

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 22/02/2021.

João Victor Brandt

Nanopartículas magnéticas funcionalizadas com copolímero PCL-co-PEGMA-ácido
fólico para liberação controlada de metotrexato.

Dissertação apresentada ao Instituto
de Química, Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como
parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em Química

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Fernando Costa Marques.

Araraquara

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

Brandt, João Victor
B821n Nanopartículas magnéticas funcionalizadas com
copolímero PCL-co-PEGMA-ácido fólico para liberação
controlada de metotrexato / João Victor Brandt. –
Araraquara : [s.n.], 2019
83 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Química
Orientador: Rodrigo Fernando Costa Marques

1. Materiais biomédicos. 2. Tecnologia de liberação
controlada. 3. Nanopartículas. 4. Câncer. 5. Metotrexato.
I. Título.

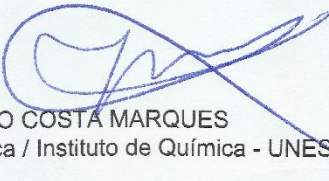
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

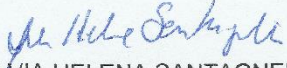
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: "Nanopartículas magnéticas funcionalizadas com copolímero PCL-co-PEGMA-ácido fólico para liberação controlada de metotrexato"

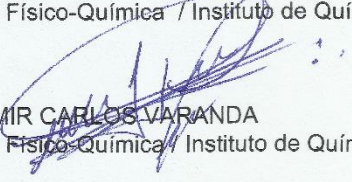
AUTOR: JOÃO VICTOR BRANDT

ORIENTADOR: RODRIGO FERNANDO COSTA MARQUES

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. RODRIGO FERNANDO COSTA MARQUES
Departamento de Físico-Química / Instituto de Química - UNESP - Araraquara


Dr.ª SILVIA HELENA SANTAGNELI
Departamento de Físico-Química / Instituto de Química - UNESP - Araraquara


Prof. Dr. LAUDEMIR CARLOS VARANDA
Departamento de Físico-Química / Instituto de Química - USP - São Carlos

Araraquara, 22 de fevereiro de 2019

SÚMULA CURRICULAR

Dados pessoais

Nome: João Victor Brandt (citações **BRANDT, J. V.**)

Filiação: João Carlos Brandt e Luzia Aparecida Archangelo Brandt.

Nascimento: 06/06/1995 - Araras/SP - Brasil.

Carteira de Identidade: 40.017.370-0 SSP - SP - 01/04/2014.

CPF: 421.645.118-75.

Endereço eletrônico: joao.brandt@gmail.com // joao-brandt@hotmail.com

Endereço profissional

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP.

Instituto de Química - Campus de Araraquara.

Jardim Quitandinha - Araraquara/SP - Brasil.

Rua Professor Francisco Degni, nº 55 - CEP 14800-060

Formação acadêmica/Titulação

2013 – 2016 Bacharelado em Química

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Química, Campus de Araraquara, São Paulo, Brasil.

Título: Preparação de copolímeros PEG-PCL modificado com ácido fólico para liberação controlada de metotrexato.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Fernando Costa Marques.

Formação complementar

2018 – 2018 Curso de curta duração “10ª Escola de Verão em Medicina – Medicamentos: do alvo para o mercado”. (Carga horária: 50h). Escola de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, USP, Ribeirão Preto/SP, Brasil.

Áreas de atuação

1. Química
2. Físico-Química
3. Química de Interfaces/Físico-Química de Superfícies
4. Nanomateriais
5. Biomateriais

Artigos completos publicados em periódicos

1. BRANDT, J. V.; PIAZZA, R. D.; SANTOS, C. C.; VEGA-CHACÓN, J.; AMANTEA, B. E.; PINTO, G. C.; MAGNANI, M.; PIVA, H. L.; TEDESCO, A. C.; PRIMO, F. L.; JAFELICCI JR, M.; MARQUES, R. F. C. Synthesis and colloidal characterization of folic acid-modified PEG-b-PCL Micelles for methotrexate delivery. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 177, p. 228-234, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.02.008>
2. LUCENA, G. N.; SANTOS, C. C.; PINTO, G. C.; ROCHA, C. O.; **BRANDT, J. V.**; PAULA, A. V.; JAFELICCI JR, M.; MARQUES, R. F. C. Magnetic cross-linked enzyme aggregates (MCLEAs) applied to biomass conversion. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 270, p. 58-70, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2018.11.003>
3. PIAZZA, R. D.; **BRANDT, J. V.**; GOBO, G. G.; TEDESCO, A. C.; PRIMO, F. L.; MARQUES, R. F. C.; JAFELICCI JR, M. mPEG-co-PCL nanoparticles: The influence of hydrophobic segment on methotrexate drug delivery. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 555, p. 142-149, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2018.06.076>

A vida e suas reviravoltas que me fizeram amadurecer.

Aos meus pais pelo incentivo, apoio e amor ao longo da jornada.

Aos meus amigos pela convivência, descontração e carinho.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, João Carlos e Luzia, pelo constante suporte nos momentos mais importantes da minha vida, pela paciência e amor. Muito obrigado;

À minha avó Helena, responsável por me ajudar a espairer a mente durante os fins de semana e sempre acreditar em mim;

Ao Prof. Dr. Rodrigo Fernando Costa Marques pela amizade, orientação e confiança no trabalho;

Ao Prof. Dr. Miguel Jafelicci Júnior por seu vasto conhecimento;

Ao Rodolfo D. Piazza e ao Caio C. Santos pela grande amizade e supervisão científica durante a realização deste trabalho – grandes mestres (apesar de doutores!);

Aos amigos do Laboratório de Materiais Magnéticos e Coloides, pelas discussões, incentivos e convivência;

Aos amigos das repúblicas Atecubanos, Bátima Ki e Xurupitas, pelas diversas discussões e cervejas geladas;

Aos amigos Fred, Biel, Gabi, Élide, Gu, Tofolo, Bru, Jadi, Rose, Corte e Matt.

À CNPq pela bolsa concedida;

Uma gota de tinta caiu sobre o papel e eu a arrastei. Agora, cada ponto da área dentro das paredes é preto ou branco; e nenhum ponto é preto e branco. Isso é claro. O preto está, no entanto, todo em um ponto ou mancha; está dentro dos limites. Existe uma linha de demarcação entre o preto e o branco. Agora eu pergunto sobre os pontos desta linha, eles são pretos ou brancos? Por que um mais que o outro? Eles são (A) ambos pretos e brancos ou (B) nem pretos e nem brancos? Por que A mais que B, ou B mais que A? [...] Isso nos leva a refletir que é como se eles estivessem conectados em uma superfície contínua no qual os pontos são coloridos; tomados isoladamente eles não têm cor e não são nem pretos nem brancos, nenhum deles. [...] A conclusão é que os pontos próximos ao limite são metade pretos e metade brancos. São pontos que devem ser considerados se tentarmos declarar as propriedades em todos os pontos precisos de uma superfície, considerando esses pontos, como devem ser, em sua conexão de continuidade.

Na lógica da quantidade. Charles Sanders Peirce. 1893.

RESUMO

O câncer é responsável por uma alta taxa de mortalidade e é considerado um problema de saúde pública. Entre os vários métodos de tratamento antineoplásico, a quimioterapia é a mais utilizada. A fim de reduzir os efeitos colaterais provocados pela quimioterapia, o uso de plataformas nanométricas de liberação permite uma ação em locais específicos, tornando o tratamento mais eficiente para os pacientes. Diversas nanoplateformas são reportadas na literatura para o tratamento do câncer e dentre estas, as nanopartículas magnéticas funcionalizadas com copolímeros em bloco possibilitam a interação simultânea com fármacos hidrofóbicos e hidrofílicos. A avaliação das propriedades dessas plataformas possibilita otimizar sua ação no corpo humano, aumentando o tempo de circulação e seu direcionamento para regiões específicas no organismo. A eficiência de incorporação e o perfil de liberação controlada é estritamente dependente do tamanho, morfologia e das interações dos blocos do copolímero. A aplicação dessas nanopartículas é promissora no desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos. Com a redução dos efeitos colaterais, devido ao uso dessas nanoplateformas, permitirá ao paciente um tratamento menos agressivo e mais eficiente, melhorando sua qualidade de vida. Neste trabalho, estudou-se a síntese de uma nanoplateforma híbrida composta de um núcleo inorgânico e uma casca polimérica. O núcleo inorgânico é composto por óxido de ferro (magnetita) e a casca orgânica é composta pelo copolímero em bloco PCL-co-PEGMA modificado com ácido fólico. Espectroscopias na região do infravermelho e de ressonância magnética nuclear permitiram confirmar a obtenção da nanoplateforma conforme mencionado. Foram obtidas partículas com aproximadamente 180 nm estáveis em pH fisiológico, possibilitando sua aplicação em diferentes regiões do corpo humano. A eficiência de incorporação do metotrexato foi de aproximadamente 96%. Os ensaios de liberação do fármaco indicaram que a nanoplateforma é menos ativa em pH próximo a 2 (pH encontrado no fluido gástrico no estômago) enquanto a presença de glutatona reduzida aumenta a liberação de metotrexato, atingindo quase 50% de liberação de metotrexato após 96 horas (4 dias) de análise. A eficiência da nanoplateforma permite identificar sua potencialidade como sistema de liberação controlada.

Palavras chave: Nanopartículas híbridas. Carço@casca. Liberação controlada. Metotrexato.

