claro que quando aumentamos a corrente ou o tempo temos um aumento da temperatura

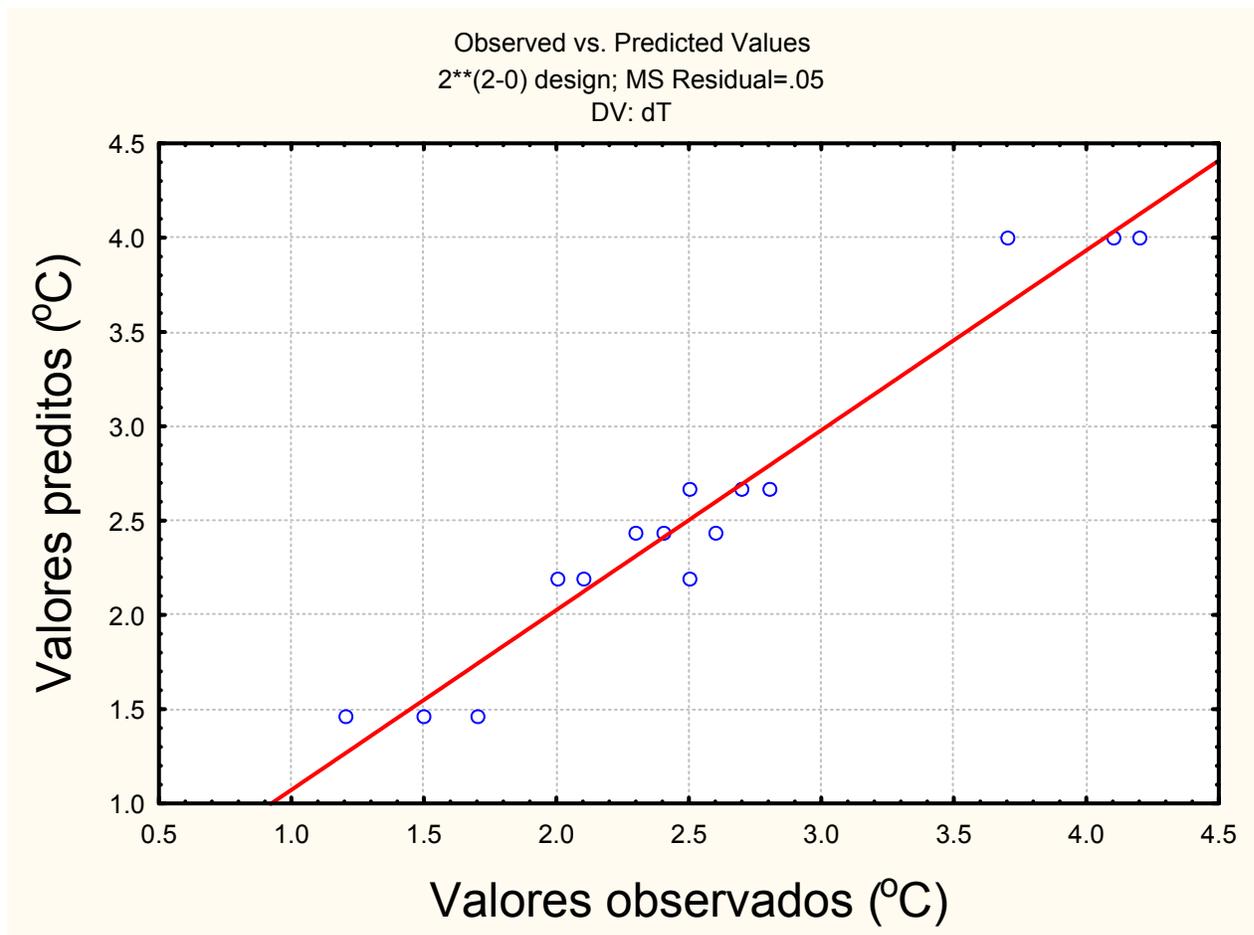
Figura 18: Estudo estatístico Corrente *versus* Tempo dos testes de hipertermia para as nanopartículas de magnetita encapsulada.



Fonte: Próprio autor

Na Figura 19 temos um gráfico de valores preditos vs valores observados, com base nos resultados obtidos o programa STATISTICA propõem um modelo prevendo qual será o valor da temperatura para cada ponto do experimento, que e representado pela linha vermelha e os valores obtidos pelos círculos azuis.

Figura 19: Estudo estatístico Valores preditos *versus* Valores observados do teste de hipertermia para as nanopartículas de magnetita encapsulada.



Fonte: Próprio autor

Neste contexto uma grandeza de fundamental importância é a liberação de calor normalizada por massa de partículas magnéticas, denominada SAR (Specific Absorption Rate). Considerando a dispersão de partículas magnéticas em água e assumindo que o calor específico total do sistema, ponderado pela massa do sistema, é equivalente a soma dos calores específicos, ponderados pelas respectivas massas, de partículas magnéticas e água isoladamente, podemos utilizar a (Equação 2) para calcular o SAR. Onde ( $c_p$ ) é o calor específico da partícula, ( $C_{H_2O}$ ) é o calor específico da água, ( $\rho_{H_2O}$ ) é a massa específica da água, ( $\rho_p$ ) é a concentração das partículas e  $\Delta T/\Delta t$  é a taxa de liberação de calor do sistema.

$$SAR = \left[ C_{np} + \frac{\rho_{H_2O} \times C_{H_2O}}{\rho_{np}} \right] \times \frac{\Delta T}{\Delta t} \quad \text{(Equação 2)}$$

Os testes de hipertermia realizado nesse estudo geraram um SAR=10.372W/Kg o que é um excelente resultado, isso pode ser constatado no trabalho (SEGURA *et al.*, 2018), que obteve um SAR=3.762W/Kg, segundo a autora um valor mais que suficiente para matar células cancerosas utilizando a hipertermia. Com esse resultado podemos perceber que as nanopartículas possuem um enorme potencial na aplicação da hipertermia para o tratamento do câncer.

## 6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos neste trabalho podemos concluir que os objetivos foram alcançados. As análises de FTIR indicam que a síntese do PBS e do PBS-PEG foi bem sucedida, com picos relativos as funções encontradas no PBS e no copolímero, assim como as ligações uretânicas. Nas análises de DSC podemos observar o pico endotérmico característico da fusão do PBS, e uma entalpia de degradação intermediária do PBS-PEG entre a curva do PBS e do PEG, e a interferência das nanopartículas de magnetita na temperatura de degradação do polímero. As análises de TGA demonstraram algo esperado, que seria o aumento da massa residual da amostra com a magnetita encapsulada se comparada a amostra somente com o polímero, provando que a magnetita foi encapsulada com sucesso pelo PBS-PEG.

Com base nos resultados obtidos no FTIR, EDS e DRX, a síntese de nanopartículas de magnetita foi realizada com sucesso. Nas análises de FTIR podemos observar um pico característico da magnetita referente a ligação Fe-O e picos indicando a presença do citrato de sódio. No EDS podemos também observar picos indicando a presença de Fe e O. No gráfico de DRX observamos picos em ângulos específicos da magnetita e com isso foi possível medir o tamanho das nanopartículas de magnetita que apresentaram um tamanho de cristalino de 18,1nm. As análises de tamanho das nanopartículas de magnetita utilizando o DLS apresentou um tamanho médio de nanopartículas de magnetita de 80,9nm o que indica que as nanopartículas de magnetita sofreram agregação.

As nanopartículas de magnetita encapsuladas mostraram resultados satisfatórios, nas análises de TGA e DSC demonstraram que a presença das nanopartículas de magnetita no copolímero gerou uma instabilidade térmica alterando a temperatura de degradação assim como a sua entalpia de degradação. Nas imagens do MEV podemos observar diferenças morfológicas significantes entre as nanopartículas de magnetita livre e encapsulada. Na análise de EDS foi possível ver picos referentes ao Fe, C e O na superfície das nanopartículas de magnetita encapsulada, sendo mais um indicativo que a magnetita foi encapsulada. Outro fato

importante foi visto nas análises de DLS, a diferença entre o tamanho médio das nanopartículas de magnetita livre e encapsulada, onde as nanopartículas de magnetita encapsulada apresentaram um tamanho médio maior que das nanopartículas de magnetita livre, apontando que o PBS-PEG recobriu a magnetita aumentando o diâmetro das partículas. O tamanho das nanopartículas de magnetita encapsulada se concentraram na região dos 100-200nm o que garante uma boa permeabilidade em tecidos vivos, além de aumentar o tempo em que as nanopartículas permanecerão na corrente sanguínea devido a dificuldade que o sistema imunológico em reconhecer e destruir partículas nessa faixa de tamanho. Os resultados também demonstraram que as nanopartículas podem ser administradas por via intravenosa já que não se observou partículas com tamanho maior de 1000nm e o diâmetro dos menores vasos capilares está em torno de 5 a 6  $\mu\text{m}$ .

Nas análises de potencial zeta podemos constatar que o encapsulamento da magnetita gerou bons resultados, pois aumentou o potencial zeta da superfície das partículas, o que aumenta a repulsão entre elas e diminui a tendência de agregação das partículas.

Os testes de indução magnética demonstraram por meio do fatorial realizado que a corrente e o tempo foram significativos para o aumento de temperatura da amostra, os testes também demonstraram que as nanopartículas apresentaram um SAR=10.372W/Kg o que segundo a literatura produz aquecimento mais que suficiente para gerar morte de células cancerígenas, o que demonstra o enorme potencial dessas nanopartículas na utilização da hipertermia no tratamento do câncer.