ABSTRACT

Cancer is responsible for many fatalities and it's considered a public health problem. Among several methods of antineoplastic treatments, the chemotherapy is the most used. To reduce the side effects caused by chemotherapy, the use of nanometric release platforms allows action in specific sites targets, making the cancer treatment more efficient for patients. Its reported in the literature many kinds of nanoparticles that can be used in cancer treatment, but the block copolymer functionalized magnetic nanoparticles stand out due to their simultaneous interaction with hydrophobic and hydrophilic drugs. The evaluation of the properties of these platforms allows optimizing their action in the human body, enabling more time of circulation and targeting a specific region in the organism. The incorporation efficiency and the controlled release profile is strictly dependent on the size, morphology, and interactions of the copolymer blocks. The application of these nanoplateforms is promising in the development of drug delivery systems. Because the reduction of side effects, due to the use of these nanoplateforms, it will allow the patient a less aggressive and more efficient treatment, improving the life's quality. In this work, we studied the synthesis of a hybrid nanoplateform composed of an inorganic core and a polymeric shell. The inorganic core is composed of iron oxide (magnetite) and the organic shell is composed of the PCL-co-PEGMA block copolymer modified with folic acid. Infrared spectroscopy and nuclear magnetic resonance allowed the confirmation of the nanoplateform synthesis. Particles around 180 nm stable at physiological pH was obtained, allowing its application in different regions of the human body. The incorporation efficiency of methotrexate was approximately 96%. The drug delivery assays indicated that the nanoplateform is less active at pH values close to 2 (pH value found in stomach gastric fluid) in the meanwhile the presence of reduced glutathione enhanced the methotrexate release, reaching almost 50% methotrexate liberation after 96 hours (4 days) of analysis. The efficiency of the nanoplateform allowed to identify its potential as a controlled drug delivery system.

Key words: Hybrid nanoparticles. Core@Shell. Controlled Release. Methotrexate.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Esquema da célula unitária de estrutura do tipo espinélio inverso presente na fase magnetita do óxido de ferro. Adaptado de Kalendová, A (19).	21
Figura 2 -	Resumo esquemático dos mecanismos de transporte. (A) transporte mediado por receptores; (B) transporte mediado por transmissor; (C) transporte paracelular; (D) transporte transcelular e (E) transporte mediado por célula M – fagocitose por células M. Adaptado de Yun, Y (36).	25
Figura 3.A -	Estrutura química da nanopartícula híbrida desenvolvida	29
Figura 3.B -	Estrutura tridimensional da nanopartícula híbrida desenvolvida	29
Figura 4 -	Estruturas moleculares das moléculas ácido fólico e metotrexato.	30
Figura 5 -	Esquema do mecanismo de ação do MTX, mostrando a inibição de reações de transmetilação e da formação de poliaminas pelo metotrexato. Adaptado de Cronstein, B. N (56).	31
Figura 6 -	Rota sintética do copolímero PCL-co-PEGMA e a posterior modificação com ácido 3-mercaptopropiônico, 2-propenammina e ácido fólico.	35
Figura 7 -	Espectro de transmitância na região do infravermelho da amostra PCL-co-PEGMA e suas posteriores modificações.	45
Figura 8 -	Espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio das amostras (1) PCL-co-PEGMA, (2) HS-PCL-co-PEGMA, (3) HS-PCL-co-PEGMA-NH ₂ e (4) HS-PCL-co-PEGMA-NH-AF, respectivamente.	47
Figura 9 -	Curva de calibração para os padrões de PE com diferentes massas moleculares em DMF.	49
Figura 10 -	Cromatograma das amostras PCL-co-PEGMA, HS-PCL-co-PEGMA, HS-PCL-co-PEGMA-NH ₂ e HS-PCL-co-PEGMA-NH-AF, respectivamente.	50
Figura 11 -	Aspecto visual e magnético da dispersão coloidal das	51

nanopartículas de óxido de ferro em meio aquoso.

Figura 12 -	Difratograma de raios X da amostra de nanopartículas magnéticas de óxido de ferro (fase magnetita) e do padrão PDF n° 19-629 para comparação.	52
Figura 13 -	Espectros de transmitância na região do infravermelho médio para as amostras de nanopartículas pré e pós-funcionalização com o agente de superfície MPTS.	53
Figura 14 -	Espectros de transmitância na região do infravermelho médio para as amostras NP, NP@MPTS, NP@MPTS@POL, NP@MPTS@POL@AF e HS-PCL-co-PEGMA, nessa ordem.	55
Figura 15 -	Curva TG das amostras de nanopartículas com e sem funcionalização e do copolímero modificado.	58
Figura 16 -	Curva de DSC das amostras de nanopartículas com e sem funcionalização e do copolímero modificado.	59
Figura 17 -	Curva de titulação do potencial zeta (ζ) das amostras de nanopartículas à 25 °C.	60
Figura 18 -	Gráfico da variação do diâmetro hidrodinâmico em função da mudança do valor de pH da dispersão à 25 °C.	62
Figura 19 -	Distribuição do diâmetro hidrodinâmico das amostras de nanopartículas à 25 °C e pH 7,4.	64
Figura 20 -	Espectro de absorbância do fármaco metotrexato na região do UV-Vis.	67
Figura 21.A -	Curvas analíticas para o metotrexato nos comprimentos de onda 258, 303 e 371 nm.	68
Figura 21.B -	Curva analítica para o metotrexato no comprimento de onda 303 nm.	68
Figura 22 -	Perfil de liberação de metotrexato das amostras de nanopartículas na presença e ausência de glutathione reduzida (GSH) em tampão fosfato (pH 7,4) e simulado de fluido gástrico (pH 2).	71
Figura 23 -	Curva bi-logarítmica da fração de metotrexato liberado em função do tempo	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Padrões comerciais de PE utilizados no preparo da curva de calibração do método de cromatografia de permeação em gel (GPC).	48
Tabela 2 -	Distribuição das massas molares das amostras do copolímero e suas modificações obtida por GPC.	50
Tabela 3 -	Influência da variação na proporção em massa fármaco:matriz na eficiência de incorporação do metotrexato.	69
Tabela 4 -	Parâmetros obtidos da curva cinética de liberação de metotrexato das nanopartículas híbridas.	72

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1	38
Equação 2	38
Equação 3	39
Equação 4	41
Equação 5	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ζ	Potencial Zeta
ϵ -CL	ϵ -Caprolactona
AF	Ácido Fólico
CDCL ₃	Clorofórmio Deuterado
DCC	<i>N,N'</i> -Diciclohexilcarbodiimida
DHFR	Dihidrofolato Redutase
DLS	Espalhamento de Luz Dinâmico
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido Deuterado
DNA	Ácido Desoxiribonucléico
DRX	Difração de Raios X
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
EDC	<i>N</i> -(3-dimetilaminopropil)- <i>N'</i> -etilcarbodiimida
FTIR	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier
GPC	Cromatografia de Permeação em Gel
GSH	Glutathione reduzida
GSSG	Glutathione oxidada
IARC	Agência Internacional de Pesquisa em Cancer
Mn	Massa molecular média com base em número
Mp	Pico da massa molecular
Mw	Massa molecular média com base em massa
MPTS	(3-mercaptopropil)triethoxysilano
MTX	Metotrexato
NADPH	Fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida
NP	Nanopartícula
OMS	Organização Mundial de Saúde
PBS	Tampão fosfato 0,01 mol L ⁻¹ pH 7,4

PCL	Poli(caprolactona)
PdI	Índice de Polidispersão
PEG	Poli(etilenoglicol)
PEGMA	Poli(etilenoglicol) metacrilato
PCL-co-PEGMA	Poli(caprolactona)- <i>copolímero</i> -Poli(etilenoglicol metacrilato)
HS-PCL-co-PEGMA-NH-AF	Poli(caprolactona)- <i>copolímero</i> -poli(etilenoglicol) modificado com ácido 3-mercaptopropiônico, 2-propenamina e ácido fólico
PE	Poli(estireno)
PTFE	Poli(tetrafluoretileno)
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RPM	Rotações por minuto
RNA	Ácido Ribonucleico
Sn(Oct) ₂	2-etilhexanoato de estanho II (comercial Octanoato de estanho)
τ	Relaxação Magnética
TG	Termogravimetria
UV-Vis	Ultravioleta-Visível

LISTA DE SÍMBOLOS

μm	Micrometro
μL	Microlitro
Ω	Ohms
$^{\circ}\text{C}$	Grau Celsius
cm	Centímetro
g	Grama
h	Hora
Hz	Hertz
L	Litro
min	Minuto
mL	Mililitro
mV	Milivolt
nm	Nanômetro
ppm	Partes por milhão
s	Segundo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
1.1. NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS.....	20
1.2. POLÍMEROS EM LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS.....	23
1.3. MECANISMOS DE TRANSPORTE DE NANOPLATAFOMAS NO ORGANISMO.....	24
1.4. ESTRATÉGIAS DE FUNCIONALIZAÇÃO DE NANOPLATAFORMAS PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA.....	27
1.5. METOTREXATO APLICADO AO TRATAMENTO DE CÂNCER	30
2. OBJETIVOS	33
2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	33
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	34
3.1. REAGENTES UTILIZADOS.	34
3.2. ROTA SINTÉTICA EMPREGADA.	34
3.2.1. Síntese das nanopartículas magnéticas de óxido de ferro funcionalizadas com (3-mercaptopropil)triethoxysilano (MPTS).....	34
3.2.2. Síntese do copolímero PCL-co-PEGMA-AF contendo grupo tiol livre terminal.	36
3.2.3. Obtenção do sistema caroço-casca: nanopartículas magnéticas funcionalizadas com copolímero PCL-co-PEGMA	37
3.3. ESTUDO DE INCORPORAÇÃO E LIBERAÇÃO DO FÁRMACO METOTREXATO.....	37
3.4. CARACTERIZAÇÃO	40
3.4.1. Espectroscopia na região do infravermelho médio (FTIR)	40
3.4.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN ¹ H).....	40
3.4.3. Espectroscopia na região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis)	40
3.4.4. Difração de Raios X (DRX)	41
3.4.5. Potencial Zeta (ζ)	41
3.4.6. Diâmetro Hidrodinâmico (D _h).....	41
3.4.7. Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)	42
3.4.8. Termogravimetria (TG).....	42
3.4.9. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	43
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
4.1. COPOLÍMERO PCL-co-PEGMA-AF.....	44
4.2. NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS DE ÓXIDO DE FERRO (FASE MAGNETITA) FUNCIONALIZADAS COM MPTS.....	51
4.3. SÍNTESE DO SISTEMA CAROÇO-CASCA: NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS FUNCIONALIZADAS COM COPOLÍMERO PCL-co-PEGMA CONTENDO LIGAÇÃO DISSULFETO.	55
4.4. CARACTERIZAÇÃO COLOIDAL.....	60
4.5. EFICIÊNCIA DE INCORPORAÇÃO E PERFIL DE LIBERAÇÃO DO FÁRMACO MTX	67
5. CONCLUSÕES.	73
6. PERSPECTIVAS	74
7. REFERÊNCIAS	75

1. Introdução

O câncer é uma doença responsável por uma alta taxa de mortalidade, independentemente da idade e sexo do indivíduo (1). Segundo o documento *World Cancer Report* da Agência Internacional para Pesquisa sobre Cancer (Iarc), da Organização Mundial de Saúde (OMS), estima-se o surgimento de 20 milhões de novos casos até 2025, sendo 80% em países em desenvolvimento (2). No Brasil, durante o biênio 2016-2017, estimou-se a ocorrência de 600 mil novos casos (2).