Os resultados indicam que a formulação desenvolvida nesse trabalho possui um bom potencial, e que mais estudos e análises podem ser realizados para que a formulação seja aprimorada obtendo resultados ainda melhores, viabilizando testes mais específicos com células cancerígenas in vitro e in vivo.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, V. L. de; LEITÃO, A.; REINA, L. del C. B.; MONTANARI, C. A.; DONNICI, C. L.; LOPES, M. T. P. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Química Nova**, [S.l.], v. 28, p. 118–129, 2005. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422005000100021&nrm=isso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422005000100021&nrm=isso)>. Acesso em: 18 nov. 2018.

ALTIERI, D. C. Survivin, cancer networks and pathway-directed drug discovery. **Nature Reviews Cancer**, [S.l.], England, v. 8, n.1, p.61-70, jan. 2008. Disponível em:<<https://www.nature.com/articles/nrc2293>>. Acesso em: 13 nov. 2018.

AMERICAN CANCER SOCIETY. **Global economic cost of câncer**: report summary. 2009. Disponível em: <<http://www.cancer.org/aboutus/globalhealth/global-eco-nomic-cost-of-cancer-report>>. Acesso em: 26 nov. 2018.

ANDRADE, F. D.; GONZALES., T; ALEGRE, R.M; DUARTE, E. R. Redes neurais artificiais aplicadas para o estudo da produção de ácido succínico via processo fermentativo. **Evidência**, [S.l.], v. 10, n. 1-2, p. 27-42, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/esa/v14n4/04.pdf>>. Acesso em: 27 nov. 2018.

ARTUR MALZYMER; RICARDO CAPONERO. O que é câncer. In \_\_\_\_\_. **Câncer e prevenção**. Minas Gerais: MG editores, 2013. Acesso em: 25 nov. 2018.

BAMIAS, A.; ESCUDIER, B.; STERNBERG, C. N.; ZAGOURI, F.; DELLIS, A.; DJAVAN, B.; TZANNIS, K.; KONTOVINIS, L.; STRAVODIMOS, K.; PAPATSORIS A.; MITROPOULOS, D.; DELIVELIOTIS, C.; DIMOPOULOS; M. A.; CONSTANTINIDES, C. A. Current Clinical Practice Guidelines for the Treatment of Renal Cell Carcinoma: A Systematic Review and Critical Evaluation. **Oncologist**, [S.l.], 2017. 22(6): p. 667-679. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28592625>>. Acesso em: 07 nov. 2018.

BARRETO, J. A.; O'MALLEY, W.; KUBEIL, M.; GRAHAM, B.; STEPHAN, H.; SPICCIA, L. Nanomaterials: applications in cancer imaging and therapy. **Advanced Materials**, [S.l.], 23(12):H18-40, 2011. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21433100>>. Acesso em: 10 nov. 2018.

BASS, H.; MOORE J. L.; COAKLEY W. T.; Lethality in mammalian cells due to hyperthermia under oxic and hypoxic conditions. **International journal of radiation biology and related studies in physics, chemistry , and medicine**, [S.l.], 33(1):57–67, 1978. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/304850>>. Acesso em: 28 nov. 2018.

BELIZÁRIO, J. E. Ciência Hoje. **Reverter o câncer: o próximo desafio**, v. 31, p. 50–57, 2002. Disponível em: <[http://www.cienciahao.usp.br/tudo/exibir.php?midia=chj&cod=\\_oproximodesafioverterocancer-artigocienciahoje184jul2002](http://www.cienciahao.usp.br/tudo/exibir.php?midia=chj&cod=_oproximodesafioverterocancer-artigocienciahoje184jul2002)>. Acesso em: 03 nov. 2018.

BORGES, E. R. **DESENVOLVIMENTO DE UM PROCESSO BIOTECNOLÓGICO PARA A PRODUÇÃO DE ÁCIDO SUCCÍNICO POR ACTINOBACILLUS SUCCINOGENES**. 2011. 204p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011. Disponível em: <<http://www.tpqb.eq.ufrj.br/download/producao-de-acido-succinico-por-actinobacillus.pdf>>. Acesso em: 21 nov. 2018.

BRAMBILLA, E.; PONTE, M. A. D.; MANZINI, M.; FELLINI, R. T.; BUFFON, V. R. **Preparo de Cólon para Colonoscopia com Polietilenoglicol versus Sulfato de Magnésio em Pacientes acima de 70 anos de Idade**. Revista brasileira de Coloproctologia, Rio de Janeiro, v. 28, n. 2, p. 204-209, 2008. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-98802008000200008](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-98802008000200008)>. Acesso em: 20 nov. 2018.

**CANCER.ORG**. 2018. Disponível em: <<http://www.cancer.org/cancer/cancerbasics/thehistoryofcancer/index>>. Acesso em: 02 nov. 2018.

**CANCER.ORG/RDIOTHERAPY**. 2018. Disponível em: <<https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/radiation-therapy/radiation-fact-sheet#q1>>. Acesso em: 29 nov. 2018.

**CANCER.ORG/SURGERY**. 2018. Disponível em: <<http://www.cancer.org/treatment/treatmentsandsideeffects/treatmenttypes/surgery/how-surgery-is-used-for-cancer>>. Acesso em: 18 nov. 2018.

**CENTRO DE ONCOLOGIA**. 2018. Disponível em: <<http://centrodeoncologia.com/noticias/informacoes-para-pacientes/tratamentos/tipos-de-cirurgia-oncologica/>>. Acesso em: 29 nov. 2018.

CASSIM, S. M.; GIUSTINI, A. J.; BAKER, I.; HOOPES, P. J. Development of Novel Magnetic Nanoparticles for Hyperthermia Cancer Therapy. **Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering**, [S.l.], 7901:790115, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24619487>>. Acesso em: 12 nov. 2018.

CHATTERJEE, D. K.; DIAGARADJANE P.; KRISHNAN S. Nanoparticle-mediated hyperthermia in cancer therapy. **Therapeutic delivery**, [S.l.], 2(8):1001–14, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22506095>>. Acesso em: 01 nov. 2018.

CHATTERJEE, D. K.; WOLFE, T.; LEE J.; BROWN, A. P.; SINGH, P. K.; BHATTARAI, S. R.; DIAGARADJANE, P.; KRISHNAN, S. Convergence of nanotechnology with radiation therapy- insights and implications for clinical translation. **Translational cancer research**, [S.l.], 2(4): 256–68, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25279336>>. Acesso em: 21 nov. 2018.

CHATTERJEE, D. K.; FONG, L. S.; ZHANG, Y. Nanoparticles in photodynamic therapy: an emerging paradigm. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S.l.], v. 60, n. 15, p. 1627-1637, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18930086>>. Acesso em: 02 nov. 2018.

CHERUKURI, P.; GLAZER, E. S.; CURLEYA, S. A. Targeted hyperthermia using metal nanoparticles. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S.l.], 62(3):339–45, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19909777>>. Acesso em: 04 nov. 2018.

CHOI, H. S.; LIU, W.; MISRA, P.; TANAKA, E.; ZIMMER, J. P. Renal clearance of quantum dots. **Nature Biotechnology**, [S.l.], 25(10):1165–70, 2007. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nbt1340>>. Acesso em: 29 nov. 2018.

COLLINS, J. Letter from the editor: The history of cancer. **Radiologic Diagnosis and Staging of Neoplasms**, [S.l.], v. 39, n. 3, p. 341–342, jul. 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ro.2004.05.003>>. Acesso em: 20 nov. 2018.

DENNIS, C. L.; JACKSON, A. J.; BORCHERS, J. A.; IVKOV, R.; FOREMAN, A. R.; HOOPES, P. J.; STRAWBRIDGE, R.; PIERCE, Z.; GOERTTIZ, E.; LAU, J. W. The influence of magnetic and physiological behaviour on the effectiveness of iron oxide nanoparticles for hyperthermia. **Journal of Physics D-Applied Physics**, [S.l.], 41(13), 2008. Disponível em: <<http://iopscience.iop.org/article/10.1088/0022-3727/41/13/134020/meta>>. Acesso em: 18 nov. 2018.

ELSAESSER, A.; HOWARD, C. V. Toxicology of nanoparticles. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S.l.], 64(2):129–37, 2012. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X11002328>>. Acesso em: 14 nov. 2018.

FAHNING, B.M.; LOBÃO, E.B.; MATTAR, M.S.; COSTA, H.B. Nanotecnologia aplicada a fármacos. **Revista Episteme**, [S.l.], Vitória (ES), v.2, n.1, p. 49-57, 2013. Disponível em: <[http://issuu.com/catolicasalesiana/docs/revista\\_episteme\\_2013](http://issuu.com/catolicasalesiana/docs/revista_episteme_2013)>. Acesso em: 09 nov. 2018.

FELDMAN, A. L.; LIBUTTI, S. K.; PINGPANK, J. F.; BARTLETT, D. L.; BERESNEV, T. H.; MAVROUKAKIS, S. M.; STEINBERG, S. M.; LIEWEHR, D. J.; KLEINER, D. E.; ALEXANDER, H. R. Analysis of factors associated with outcome in patients with malignant peritoneal mesothelioma undergoing surgical debulking and intraperitoneal chemotherapy. **Journal of Clinical Oncology**, [S.l.], 21(24):4560–7, 2003. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14673042>>. Acesso em: 19 nov. 2018.