Existem diversos métodos de tratamento do câncer, tais como: radioterapia, quimioterapia, imunoterapia e cirurgia (3). Dentre esses, a quimioterapia antineoplásica tem sido a abordagem escolhida para o tratamento de tumores em casos avançados (4). No entanto, esta abordagem apresenta certa citotoxicidade e possibilita resistência ao tratamento (3,5). Uma das causas da citotoxicidade é proveniente da não-seletividade dos fármacos utilizados no tratamento, o qual muitas vezes não consegue distinguir entre células saudáveis para células tumorais, acarretando a morte de ambos os tipos de células (como exemplo desse tipo de fármaco utilizados temos a *cis*-platina) (6).

Uma forma de contornar essa barreira é a utilização de plataformas de liberação (7,8). Essas plataformas permitem a incorporação de fármacos pouco solúveis e possibilita sua liberação em locais específicos no organismo. Esses carreadores também possibilitam a proteção de moléculas bioativas, o aumento da biodisponibilidade na corrente sanguínea e melhora a distribuição nos tecidos (9). Essas características dos carreadores minimizam os efeitos colaterais dos fármacos.

O emprego de plataformas de liberação em terapias, devido suas dimensões, depende principalmente das propriedades físico-químicas da superfície do carreador (10). Dessa forma, a superfície do carreador pode ser funcionalizada proporcionando o aumento da biodisponibilidade de várias moléculas ativas (11), protegendo a molécula ativa contra inativação enzimática (12), direcionamento para regiões específicas na qual a ação terapêutica é desejada e aumenta a eficiência de absorção pelos diferentes tecidos (13). Os carreadores podem ser sintetizados a partir de matrizes inorgânicas, orgânicas ou materiais híbridos, e ainda apresentam ampla variedade de morfologia e tamanho (14). As vantagens no uso de plataformas de liberação em escala nanométrica residem na possibilidade de que **(i)** esses sistemas conseguem passar por vasos capilares devido ao baixo volume, além de minimizarem

a ação de macrófagos do sistema de defesa, aumentando o tempo de permanência na corrente sanguínea; **(ii)** conseguem penetrar em células e tecidos até chegar em alvos desejados, **(iii)** aumentam a eficácia do tratamento e **(iv)** reduzem efeitos colaterais nos pacientes (15).

1.1. Nanopartículas magnéticas

As nanopartículas (NP) compõe uma vasta gama de nanomateriais e, por definição, possuem uma ou mais dimensões físicas entre 1 e 100 nm (16). Dentre os diversos tipos de nanopartículas magnéticas, as que mais se destacam em aplicações biomédicas (diagnóstico, imageamento por ressonância magnética e liberação controlada de fármaco) são as nanopartículas magnéticas de óxido de ferro, especificamente a fase magnetita (Fe_3O_4), por ser relativamente fácil de ser sintetizada, biocompatível e responde à influência de um campo magnético externo (17,18).

A propriedade magnética da magnetita surge em decorrência da sua estrutura cristalina e, conseqüentemente, a sobreposição das funções de onda dos orbitais dos átomos de oxigênio e ferro (+2 e +3) presentes. Possui uma estrutura do tipo espinélio invertido caracterizada pelo empacotamento cúbico de face centrada, contendo sítios tetraédricos e octaédricos. O sítio tetraédrico pode ser representado por um cátion metálico como o centro do tetraedro (ocupado exclusivamente por íons de Fe^{3+}) e oxigênios ocupando seus vértices, enquanto o sítio octaédrico também possui em seu centro um cátion metálico (ocupado tanto por íons Fe^{+2} quanto íons Fe^{+3}) e os oxigênios ocupando os vértices do octaedro (19). A **Figura 1** apresenta a imagem da estrutura cristalina da fase magnetita a fim de facilitar a visualização tridimensional do espinélio invertido e a localização dos átomos.

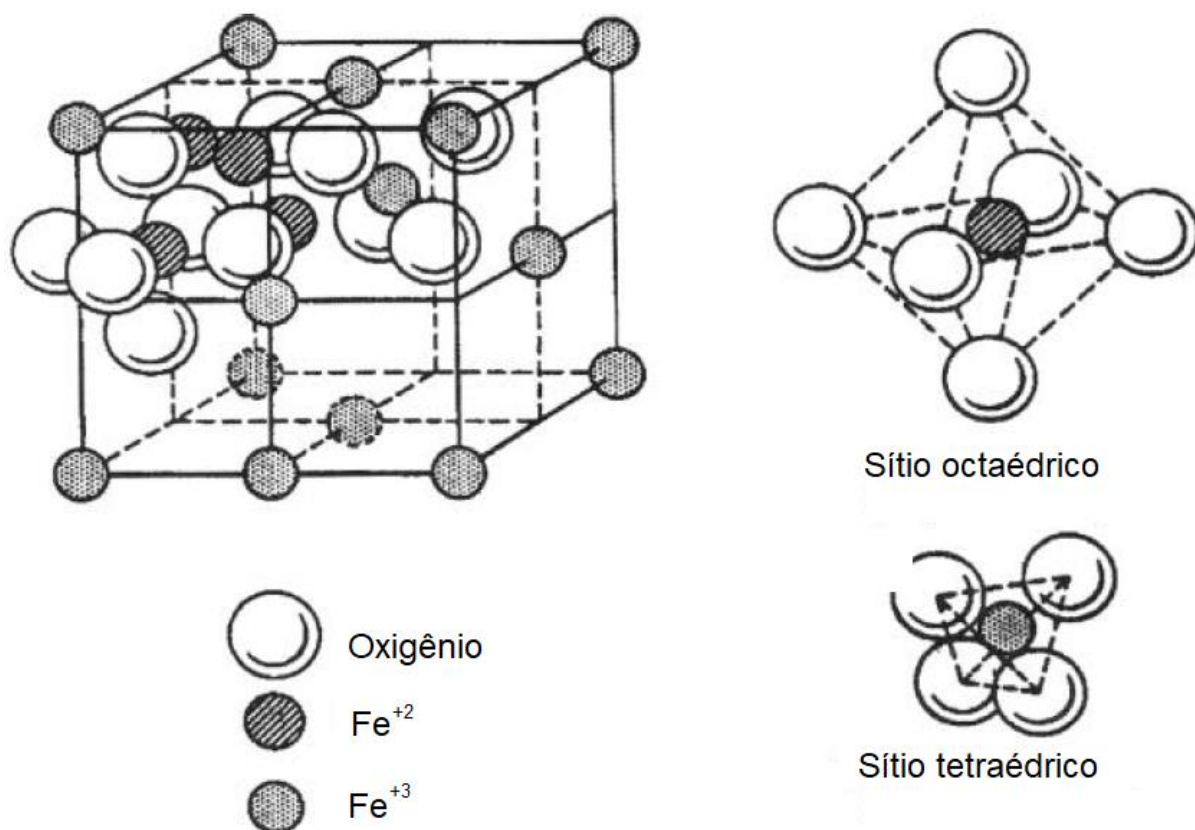


Figura 1 - Esquema da célula unitária de estrutura do tipo espinélio inverso presente na fase magnetita do óxido de ferro. Adaptado de Kalendová, A (19).

Existem diversos métodos que podem ser empregados na síntese das nanopartículas, tais como: microemulsão água em óleo (20), sonoquímico (21), sol-gel (22), coprecipitação (23) etc. Destaca-se o método da coprecipitação devido as suas inúmeras vantagens: homogeneidade química, condições ambientes de síntese, baixo custo e possibilita produção em grande escala (23).

A propriedade magnética dessas nanopartículas possibilita sua utilização como agentes de contrastes no corpo humano (24). Na investigação clínica e na ressonância magnética, os átomos de hidrogênio são mais usados para gerar um sinal de resposta na realização do exame devido sua abundância no corpo humano e outros organismos biológicos, particularmente nas moléculas de água. Dessa forma, o exame de ressonância magnética mapeia essencialmente a localização da água no corpo. Inicialmente, a região do corpo de interesse é submetida à um campo magnético externo. Este campo orienta o spin nuclear dos átomos de hidrogênio em uma direção específica e, posteriormente, incide um pulso de radiofrequência que excita a transição nuclear do spin. Ao retornar ao estado inicial (de repouso), o spin emite uma

radiação característica durante um processo chamado relaxação magnética (τ). As nanopartículas alteram o processo de relaxação e, dessa forma, permite mapear sua presença em regiões específicas do corpo (16,25).

No entanto, as nanopartículas de magnetita possuem baixa estabilidade química e coloidal. A atmosfera ambiente promove a oxidação de íons Fe^{+2} em Fe^{+3} presentes na estrutura cristalina através da reação de oxirredução com o oxigênio presente. Dessa forma, há a mudança de fase no óxido de ferro, da fase magnetita (Fe_3O_4) para a maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) que possui menor caráter magnético. O material na escala nanométrica apresenta área de superfície maior quando comparado com o mesmo material no seu estado macroscópico. Um problema a ser superado envolvendo as nanopartículas magnéticas de magnetita diz respeito à agregação, pois a elevada razão área/volume induz a agregação como forma de reduzir sua energia de superfície. Portanto, revestir as nanopartículas (funcionalização) previne a oxidação das nanopartículas e evita a agregação das mesmas, sendo crucial para a utilização deste material em aplicações biomédicas.

1.2. Polímeros em liberação controlada de fármacos.

É crescente o número de publicações científicas envolvendo o uso de polímeros como carreadores em liberação controlada. Esses se apresentam nas formas mais variadas em aplicações biomédicas (26). Uma de suas formas é a união em blocos funcionalizadas sobre nanopartículas de óxido de ferro (27). Copolímeros apresentam vantagens sobre as demais estruturas poliméricas uma vez que adquirem propriedades distintas como, por exemplo, a característica anfifílica que permite que interajam com moléculas polares e apolares (28).