FERREIRA, L. P.; MOREIRA, A. N.; DE SOUZA JR, F. G. Preparo de Nanocompósitos de Poli (Succinato de Butileno) (PBS) e Argila Motmorilonita Organofílica via Polimerização In Situ. **Polímeros**, [S.l.], São Carlos, v. 24, n. 5, p. 604-611, 2014. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0104-14282014000500013&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-14282014000500013&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 13 nov. 2018.

GODAGE, O. S.; BUCHARSKAYA, A. B.; NAVOLOKIN, N. A.; GALINA, N. M.; SERGEY, V. G.; DMITRY, A. G. The magnetite nanoparticles in theranostic applications. **Journal of Nanomedicine Research**, [S.l.], 5(3):00119, 2017. Disponível em: <<https://medcraveonline.com/JNMR/JNMR-05-00119>>. Acesso em: 11 nov. 2018.

GOVENDER, T.; STOLNIK, S. GARNETT, M.C.; ILLUM, L.; DAVIS, S.S. PLGA nanoparticles prepared by nanoprecipitation: drug loading and release studies of a water soluble drug. **Journal of Controlled Release**, [S.l.], v. 57, p. 171 – 185, 1999. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365998001163>>. Acesso em: 17 nov. 2018.

GREENWOOD, R; KENDALL, K. "Electroacoustic studies of moderately concentrated colloidal suspensions". **Journal of the European Ceramic Society**, [S.l.], 19 (4): 479–488, (1999). Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/1990/dc/dc9909000301#!divAbstract>>. Acesso em: 25 nov. 2018.

HAJDU, S. I. A Note from History: Landmarks in History of Cancer, Part 1. **Cancer**, v. 117, n. 5, p. 1097–1102, 1 mar. 2011a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/cncr.25553>>. Acesso em: 03 nov. 2018.

HAJDU, S. I. A Note from History: Landmarks in History of Cancer, Part 2. **Cancer**, v. 117, n. 12, p. 2811–2820, 15 jun. 2011b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/cncr.25825>>. Acesso em: 13 nov. 2018.

HAJDU, S. I. A note from history: Landmarks in history of cancer, part 4. **Cancer**, v. 118, n. 20, p. 4914–4928, 2012a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/cncr.26320>>. Acesso em: 06 nov. 2018.

HAJDU, S. I. A Note from History: Landmarks in History of Cancer, Part 3. **Cancer**, v. 118, n. 4, p. 1155–1168, 15 fev. 2012b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/cncr.27509>>. Acesso em: 24 nov. 2018.

HAJDU, S. I.; DARVISHIAN, F. A Note from History: Landmarks in History of Cancer, Part 5. **Cancer**, v. 119, n. 8, p. 1450–1466, 15 abr. 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/cncr.27889>>. Acesso em: 16 nov. 2018.

HAJDU, S. I.; VADMAL, M. A Note from History: Landmarks in History of Cancer, Part 6. **Cancer**, v. 119, n. 23, p. 4058–4082, 1 dez. 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/cncr.28319>>. Acesso em: 05 nov. 2018.

HANS, M. L.; LOWMAN, A. M. Biodegradable nanoparticles for drug delivery and targeting. **Current Opinion in Solid State & Material Science**, [S.l.], v.6, p. 319 – 327, 2002. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20976722>>. Acesso em: 17 nov. 2018.

Haavik, C.; Svein, S.; Helmer, F.; Hanfland, M.; e Häusermann, D. “Equation of State of Magnetite and Its High-Pressure Modification: Thermodynamics of the Fe-O System at High Pressure”. **American Mineralogist**, [S.l.], 85 (3–4): 514–23, 2000. Disponível em: <<https://doi.org/10.2138/am-2000-0413>>. Acesso em: 12 nov. 2018.

HOWLADER, N., NOONE, A.M.; KRAPCHO, M.; MILLER, D.; BREST, A.; YU, M.; RUHL J, TATALOVICH, Z.; MARIOTTO, A.; LEWIS, D. R.; CHEN, H. S.; FEUER, E. J.; CRONIN, K. A. **SEER Cancer Statistics Review**, [S.l.], 1975-2014. 2017 [cited 2016 November 2016]; Disponível em: <[https://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2014/](https://seer.cancer.gov/csr/1975_2014/)>. Acesso em: 13 nov. 2018.

H.YUSPA, S. Overview of carcinogenesis: past, present and future. **Carcinogenesis**, [S.l.], v. 21, n. 3, p. 341–344, 1 mar. 2000. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/carcin/21.3.341>>. Acesso em: 29 nov. 2018.

INCA. **Estimativa 2016**: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Câncer, 2016. Disponível em: <[http://www.inca.gov.br/bvscontrolecancer/publicacoes/edicao/Estimativa\\_2016.pdf](http://www.inca.gov.br/bvscontrolecancer/publicacoes/edicao/Estimativa_2016.pdf)>. Acesso em: 10 nov. 2018.

INCA. **Estimativa 2018**: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Câncer, 2018a. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2018/introducao.asp>>. Acesso em: 09 nov. 2018.

INCA. 2018b. Disponível em: <[http://www1.inca.gov.br/conteudo\\_view.asp?id=319](http://www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=319)>. Acesso em: 24 nov. 2018.

JACQUEL, N.; FREYERMOUTH, F.; FENOUILLOT, F.; ROUSSEAU, A.; PASCAULT, J. P.; FUERTES, P.; SAINT-LOUP, R. Synthesis and Properties of Poly(butylene succinate): Efficiency of Different Transesterification Catalysts. **Journal of Polymer Science**, [S.l.], v. 49, n. 24, p. 5301–5312, 2011. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/wol1/doi/10.1002/pola.25009/abstract>>. Acesso em: 20 nov. 2018.

JALALI, R.; MUNSHI, A.; ARORA, B. Curability of cancer by radiotherapy and chemotherapy, including in neuraxial neoplasms. **Neurology India**, [S.l.], India, v. 57, n.1, p.13-19, set. 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19305070>>. Acesso em: 30 nov. 2018.

JAMES, N.D. Abiraterone for Prostate Cancer Not Previously Treated with Hormone Therapy. **New England Journal of Medicine**, [S.l.], 2017. 377(4): p. 338-351. <<https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1702900>>. Acesso em: 23 nov. 2018.

KONAN, Y.N., GURNY, R., ALLEMANN, E. Preparation and characterization of sterile and freeze-dried sub-200 nm nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, [S.l.], v.233, p. 239-252, 2002. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517301009449>>. Acesso em: 21 nov. 2018.

KRISHNAN, S.; DIAGARADJANE, P.; CHO, S. H. Nanoparticle-mediated thermal therapy: evolving strategies for prostate cancer therapy. *International journal of hyperthermia. The official journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group*, [S.l.], 26(8):775–89, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20858069>>. Acesso em: 22 nov. 2018.

LAURENCE BRUNTON. **S bases farmacológicas da terapêutica**, [S.l.], McGraw Hill, 2012. Acesso em: 19 nov. 2018.

LEVIN, E. R.; PIETRAS, R. J. Estrogen receptors outside the nucleus in breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, [S.l.], Netherlands, v. 108, n. 3, p.351-361, jun. 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17592774>>. Acesso em: 02 nov. 2018.

MAEDA, H. Tumor-selective delivery of macromolecular drugs via the EPR effect: background and future prospects. **Bioconjugate Chemistry**, [S.l.], 21(5):797–802, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20397686>>. Acesso em: 18 nov. 2018.

MARCELO MANTOVANI; MARTINIANO DE AZEVEDO. **Sistemas poliméricos de liberação controlada utilizando micro e nanopátulas encapsulando violaceína: caracterização, atividade biológica, conseqüências e perspectivas**. 2005. UNICAMP, Campinas, 2005. Disponível em: <[http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/248887/1/Azevedo\\_MarceloMantovaniMartiniano\\_D.pdf](http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/248887/1/Azevedo_MarceloMantovaniMartiniano_D.pdf)>. Acesso em: 25 nov. 2018.

MANKE, A.; WANG, L.; ROJANASAKUL, Y. Mechanisms of nanoparticle-induced oxidative stress and toxicity. **BioMed research international**, [S.l.], 2013:942916, 2013. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/bmri/2013/942916/>>. Acesso em: 15 nov. 2018.

MING-CHUN, P. D.; CHAN, C. K.; CHAN, T. W.; CHEUNG, F. Y.; KWONG, P. W.; LEE, E. K.; LEUNG, A. K.; LEUNG, S. Y.; MA, W. K.; SO, H. S.; TAM, P. C.; HO, L.Y. Consensus statements on the management of metastatic prostate cancer from the Hong Kong Urological Association and Hong Kong Society of Uro-Oncology. **BJU International**, [S.l.], 2018. 121(5): p. 703-715. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29211320>>. Acesso em: 17 nov. 2018.

MOGHIMI, S. M.; HUNTER, A. C. Capture of stealth nanoparticles by the body's defences. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems**, [S.l.], v. 18, n. 6, p. 527-550, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11789674>>. Acesso em: 11 nov. 2018.

MORRIS, M.J.; RUMBLE, R. B.; BASCH, E.; HOTTE S. J.; LOBLAW, A.; RATHKOPF, D.; CELANO, P.; BANGS, R.; MILOWSKY, M. I. Optimizing Anticancer Therapy in Metastatic Non-Castrate Prostate Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. **Journal of Clinical Oncology**, [S.l.], 2018. 36(15): p. 1521-1539. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29608397>>. Acesso em: 08 nov. 2018.