Dentre os sistemas estudados encontram-se o polímero em blocos constituído por dois poliésteres, a poli(caprolactona) (PCL) e o poli(etilenoglicol metacrilato) (PEGMA) (29). A PCL é biocompatível e biodegradável, o principal requisito como plataforma de liberação. A biodegradação da PCL no organismo não ocorre por meio de enzimas, mas por via hidrolítica, aumentando o tempo de circulação no organismo e possibilitando o uso deste material em sistemas de liberação controlada (30). Existem dois métodos de preparar esse composto: a condensação de ácido 6-hidróxiexanóico e a polimerização de abertura de anel da ϵ -caprolactona, sendo este último baseado em quatro principais mecanismos (31). Dentre os quatro mecanismos, a polimerização por coordenação-inserção é a mais comumente utilizada, com o uso de um catalisador eficiente e disponível comercialmente que apresenta um metal (estanho – 2-etilhexanoato de estanho II, abreviado como octanoato de estanho $\text{Sn}(\text{Oct})_2$) em sua composição (32).

Semelhante a PCL, o PEGMA também é biocompatível e biodegradável, tornando-o candidato promissor a ser empregado em nanocarreadores. Além de biocompatível, o PEGMA apresenta baixa citotoxicidade e alta solubilidade em água, o que o torna um material amplamente utilizado em aplicações biomédicas. Segmentos de PEGMA na superfície de carreadores apresentam a característica de reduzirem a adesão de proteínas plasmáticas (33), aumentando o tempo de circulação dos carreadores no organismo.

1.3. Mecanismos de transporte de nanoplatafomas no organismo

A administração de fármacos via oral é o modo mais conveniente e o mais aceitável pelos pacientes, uma vez que é um método indolor e de fácil administração (34). No entanto, a obtenção de fármacos para uso oral apresenta diversos obstáculos. Estas barreiras são provenientes tanto do fármaco quanto do organismo. Quanto ao fármaco, está relacionada a baixa solubilidade em meio aquoso, ocasionando baixa dissolução e consequentemente, biodisponibilidade e eficiência reduzidas (35). Quanto ao organismo, há as condições extremas de pH e a alta atividade enzimática no sistema gastrointestinal que promovem a degradação dos fármacos (34). Para manter a atividade biológica do fármaco a fim de aumentar a biodisponibilidade, acarretando maior eficiência, faz-se uso de plataformas de liberação, tais como nanopartículas. Portanto, é necessário a caracterização da plataforma utilizada já que a absorção pelos órgãos e tecidos é altamente dependente do tamanho da partícula, potencial zeta e tipo de revestimento – hidrofobicidade (35).

A absorção intestinal de nanopartículas ocorre através da incorporação intercelular no epitélio intestinal e no tecido linfático (36,37). A **Figura 2** apresenta as principais rotas de absorção de sistemas nanoparticulados através da membrana celular (35–37). As rotas são distintas entre si e culminam na transferência da nanopartícula para a circulação sistêmica, com exceção da rota com a presença da célula M: **(a)** uso de carreadores funcionalizados os quais são transportados para o interior da célula através de receptores; **(b)** ocorre o transporte dos carreadores através de transportadores; **(c)** a internalização dos carreadores através do transporte paracelular que ocorre entre as células; **(d)** a absorção pode ocorrer por transporte transcelular, onde a superfície da célula forma invaginações que englobam os carreadores; **(e)** fagocitose através de células M (36). O uso de carreadores funcionalizados permite maior seletividade durante o tratamento neoplásico.

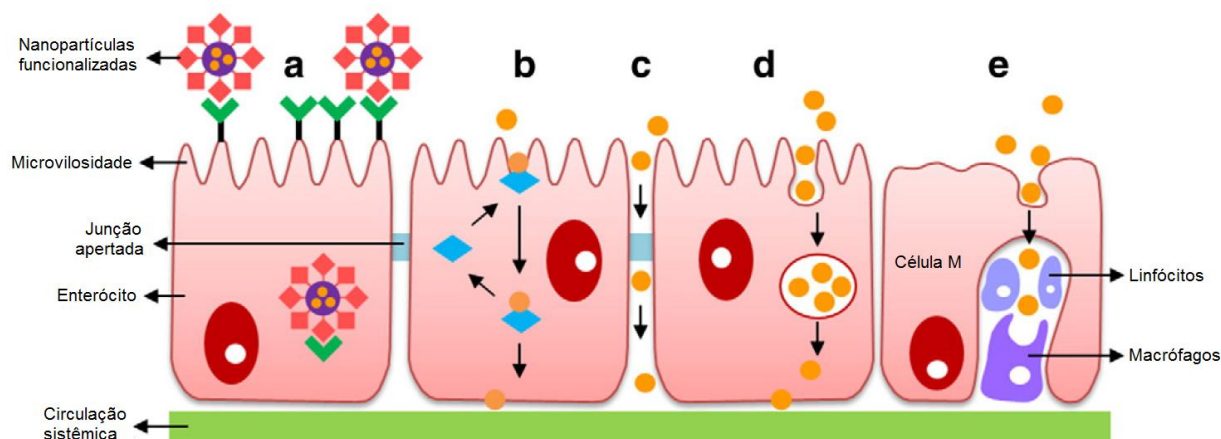


Figura 2 - Resumo esquemático dos mecanismos de transporte. (A) transporte mediado por receptores; (B) transporte mediado por transmissor; (C) transporte paracelular; (D) transporte transcelular e (E) transporte mediado por célula M – fagocitose por células M. Adaptado de Yun, Y (36).

Após o sistema nanoparticulado atingir o sistema circulatório através da mucosa intestinal, outras barreiras devem ser superadas a fim de tornar o carreador eficiente. Ao atingir a corrente sanguínea, o carreador é bombeado pelo coração para o pulmão. Os menores vasos sanguíneos do corpo se localizam nos capilares presentes no pulmão e estes possuem diâmetro compreendido entre 2 e 13 μm , formando a primeira barreira dimensional à passagem de partículas. Devido a deformações dos vasos, partículas menores que 3 μm retornam à circulação (9). Após retornarem ao coração, as partículas são bombeadas aos demais órgãos e, portanto, novos obstáculos. As partículas passam por processos semelhantes àquele existente na membrana intestinal para que possam adentrar nos órgãos. Há uma seleção no diâmetro das partículas a serem absorvidas baseado no tipo de órgão, por exemplo: os rins restringem a entrada de partículas superiores a 60-80 nm, enquanto o fígado e o baço são capazes de filtrar partículas compreendidas entre 100-150 nm e 200 nm, respectivamente, de acordo com a espécie animal em questão. Além disso, há também o processo de fagocitose no qual as partículas, identificadas como corpos estranhos, são englobadas e digeridas pelos fagócitos (tipo de glóbulos brancos oriundos da medula óssea e presentes no sistema circulatório e linfático). A fagocitose consegue eliminar corpos compreendidos entre 100 e 200 nm de diâmetro (9,38,39). Outro fator que culmina na redução do número de partículas que atingem um determinado órgão é sua estabilidade coloidal. Sistemas instáveis tendem a aglomerar

a fim de reduzir a energia de superfície existente. Dessa forma, esses aglomerados de partículas são eliminados pelas barreiras mencionadas anteriormente. A compreensão dos sistemas biológicos permite a obtenção das partículas que superem as barreiras naturais impostas pelo corpo, otimizando a ação terapêutica do tratamento.

1.4. Estratégias de funcionalização de nanoplateformas para liberação controlada

Para a liberação controlada do fármaco, existem dois métodos distintos: o método passivo e o ativo (40). Quando um tumor sólido atinge um certo tamanho, o sistema vascular ao redor não é capaz de suprir o oxigênio necessário para sua proliferação. Consequentemente as células começam a se decompor, provocando o desbalanço de fatores proangiogênicos e antiangiogênicos que resulta no surgimento de novos vasos sanguíneos a partir da vasculatura circundante (41). Este processo conhecido como angiogênese, promove o rápido desenvolvimento de vasos sanguíneos irregulares que levam a formação de fenestrações responsáveis pela permeação de carreadores no interior do tumor (42). Devido ao sistema linfático defeituoso nesta região, a drenagem contínua é minimizada, possibilitando a existência de um ambiente que permite a entrada do carreador contendo o fármaco, a liberação controlada no interior da célula cancerígena e a permanência do fármaco na célula para efeitos terapêuticos (42). Em contraste ao método passivo, na liberação controlada ativa emprega-se ligantes específicos na superfície do carreador que permitem intensificar a absorção do carreador pela célula alvo (40). A presença do ligante é identificada por receptores específicos na superfície de células em órgãos debilitados, tecidos ou células (43). Os ligantes utilizados para reconhecimento podem ser anticorpos, proteínas, açúcares, ácidos nucleicos e vitaminas (40). Dentre os possíveis ligantes que podem ser empregados, as vitaminas apresentam a vantagem por serem indispensáveis uma vez que são necessárias para a sobrevivências das células (44). O ácido fólico é uma vitamina essencial para a divisão celular, e, portanto, se faz particularmente necessário para o crescimento do tumor. Logo, as células onde se localiza o tumor, tendem a superexpressarem receptores folato em sua superfície, a fim de manter o processo multiplicativo. Assim, carreadores funcionalizados com ácido fólico apresentam a vantagem de possuir aplicações para diversos tipos de tumores (44). A seletividade da nanoplateforma modificada com ácido fólico possibilita a atuação como um “cavalo de Tróia”, uma vez que a célula internaliza o nanossistema sem saber que o mesmo carrega em seu interior o medicamento para o tratamento cancerígeno.

Em adição ao uso do ligante ácido fólico como direcionador através do corpo humano, há a aplicação de estímulos variados que podem ser utilizados como formas

de intensificar a eficiência da liberação controlada (45). As formas mais comuns de estímulos são: degradação ativada por pH, liberação ativada por redução química, termossensibilidade e resposta à glicose (46). O copolímero PCL-co-PEGMA pode ser estimulado através da mudança nos valores de pH. Quando em valores de pH menores que 7 (solução acidificada), ocorre a degradação hidrolítica, aumentando a liberação do fármaco incorporado (47). Outro tipo de estímulo que ao ser incorporado ao sistema que enriquece sua versatilidade é a degradação por redução (48). Mais especificamente o emprego de ligações dissulfeto entre a união dos blocos que compõe o copolímero (49,50). Estas ligações são caracterizadas por serem prontamente e rapidamente reversíveis, possuindo um papel importante na manutenção das funções biológicas em células vivas (48). Diversos fatores no corpo podem ser utilizados para estimular o rompimento desta ligação, sendo alguns deles: **(i)** glutathione reduzida (GSH) encontrada nas mitocôndrias, citoplasma, núcleo e no espaço extra celular (48); **(ii)** NADPH (fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida) presente em maior concentração no citoplasma (51); **(iii)** ácido ascórbico (vitamina C) atua como antioxidante natural na redução das ligações dissulfeto (52) e **(iv)** região no corpo com valores baixos de pH, geralmente em regiões periféricas de onde se localiza o tumor (45).

O interior celular possui caráter redutor devido, principalmente, ao elevado nível de GSH presente nas mitocôndrias, citoplasma, núcleo e no espaço extracelular, sendo rapidamente degradada através de enzimas presentes no plasma humano. Estudos apontam para maiores níveis de GSH em células tumorais quando comparadas aos níveis apresentados por células saudáveis. Logo, a presença de grupos químicos susceptíveis às reações de oxirredução com a GSH, especificamente ligações dissulfeto, tornou possível desenvolver novas nanoplateformas de liberação controlada (48). Ao reagir com a enzima, a ligação dissulfeto é rompida em dois grupos terminais sulfidril, enquanto a GSH é oxidada a GSSG.

A união entre os componentes (nanopartícula magnética, ácido fólico e a ligação dissulfeto) traz diversas vantagens à nanoplateforma sintetizada. O ácido fólico possibilitando o direcionamento da mesma a regiões específicas do corpo humano, no qual há o desenvolvimento tumoral. Em segundo plano, permite que a plataforma atue como um “cavalo de Tróia”, interagindo com os receptores folato na superfície das células, facilitando o processo de endocitose nas células. As nanopartículas magnéticas confirmam o acesso da nanoplateforma ao local do câncer,

por meio do imageamento por ressonância magnética. A ligação dissulfeto contribuiu com a intensificação da liberação do fármaco ao ser rompida pela glutathiona reduzida presente no interior das células. Cada componente contribuiu para a obtenção de uma nanoplateforma que atendessem os variados requisitos para que o transporte do fármaco fosse realizado de forma eficiente.

A estrutura química da nanoplateforma híbrida (NP@MPTS@HS-PCL-co-PEGMA-NH@Ácido Fólico) sintetizada no projeto é apresentada na **Figura 3.A** enquanto a estrutura tridimensional é mostrada na **Figura 3.B**.

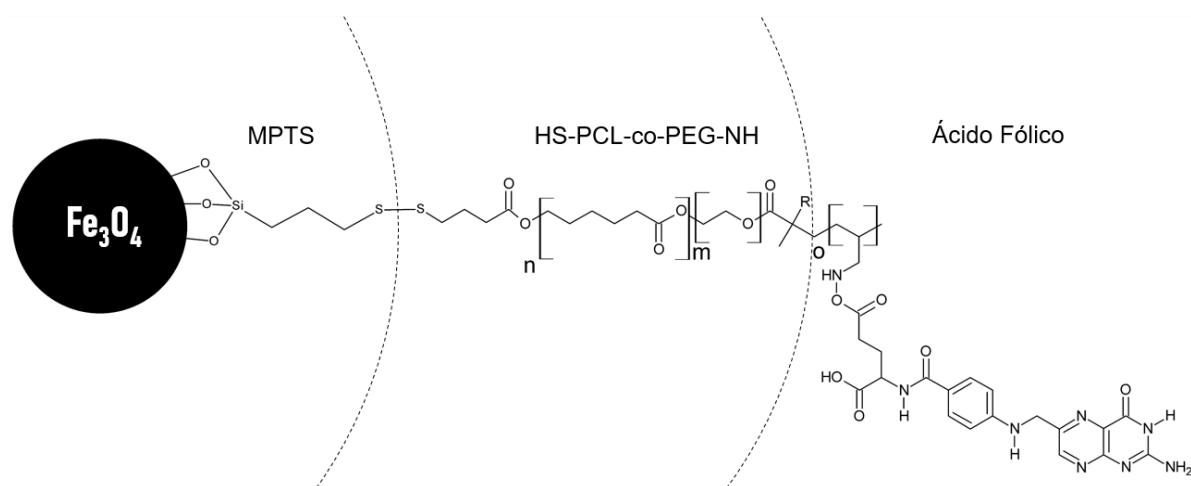


Figura 3.A - Estrutura química da nanopartícula híbrida desenvolvida.

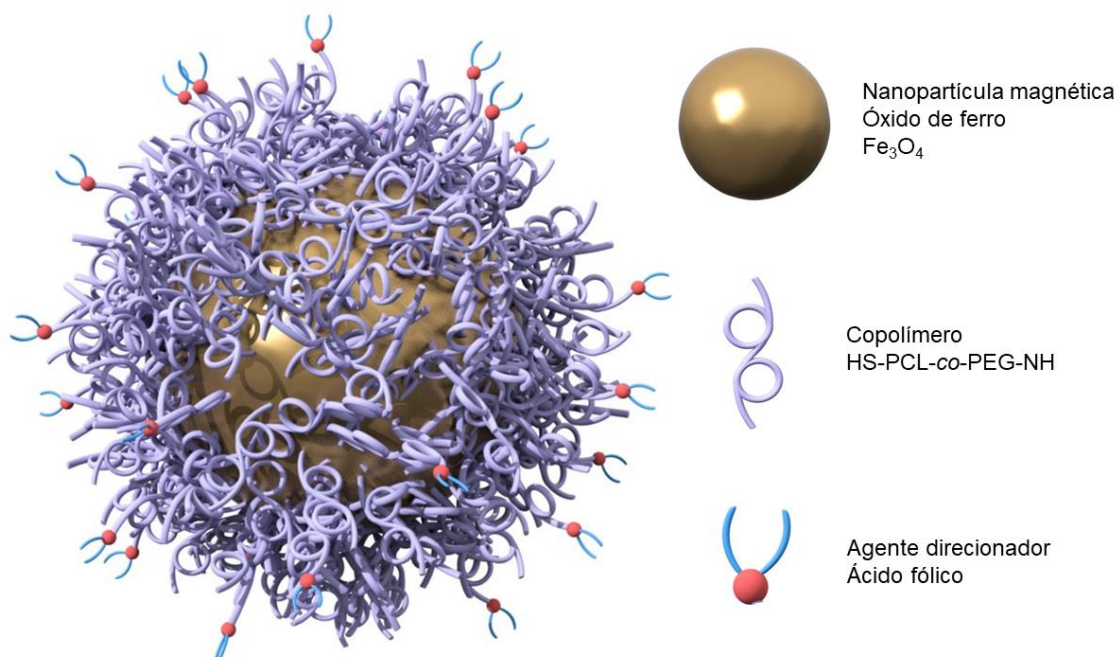


Figura 3.B - Estrutura tridimensional da nanopartícula híbrida desenvolvida.

1.5. Metotrexato aplicado ao tratamento de câncer

Metotrexato (MTX) é amplamente utilizado no tratamento de doenças malignas, incluindo leucemia linfoblástica aguda em crianças, osteoartrite, câncer de cabeça e pescoço, câncer do pulmão, câncer de mama, psoríase entre outros (53). Devido sua similaridade à molécula de ácido fólico, o MTX possui propriedades antimetabólicas e antifolato (54). As estruturas das moléculas ácido fólico e MTX são apresentadas na **Figura 4**.