**PACIENTE COM CÂNCER**. 2018. Disponível em: <<http://www.pacientecomcancer.com/capitulo/5/>>. Acesso em: 04 nov. 2018.

PANARITI, A.; MISEROCCHI, G.; RIVOLTA, I. The effect of nanoparticle uptake on cellular behavior: disrupting or enabling functions? **Nanotechnology, science and applications**, [S.l.], 5:87-100, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3781724/>>. Acesso em: 17 nov. 2018.

PEREIRA, E. D. **Preparo de nanocômposito de PLGA/PEG e magnetita-lisina para uso na hipertermia magnética e na liberação controlada de oxaliplatina**. 2016. UFRJ, Rio de Janeiro, 2016. Acesso em: 22 nov. 2018.

ROBINSON, D. Integrative Clinical Genomics of Advanced Prostate Cancer. **Cell**, [S.l.], 2015. 161(5): p. 1215-1228. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26000489>>. Acesso em: 06 nov. 2018.

RYAN , C. J. Abiraterone in Metastatic Prostate Cancer without Previous Chemotherapy. **New England Journal of Medicine**, [S.l.], 2013. 368(2): p. 138-148. Disponível em:<<https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1209096>>. Acesso em: 29 nov. 2018.

SAPARETO, S. A.; DEWEY W. C. Thermal dose determination in cancer therapy. **International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics**, [S.l.], 10(6): 787–800,1984. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6547421>>. Acesso em: 09 nov. 2018.

SAHAY, G.; ALAKHOVA, D. Y.; KABANOV A. V. Endocytosis of nanomedicines. **Journal of Controlled Release**, [S.l.], 145(3):182–95, 2010. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20226220>>. Acesso em: 04 nov. 2018.

SASSE, A. D.; WIERMANN, E. G.; HERCHENHORN, D.; BASTOS, D. A.; SCHUTZ, F. A.; MALUF, F. C.; COURA, G. F.; MORBECK, I. A. P.; CERCI, J. J.; SMALETZ, O.; LIMA, V. S.; ADAMY, A. JR.; CAMPOS, F. S.; CARVALHAL, G. F.; CEZAR, L. C.; DALL’OGLIO, M. F.; SADI, M. V.; REIS, R. B. D.; NOGUEIRA, L. First brazilian consensus of advanced prostate cancer: recommendations for clinical practice. **International Brazilian Journal of Urology** : official journal of the Brazilian Society of Urology, [S.l.], 2017. 43(3): p. 407-415. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28199075>>. Acesso em: 26 nov. 2018.

SCHAFFAZICK, S. R. GUTERRES, S. S.; FREITAS, L. L.; POHLMANN, A. R.; Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, [S.l.], v. 26, n. 5, p.726-737, fev. 2003. Disponível em:<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422003000500017](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422003000500017)>. Acesso em: 05 nov. 2018.

SEGURA, T. C. A. PEREIRA, E. D.; ICART, L. P.; FERNANDES, E.; OLIVEIRA, G. E.; SOUZA JR.; F. G. Hyperthermic Agent Prepared by One-Pot Modification of Maghemite Using an Aliphatic Polyester Model. **Polymer Science Series B**, [S.l.], 60(6), 806-815, 2018. Disponível em:<<https://link.springer.com/article/10.1134%2FS1560090418060106>>. Acesso em: 23 nov. 2018.

SHENOY D.; LITTLE, S.; LANGER, R.; AMIJI, M. Poly(ethylene oxide)-modified poly( $\beta$  -amino ester)nanoparticles as a pH-sensitive system for tumor-targeted delivery of hydrophobic drugs:Part 2. In vivo distribution and tumor localization studies. **Pharmacological Research**, [S.l.], 22, 2107-2114, 2005. Disponível em:<<http://www.sciencedirect.com/science/journal/aip/15499634>>. Acesso em: 28 nov. 2018.

SHORE, N.D. Efficacy and safety of enzalutamide versus bicalutamide for patients with metastatic prostate cancer (TERRAIN): a randomised, double-blind, phase 2 study. **The Lancet Oncology**, [S.l.], 2016. 17(2): p. 153-163. Disponível em:<[https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045\(15\)00518-5/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045(15)00518-5/fulltext)>. Acesso em: 12 nov. 2018.

SINGH, N.; MANSHIAN, B.; JENKINS, G. J.; GRIFFITHS, S. M.; WILLIAMS, P. M.; MAFFEIS, T. G. WRIGHT, C. J.; DOAK, S. H. NanoGenotoxicology: The DNA damaging potential of engineered nanomaterials. **Biomaterials**, [S.l.], 30(23-24):3891–914, 2009. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19427031>>. Acesso em: 14 nov. 2018.