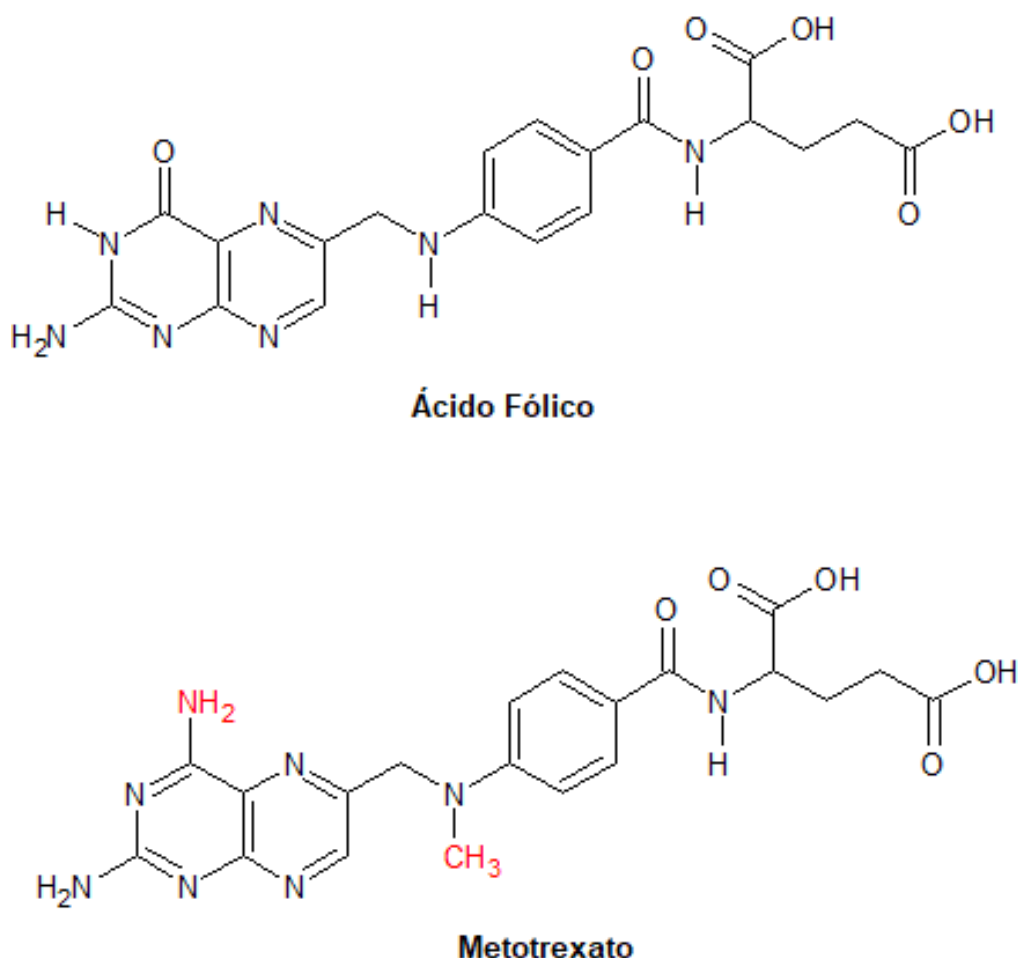
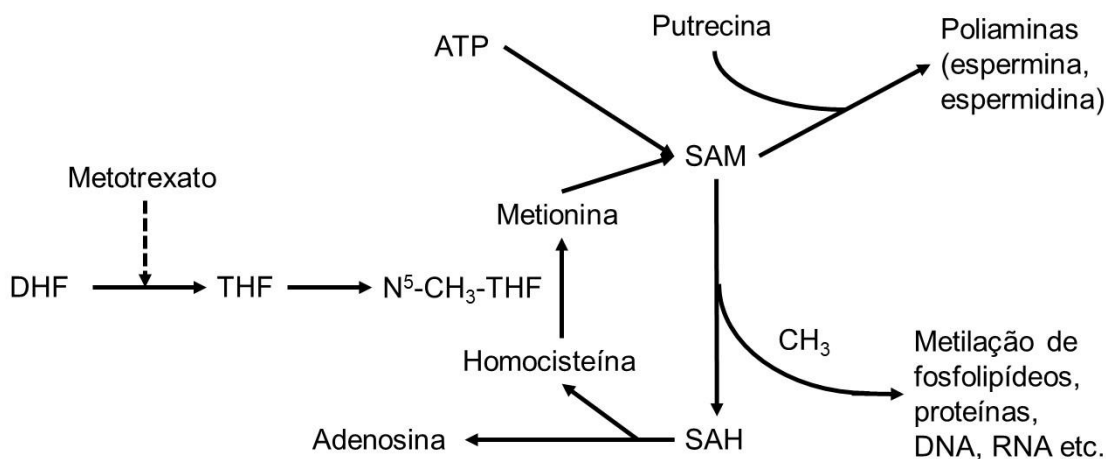


Figura 4 - Estruturas moleculares das moléculas ácido fólico e metotrexato.

As neoplasias são caracterizadas pelo crescimento descontrolado das células. A multiplicação dessas células demanda maior quantidade de nutrientes do que uma célula sadia a fim de manter a reprodução celular. Logo, estas células tendem a expressarem um aumento no número de receptores desses nutrientes em sua superfície. As vitaminas fazem parte dos nutrientes necessários e especificamente o

ácido fólico (vitamina B9) é essencial na manutenção da proliferação celular. Dessa forma, a funcionalização das nanoplateformas com ácido fólico possibilitará o direcionamento das mesmas para regiões do corpo em que há o desenvolvimento do câncer enquanto a presença do MTX no interior da nanoplateforma irá atuar na inibição do metabolismo após o processo de internalização, tornando a plataforma em um “cavalo de Tróia”.

O mecanismo de ação do MTX, apresentado na **Figura 5**, é baseado na inibição do metabolismo do ácido fólico através da competição irreversível aos sítios ativos da dihidrofolato redutase (DHFR) (55). Esta enzima catalisa a conversão do dihidrofolato em tetrahydrofolato (formas reduzidas do ácido fólico) e o MTX impede esta etapa (56). Com esta interrupção, não há as reações de transmetilação nem a formação de poliaminas. As reações de transmetilação são necessárias na síntese das bases nitrogenadas purínicas e pirimidínicas que originariam o DNA e o RNA. Portanto, MTX interfere na multiplicação de células, principalmente as que possuem altas taxas de multiplicação, tais como células cancerosas, células de medula óssea, pele, entre outras (56).



DHF = Dihidrofolato; **THF** = Tetrahydrofolato; **N⁵-CH₃-THF** = N⁵-metil-tetrahydrofolato; **ATP** = Adenosina tri-fosfato; **SAM** = S-Adenosil-metionina; **SAH** = S-Adenosil-homocisteína.

Figura 5 - Esquema do mecanismo de ação do MTX, mostrando a inibição de reações de transmetilação e da formação de poliaminas pelo metotrexato. Adaptado de Cronstein, B. N (56).

Contudo, o uso de doses elevadas de MTX empregadas em quimioterapias e se exposto por períodos longos no corpo humano levam à efeitos colaterais severos

podendo causar desde lesão renal aguda até falência de órgãos em casos extremos (57). Dessa forma, a utilização de um dispositivo de liberação controlada de fármacos reduzirá os efeitos colaterais e permitirá a aplicação de MTX em tratamentos anti-neoplásicos.

5. Conclusões.

A rota sintética proposta para a obtenção da nanoplataforma híbrida composta de um caroço inorgânico (Fe_3O_4 – magnetita) e casca orgânica (HS-PCL-co-PEGMA-NH-AF) foi empregada com sucesso. A síntese das nanopartículas de óxido de ferro e a fase magnetita foram confirmadas através das técnicas FTIR e DRX, respectivamente. A característica magnética foi observada com base no comportamento da dispersão de nanopartículas de magnetita na presença de um ímã de bancada. A síntese do copolímero PCL-co-PEGMA e suas posteriores modificações foram confirmadas através das técnicas FTIR e RMN ^1H enquanto a distribuição da massa molecular das amostras obtidas por GPC confirmaram o aumento na média da massa molecular da cadeia do copolímero com as modificações. A adição da casca copolimérica ao caroço inorgânico foi confirmada principalmente por FTIR e corroborada com as informações obtida através da caracterização coloidal. Foi possível identificar que a casca polimérica compõe aproximadamente 60% da massa da nanopartícula, enquanto o caroço de magnetita e a água adsorvida compõe os 40% restantes.

Foram obtidas nanopartículas com diâmetro hidrodinâmico em torno de 180 nm estáveis em pH fisiológico (7,4) e a ausência do processo acentuado de aglomeração na faixa de pH estudado possibilita sua aplicação em diferentes regiões do corpo humano. As nanopartículas apresentaram elevada eficiência de incorporação, atingindo aproximadamente 96% de eficiência quando utilizado uma proporção em massa matriz:fármaco de 1:1. O perfil de liberação possibilitou identificar que a nanoplataforma é menos ativa em valores de pH próximo 2 (valor de pH encontrado no fluído gástrico estomacal) enquanto a presença da glutatona reduzida intensificou a liberação do metotrexato, atingindo quase 50% de liberação do metotrexato após 96 horas (4 dias) de análise. O modelo de Peppas foi utilizado para elucidar o mecanismo de liberação e sua confiabilidade confirmada pelos valores do coeficiente de correlação ($> 0,98$), mostrando que a liberação do metotrexato depende da relaxação e/ou degradação do copolímero. Os dados apresentados nessa dissertação permitem identificar a nanoplataforma sintetizada como potencial candidata à sistemas de liberação controlada.

7. Referências

- 1 WORLD HEALTH ORGANIZATION. International Agency for Research on Cancer. **World cancer report 2014**. Lyon (FR), 2014. 632 p.
- 2 MINISTÉRIO DA SAÚDE. Instituto Nacional de Cancer José Alencar Gomes da Silva (INCA). **Estimativa 2016**: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro, 2016. 124 p.
- 3 LONGO, D. L. Approach to the patient with cancer. In: LONGO, D. L. et al. (Ed.). **Harrison's principles of internal medicine**. 19th ed. New York: McGraw-Hill Education, 2015. Part. 7, sect. 1, chap. 99, p. 467-475.
- 4 WU, G. et al. Overcoming treatment resistance in cancer: current understanding and tactics. **Cancer Letters**, vol. 387, p. 69-76, 2016.
- 5 LONGLEY, D. B.; JOHNSTON, P. G. Molecular mechanisms of drug resistance. **Journal of Pathology**, vol. 205, p. 275-292, 2005.
- 6 DASARI, S.; TCHOUNWOU, P. B. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. **European Journal of Pharmacology**, vol. 740, p. 364-378, 2014.
- 7 PARK, K. Controlled drug delivery systems: past forward and future back. **Journal of Controlled Release**, vol. 190, p. 3-8, 2014.
- 8 BRAMBILLA, D.; LUCIANI, P.; LEROUX, J-C. Breakthrough discoveries in drug delivery technologies: the next 30 years. **Journal of Controlled Release**, vol. 190, p. 9-14, 2014.
- 9 BERTRAND, N.; LEROUX J-C. The journey of a drug-carrier in the body: An anatomo-physiological perspective. **Journal of Controlled Release**, vol. 161, p. 152-163, 2012.
- 10 HERVAULT, A.; THANH, N. T. K. Magnetic nanoparticle-based therapeutic agents for thermo-chemotherapy treatment of cancer. **Nanoscale**, vol. 6, p. 11553-11573, 2014.
- 11 VURAL, I.; SARISOZEN, C.; OLMEZ, S. S. Chitosan coated furosemide liposomes for improved bioavailability. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, vol. 7, p. 426-430, 2011.
- 12 WANG, X. et al. Synthesis, characterization and liver targeting evaluation of self-assembled hyaluronic acid nanoparticles functionalized with glycyrrhetic acid. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, vol. 96, p. 255-262, 2017.
- 13 DÜNNHAUPT, S. et al. Thiolated nanocarriers for oral delivery of hydrophilic macromolecular drugs. **Carbohydrate Polymers**, vol. 117, p. 577-584, 2015.

14 HENEWEER, C.; GENDY, S. E. M.; PEÑATE-MEDINA, O. Liposomes and inorganic nanoparticles for drug delivery and cancer imaging. **Therapeutic Delivery**, vol. 3, p. 645-656, 2012.