SILVA, A. R. **Preparação, Caracterização e Avaliação de Nanoesferas de PLGA (50:50) contendo In(III)-Meso-tetrafenilporfirina para Aplicação em Terapia Fotodinâmica**. 2007. 155 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Físico-química, Uni-versidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007. Disponível em:<<http://www.biq.iqm.unicamp.br/arquivos/teses/ficha72377.htm>>. Acesso em: 09 nov. 2018.

SILVA, F.C.D.; GONÇALVES, F.; SANTOS, A.; KLIMENT, J.; WHELAN, P.; OLIVER, T.; ANTONIOU, N.; PASTIDIS, S.; MARQUES, Q. A.; ROBERTSON C. Locally Advanced and Metastatic Prostate Cancer Treated with Intermittent Androgen Monotherapy or Maximal Androgen Blockade: Results from a Randomised Phase 3 Study by the South European Urological Group. **European Urology**, 2014. 66(2): p. 232-239.<Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23582949>>. Acesso em: 01 nov. 2018.

SOARES, M. V. Desenvolvimento e avaliação de nanopartículas de poli-ε- caprolactona contendo zinco(II)ftalocianina para uso na terapia fotodinâmica do câncer. Rio de Janeiro, 2009. Dissertação (**Mestrado em Ciências Farmacêuticas**) - Curso de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009. Disponível em:< <http://objdig.ufrj.br/59/teses/751888.pdf>>. Acesso em: 02 nov. 2018.

SOUZA, P. da C. **Estudo da participação do colágeno v no câncer de pulmão, especificamente no carcinoma não de pequenas células**. 2011. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011. Disponível em:<<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5144/tde-27102011-182655/pt-br.php>>. Acesso em: 18 nov. 2018.

SWEENEY, C.J. Chemohormonal Therapy in Metastatic Hormone-Sensitive Prostate Cancer. **New England Journal of Medicine**, [S.l.], 2015. 373(8): p. 737-746. Disponível em:<<https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1503747>>. Acesso em: 19 nov. 2018.

TARATULA, O.; PATEL, M.; SCHUMANN, C.; NALEWAY, M. A.; PANG, A. J.; H. H. Phthalocyanine-loaded graphene nanoplatforn for imaging-guided combinatorial phototherapy. **International Journal Of Nanomedicine**. S. l., p. 2347-2362, 2015. Disponível em: <<http://www.dovepress.com/phthalocya-nine-loaded-graphene-nanoplatforn-fornbspimaging-guided-comb-peer-reviewed-ar-ticle-IJN>>. Acesso em: 17 nov. 2018.

TEIXEIRA, L. A.; FONSECA, C. O.; **De doença desconhecida a problema de saúde pública: o INCA e o controle do câncer no Brasil**, Ministério da Saúde: Rio de Janeiro, 2007. Disponível em:<[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/doenca\\_desconhecida\\_saude\\_publica.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/doenca_desconhecida_saude_publica.pdf)>. Acesso em: 25 nov. 2018.

THAKOR, A. S.; GAMBHIR, S. S. Nanooncology: The future of cancer diagnosis and therapy. **Ca : A Cancer Journal For Clinicians**, [S.l.], p. 395-418. dez. 2013. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24114523>>. Acesso em: 07 nov. 2018.  
VAL SPEECHLEY; MAXINE ROSEFIELD. **Tudo sobre câncer**, [S.l.], Andrei, 2003. Acesso em: 05 out. 2018.

WANG, M.; THANOU, M. Targeting nanoparticles to cancer. **Pharmacological Research**, [S.l.], 62(2):90–9, 2010. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20380880>>. Acesso em: 21 set. 2018.

XU, F.; PIETT, C.; FARKAS, S.; QAZZAZ, M.; SYED, N. I. Silver nanoparticles (AgNPs) cause degeneration of cytoskeleton and disrupt synaptic machinery of cultured cortical neurons. **Molecular brain**, [S.l.], 6:29, 2013. Disponível em:< <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23782671>>. Acesso em: 15 dez. 2018.

Y. XIN, Q. HUANG, J. TANG, X. HOU, P. ZHANG, L.Z. ZHANG, G. JIANG, Nanoscale drug delivery for targeted chemotherapy, **Cancer Letters**, [S.l.], 379, p. 24-31, 2016. Disponível em:<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304383516303366>>. Acesso em: 10 nov. 2018

ZITVOGEL, L.; APETOH, L.; GHIRINGHELLI, F.; KROEMER, G. Immunological aspects of cancer chemotherapy. **Nature Reviews Immunology**, [S.l.], England, v. 8, p.59-73, jan. 2008. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18097448>>. Acesso em: 20 nov. 2018.