15 LIU, Z. Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, vol. 60, p. 1650-1662, 2008.

16 PANKHURST, Q. A. et al. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 36, p. R167-R181, 2003.

17 LIMA-TENÓRIO, M. K. et al. Magnetic nanoparticles: *in vivo* cancer diagnosis and therapy. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 493, p. 313-327, 2015.

18 HERVAULT, A. et al. Magnetic nanoparticle-based therapeutic agents for thermo-chemotherapy treatment of cancer. **Nanoscale**, v. 6, p. 11553-11573, 2014.

19 KALEDOVÁ, A.; VESELÝ, D.; BRODINOVÁ, J. Anticorrosive spinel-type pigments of the mixed metal oxides compared to metal polyphosphates. **Anti-corrosion Methods and Materials**, v. 51, p. 6-17, 2004.

20 PILLAI, V.; SHAH, D. O. Synthesis of high-coercivity cobalt ferrite particles using water-in-oil microemulsions. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 163, p. 243-248, 1996.

21 SHAFI, K. V. P. M.; GEDANKEN, A. Sonochemical approach to the preparation of barium hexaferrite nanoparticles. **Nanostructured Materials**, v. 12, p. 29-34, 1999.

22 ZHANG, S. et al. Preparation of core shell particles consisting of cobalt ferrite and silica by sol-gel process. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 415, p. 257-260, 2006.

23 KIM, Y. I. et al. Synthesis and characterization of CoFe_2O_4 magnetic nanoparticles prepared by temperature-controlled coprecipitation method. **Physica B: Condensed Matter**, v. 337, p. 42-51, 2003.

24 HUANG, J. et al. Improving the magnetic resonance imaging contrast and detection methods with engineered magnetic nanoparticles. **Theranostics**, v. 2, p. 86-102, 2012.

25 WANG, Y.-X. J. Superparamagnetic iron oxide based MRI contrast agents: current status of clinical application. **Quantitative Imaging in Medicine and Surgery**, v. 1, p. 35-40, 2011.

26 NICOLAS J. et al. Design, functionalization strategies and biomedical applications of targeted biodegradable/biocompatible polymer-based nanocarriers for drug delivery. **Chemical Society Reviews**, vol. 42, p. 1147-1235, 2013.

27 GUPTA, A. K.; GUPTA, M. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. **Biomaterials**, vol. 26, p. 3995-4021, 2005.

- 28 XIONG, X. et al. Amphiphilic block co-polymers: preparation and application in nanodrug and gene delivery. **Acta Biomaterialia**, vol. 8, p. 2017-2033, 2017.
- 29 WEI, X. et al. Biodegradable poly(ϵ -caprolactone)-poly(ethylene glycol) copolymers as drug delivery system. **International Journal of Pharmaceutics**, vol. 381, p. 1-18, 2009.
- 30 WOODRUFF, M. A.; HUTMACHER, D. W. The return of a forgotten polymer - polycaprolactone in the 21st century. **Progress in Polymer Science**, vol. 35, p. 1217-1256, 2010.
- 31 LABET, M.; THIELEMANS, W. Synthesis of polycaprolactone: a review. **Chemical Society Reviews**, vol. 38, p. 3484-3504, 2009.
- 32 KHANNA, A. et al. Molecular modeling studies of poly lactic acid initiation mechanisms. **Journal of Molecular Modeling**, vol. 24, p. 367-374, 2008.
- 33 OTSUKA, H.; NAGASAKI, Y.; KATAOKA, K. PEGylated nanoparticles for biological and pharmaceutical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, vol. 64, p. 246-255, 2012.
- 34 HERRERO, E. P.; ALONSO, M. J.; CSABA, N. Polymer-based oral peptide nanomedicines. **Therapeutic Delivery**, vol. 3, p. 657-668, 2012.
- 35 NAJAFABADI, R. E. et al. Using superparamagnetic iron oxide nanoparticles to enhance bioavailability of quercetin in the intact rat brain. **BMC Pharmacology and Toxicology**, vol. 19, p. 1-12, 2018.
- 36 YUN, Y.; CHO, Y. W.; PARK, K. Nanoparticles for oral delivery: targeted nanoparticles with peptidic ligands for oral protein delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, vol. 65, p. 822-832, 2013.
- 37 RIEUX, A. et al. Nanoparticles as potential oral delivery systems of proteins and vaccines: a mechanistic approach. **Journal of Controlled Release**, vol. 116, p. 1-27, 2006.
- 38 BANIK, B.L.; FATTAHI, P.; et al. Polymeric nanoparticles: the future of nanomedicine. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology**, v. 8, p. 271–299, 2016.
- 39 DIAS, A.M.G.C.; HUSSAIN, A.; et al. A biotechnological perspective on the application of iron oxide magnetic colloids modified with polysaccharides. **Biotechnology Advances**, v. 29, p. 142–55, 2011.
- 40 BERTRAND, N. et al. Cancer nanotechnology: the impact of passive and active targeting in the era of modern cancer biology. **Advanced Drug Delivery Reviews**, vol 66, p. 2-25, 2014.
- 41 JAIN, R. K.; STYLIANOPOULOS, T. Delivering nanomedicine to solid tumors. **Nature Reviews Clinical Oncology**, vol. 7, p. 653-664, 2010.

- 42 BATES, D.O. et al. Regulation of microvascular permeability by vascular endothelial growth factors. **Journal of Anatomy**, vol. 200, p. 581-597, 2002.
- 43 CHENG, Z. et al. Multifunctional nanoparticles: cost versus benefit of adding targeting and imaging capabilities. **Science**, vol. 338, p. 903-910, 2012.
- 44 RUSSELL-JONES, G. et al. Vitamin-mediated targeting as a potential mechanism to increase drug uptake by tumours. **Journal of Inorganic Biochemistry**, vol. 98, p. 1625-1633, 2004.
- 45 DUNN, S. S. et al. Generating better medicines for cancer. **ACS Macro Letters**, vol. 2, p. 393-397, 2013.
- 46 REINEKE, T. M. Stimuli-responsive polymers for biological detection and delivery. **ACS Macro Letters**, vol. 5, p. 14-18, 2016.
- 47 KARAMI, Z. et al. Naproxen conjugated mPEG–PCL micelles for dual triggered drug delivery. **Materials Science and Engineering: C**, vol. 61, p. 665-673, 2016.
- 48 MENG, F.; HENNINK, W. E.; ZHONG, Z. Reduction-sensitive polymers and bioconjugates for biomedical applications. **Biomaterials**, vol. 30, p. 2180-2198, 2009.
- 49 HUANG, H. et al. Fabrication and reduction-sensitive behavior of polyion complex nano-micelles based on PEG-conjugated polymer containing disulfide bonds as a potential carrier of anti-tumor paclitaxel. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, vol. 110, p. 59-65, 2013.
- 50 SUN H. et al. Biodegradable micelles with sheddable poly(ethylene glycol) shells for triggered intracellular release of doxorubicin. **Biomaterials**, vol. 30, p. 6358-6366, 2009.
- 51 KRUGER, N. J.; SCHAEWEN, A. V. The oxidative pentose phosphate pathway: structure and organisation. **Current Opinion in Plant Biology**, vol. 6, p. 236-246, 2003.
- 52 ZHU, Y. et al. Exogenous vitamin C boosts the antitumor efficacy of paclitaxel containing reduction-sensitive shell-sheddable micelles in vivo. **Journal of Controlled Release**, vol. 250, p. 9-19, 2017.
- 53 KHAN, Z. A.; TRIPATHI, R.; MISHRA, B. Methotrexate: a detailed review on drug delivery and clinical aspects. **Expert Opinion on Drug Delivery**, vol. 9, p. 151-169, 2012.
- 54 ZHU, L. et al. Targeted delivery of methotrexate to skeletal muscular tissue by thermosensitive magnetoliposomes. **International Journal of Pharmaceutics**, vol. 370, p. 136-143, 2009.

55 WONG, P.; CHOI, S. Mechanisms and implications of dual-acting methotrexate in folate-targeted nanotherapeutic delivery. **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 16, p. 1772-1790, 2015.

56 CRONSTEIN, B. N. Methotrexate and its mechanism of action. **Arthritis & Rheumatology**, vol. 39, p. 1951-1960, 1996.

57 HOWARD S. C. et al. Preventing and managing toxicities of high-dose methotrexate. **The Oncologist**, vol. 21, p. 1-12, 2016.

58 MASSART, R. Preparation of aqueous magnetic liquids in alkaline and acid media. **IEE Transactions on Magnetics**, vol. 17, p. 1247-1248, 1981.

59 KRAUS, A. et al. Synthesis of MPTS-modified cobalt ferrite nanoparticles and their adsorption properties in relation to Au (III). **Journal of Colloid and Interface Science**, vol. 338, p. 359-365, 2009.

60 SOUZA, M. A. et al. Magnetic nanoparticles surface modified with biodegradable polymers for controlled methotrexate delivery in cancer therapy. **Journal of Nanopharmaceutics and Drug Delivery**, v. 3, p. 77-84, 2016.

61 KANAZAWA, T. et al. Development of cell-penetrating peptide-modified mPEG-PCL deblock copolymeric nanoparticles for systemic gene delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, vol. 396, p. 229-238, 2010.

62 KIM, E. et al. Synthesis of gold nanorod-embedded polymeric nanoparticles by a nanoprecipitation method for use as photothermal agents. **Nanotechnology**, vol. 20, p. 1-7, 2009.

63 MASTEROVA, M. N. et al. Polymerization of allylamines in the presence of protonic acid. **Polymer Science U.S.S.R.**, vol. 18, p. 2234-2242, 1976.

64 ZUBOV, V. P. et al. Reactivity of allyl monomers in radical polymerization. **Journal of Macromolecules Science: Part A – Chemistry**, vol. 13, p. 111-131, 1979.

65 POHL, K.; RODRIGUEZ, F. Adiabatic polymerization of acrylamide using a persulfate-bisulfite redox couple. **Journal of Applied Polymer Science**, vol. 26, p. 611-618, 1980.

66 LIN, H-R. Solution polymerization of acrylamide using potassium persulfate as an initiator: Kinetics studies, temperature and pH dependence. **European Polymer Journal**, vol. 37, p. 1507-1510, 2001.

67 BEYLERIAN, N. M. et al. Kinetics and mechanism of potassium persulfate decomposition in aqueous solutions studied by a gasometric method. **Macromolecular Chemistry and Physics**, vol. 203, p. 212-218, 2002.

68 ZHAO, D. et al. Effect and mechanism of persulfate activated by different methods for PAHs removal in soil. **Journal of Hazardous Materials**, vol. 254-255, p. 228-235, 2013.

69 AKAL, Z. U.; ALPSOY, L.; BAYKAL, A. Superparamagnetic iron oxide conjugated with folic acid and carboxylated quercetin for chemotherapy applications. **Ceramics International**, vol. 42, p. 9065-9072, 2016.

70 LI, J. et al. Polyethyleneimine-mediated synthesis of folic acid-targeted iron oxide nanoparticles for *in vivo* tumor MR imaging. **Biomaterials**, vol. 34, p. 8382-8392, 2013.

71 SHAH, S. A. et al. PEG-coated folic acid-modified superparamagnetic MnFe_2O_4 nanoparticles for hyperthermia therapy and drug delivery. **Materials Chemistry and Physics**, vol. 138, p. 703-708, 2013.

72 ZHANG, Z. Conjugating folic acid to gold nanoparticles through glutathione for targeting and detecting cancer cells. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, vol. 18, p. 5528-5534, 2010.

73 KRAIS, A. et al. Targeted uptake of folic acid-functionalized iron oxide nanoparticles by ovarian cancer cells in the presence but not in the absence of serum. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, vol. 10, p. 1421-1431, 2014.

74 SADHASIVAM, A. et al. Carbon encapsulated iron oxide nanoparticles surface engineered with polyethylene glycol-folic acid to induce selective hyperthermia in folate over expressed cancer cells. **International Journal of Pharmaceutics**, vol. 480, p. 8-14, 2015.

75 WANG, S.; LOW, P. S. Folate-mediated targeting of antineoplastic drugs, imaging agents, and nucleic acids to cancer cells. **Journal of Controlled Release**, vol. 53, p. 39-48, 1998.

76 BERNKOP-SCHNURCH, A.; KAST, C. E. Thiolated polymers – thiomers: development and in vitro evaluation of chitosan-thioglycolic acid conjugates. **Biomaterials**, vol. 22, p. 2345-2352, 2001.

77 BERNKOP-SCHNURCH, A. et al. In situ gelling properties of chitosan-thioglycolic acid conjugate in the presence of oxidizing agents. **Biomaterials**, vol. 30, p. 6151-6157, 2009.

78 SEO, D.-H. et al. Methotrexate-incorporated polymeric nanoparticles of methoxy poly(ethylene glycol)-grafted chitosan. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, vol. 69, p. 157-163, 2009.

79 DENG, H. et al. PEG-*b*-PCL copolymer micelles with the ability of pH-controlled negative-to-positive charge reversal for intracellular delivery of doxorubicin. **Biomacromolecules**, vol. 15, p. 4281-4292, 2014.

80 CHAN, K. L. A.; HAMMOND, S. V.; KAZARIAN, S. G. Applications of attenuated total reflection infrared spectroscopy imaging to pharmaceutical formulations. **Analytical Chemistry**, vol. 75, p. 2140-2146, 2003.

81 MALVERN INSTRUMENTS. **Zetasizer nano series user manual**. Worcester-shire, 2004. 269 p. Disponível em: <<http://www.malvern.com/en/>>. Acesso em: 16 jun. 2018.

82 DANAFAH, H. et al. Biodegradable m-PEG/PCL core-shell micelles: preparation and characterization as a sustained release formulation for curcumin. **Advanced pharmaceutical bulletin**, vol. 4, p. 501-510, 2014.

83 GONG, C. et al. Synthesis and characterization of PEG-PCL-PEG thermosensitive hydrogel. **International Journal of Pharmaceutics**, vol. 365, p. 89-99, 2009.

84 COUNG, N-V. et al. Synthesis and characterization of PEG-PCL-PEG triblock copolymers as carriers of doxorubicin for the treatment of breast cancer. **Journal of Applied Polymer Science**, vol. 117, p. 3694-3703, 2010.

85 ZHOU, S.; DENG, X.; YANG, H. Biodegradable poly(ϵ -caprolactone)-poly(ethylene glycol) block copolymers: characterization and their use as drug carriers for a controlled delivery system. **Biomaterials**, vol. 24, p. 3563-3570, 2003.

86 BEGUM, R.; MATSUURA, H. Conformational properties of short poly(oxyethylene) chains in water studied by IR spectroscopy. **Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions**, vol. 93, p. 3839-3848, 1997.

87 PLYLAHAN, N. et al. Enhanced electrochemical performance of Lithium-ion batteries by conformal coating of polymer electrolyte. **Nanoscale Research Letters**, vol. 9, p. 1-8, 2014.

88 KHOEE, S.; BAGHERI, Y.; HASHEMI, A. Composition controlled synthesis of PCL-PEG Janus nanoparticles: magnetite nanoparticles prepared from one-pot photo-click reaction. **Nanoscale**, vol. 7, p. 4134-4148, 2015.

89 CARROT, G. et al. Two general methods for the synthesis of thiol-functional polycaprolactones. **Macromolecules**, vol. 32, p. 5264-5269, 1999.

90 SUN, H. et al. Biodegradable micelles with sheddable poly(ethylene glycol) shells for triggered intracellular release of doxorubicin. **Biomaterials**, vol. 30, p. 6358-6366, 2009.

91 CUI, C. et al. Reduction-sensitive micelles with sheddable PEG shells self-assembled from a Y-shaped amphiphilic polymer for intracellular doxorubicin release. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, vol. 129, p. 137-145, 2015.

92 ZHANG, H. et al. Redox-sensitive micelles assembled from amphiphilic mPEG-PCL-SS-DTX conjugates for the delivery of docetaxel. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, vol. 142, p. 89-97, 2016.

- 93 YANG, X. et al. Folate-functionalized polymeric micelles for tumor targeted delivery of a potent multidrug-resistance modulator FG020326. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, vol. 86, p. 48-60, 2007.
- 94 REZAEI, S. J. T. et al. Folate-decorated thermoresponsive micelles based on star-shaped amphiphilic block copolymers for efficient intracellular release of anticancer drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, vol. 437, p. 70-79, 2012.
- 95 LI, X.; MCTAGGART, M.; MALARDIER-JUGROOT, C. Synthesis and characterization of a pH responsive folic acid functionalized polymeric drug delivery system. **Biophysical Chemistry**, vol. 214-215, p. 17-26, 2016.
- 96 ZHANG, S. et al Thiol modified $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ as a robust, high effective, and recycling magnetic sorbent for mercury removal. **Chemical Engineering Journal**, vol. 226, p. 30-38, 2013.
- 97 WEBSTER, F. X.; SILVERSTEIN, R. M. Infrared Spectroscopy. In: _____. **Spectroscopy identification of organic compounds**. 6th ed. New York: John Wiley & Sons, 1998. Cap. 3, p. 71-143.
- 98 ZHANG, J. et al. On the chemical synthesis and drug delivery response of folate receptor-activated, polyethylene glycol-functionalized magnetite nanoparticles. **Acta Biomaterialia**, vol. 4, p. 40-48, 2008.
- 99 BOGDANOV, B. et al. Synthesis and thermal properties of poly(ethylene glycol)-poly(ϵ -caprolactone) copolymers. **Polymer**, vol. 39, p. 1631-1636, 1998.
- 100 SUN, Z-X. et al. Surface characteristics of magnetite in aqueous suspension. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 197, p. 151-159, 1998.
- 101 BERG, J. M. et al. The relationship between pH and zeta potential of ~ 30 nm metal oxide nanoparticle suspensions relevant to *in vitro* toxicological evaluations. **Nanotoxicology**, v. 3, p. 276-283, 2009.
- 102 BINI, R. A. et al. Synthesis and functionalization of magnetite nanoparticles with different amino-functional alkoxysilanes. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, vol. 324, p. 534-539, 2012.
- 103 LAURENT, S. et al. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. **Chemical Reviews**, vol. 108, p. 2064-2110, 2008.
- 104 PARKS, G. A. The isoelectric points of solid oxides, solid hydroxides, and aqueous hydroxo complex systems. **Chemical Reviews**, vol. 65, p. 177-198, 1965.
- 105 HAKKINEN, H. The gold-sulfur interface at the nanoscale. **Nature Chemistry**, vol. 4, p. 443-455, 2012.

- 106 VIALI, W. R. et al. PEGylation of SPIONs by polycondensation reactions: a new strategy to improve colloidal stability in biological media. **Journal of Nanoparticle Research**, vol. 15, p. 1-14, 2013.
- 107 SHAW, D. J. **Introdução à química dos coloides e de superfícies**. Trad.: MAAR, J. H. 1^a ed. São Paulo: Editora Blucher, 1975. 185 p.
- 108 CORNEL, R. M.; SCHWERTMANN, U. Surface chemistry and colloidal stability. In: CORNEL, R. M.; SCHWERTMANN, U. **Iron oxides**: structure, properties, reactions, occurrences and uses. 2nd ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2004. Cap. 10, p. 221-252.
- 109 WU, Z. et al. Preparation of uniform Au@SiO₂ particles by direct silica coating on citrate-capped Au nanoparticles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, vol. 392, p. 220-224, 2011.
- 110 ORTEGAS, A. L.; MENA, S.; ESTRELA, J. M. Glutathione in câncer cell death. **Cancers**, vol. 3, p. 1285-1310, 2011.
- 111 BALENDIRAN, G. K.; DABUR, R.; FRASER, D. The role of glutathione in cancer. **Cell Biochemistry and Function**, vol. 22, p. 343-352, 2004.
- 112 KARAMI, Z. et al. Naproxen conjugated mPEG-PCL micelles for dual triggered drug delivery. **Materials Science and Engineering: C**, v. 61, p. 665-673, 2016.
- 113 SCIENCES, H. et al. Kinetic Modeling on Drug Release from Controlled Drug Delivery System. **Acta Polonica Pharmaceutica - Drug Research**, v. 67, n. 3, p. 217-223, 2010.
- 114 RITGER, P. L.; PEPPAS, N. A. A simple equation for description of solute release I. Fickian and non-fickian release from non-swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs. **Journal of Controlled Release**, v. 5, p. 23-36, 1987.