

**UFSCar – UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CCET – CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
DQ – DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

Trabalho de Conclusão de Curso

Guilherme Coury Ribeiro

**NANOPARTÍCULAS PARA O TRATAMENTO DO
CÂNCER CERVICAL**

SÃO CARLOS

2026

Guilherme Coury Ribeiro

**NANOPARTÍCULAS PARA O TRATAMENTO DO
CÂNCER CERVICAL**

Trabalho de conclusão de Curso
apresentado ao Departamento de
Química da Universidade Federal de
São Carlos, para obtenção do título
de Bacharel em Química
Tecnológica
Orientadora: Profa. Dra. Ana Paula de
Lima Batista
Coorientadora: Dra. Ana Elisa
Tognoli Leite

SÃO CARLOS

2026

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, eu gostaria de agradecer aos meus pais, Kênia e Nivaldo, por terem sempre me incentivado e me apoiado em todas as minhas escolhas, terem sido colo em todos os momentos de dificuldade e por terem comemorado cada uma das minhas vitórias com tanta felicidade. Obrigado pelo amor incondicional, pelos sacrifícios silenciosos e pela confiança cega no meu potencial. Este trabalho não é apenas o resultado do meu esforço individual, mas sim a colheita de tudo o que vocês plantaram em mim ao longo de uma vida inteira. Dedico esta conquista a vocês, com todo o meu amor e admiração.

Agradeço também à minha irmã, Ana Karla, por ter sido amor, por ter me mostrado o que é força, resiliência e responsabilidade de uma forma tão cuidadosa. Você é a minha maior inspiração.

À minha orientadora, Ana Paula de Lima Batista, à minha coorientadora, Ana Elisa Tognoli Leite, e às integrantes da banca, Maria Julia Bistaffa e Ana Beatriz Santos da Silva, sou grato por terem aceitado o desafio de conduzir este trabalho e por me moldarem profissionalmente. Agradeço imensamente pela paciência, pelas leituras minuciosas, pelas críticas construtivas e pela sabedoria compartilhada em cada reunião. Vocês me ensinaram a olhar para a ciência com rigor, curiosidade e ética. Obrigado pelo privilégio de ter aprendido com profissionais tão admiráveis, cuja dedicação à pesquisa servirá de inspiração para a minha trajetória.

Agradeço ao laboratório de pesquisa GNano, do professor Valtencir Zucolotto, espaço que me acolheu há três anos e mudou o rumo da minha formação acadêmica. Agradeço ao professor, aos colegas, técnicos, funcionários e pesquisadores com quem compartilhei a rotina, as discussões científicas e os desafios diários da pesquisa. Integrar este laboratório foi o verdadeiro divisor de águas na minha graduação, despertando em mim a paixão por esta área e permitindo que eu me especializasse e crescesse de uma forma que eu jamais imaginaria. Obrigado por tornarem a ciência um lugar de tanto carinho e cuidado.

À minha família, em toda a sua extensão, pelo apoio constante e por compreenderem as minhas ausências e os momentos de cansaço durante estes anos de dedicação acadêmica. Obrigado por estarem sempre presentes nas celebrações e por oferecerem palavras de incentivo nos dias mais difíceis. O carinho, a torcida e a união de vocês foram fundamentais na minha trajetória.

Aos meus amigos e a todas as pessoas que cruzaram a minha vida durante este ciclo e deixaram uma marca, o meu muito obrigado. Ao apartamento 54 e a todos que passaram por ele, àqueles que estiveram comigo no dia a dia, nas madrugadas de estudo, nos cafés intermináveis, nas risadas, nos desabafos e nas comemorações, vocês foram família. Obrigado também a cada pessoa que, mesmo de passagem, fez a diferença na minha caminhada, oferecendo um sorriso, um conselho ou uma mão amiga quando eu mais precisei. A presença de vocês tornou os dias mais leves e transformou a jornada universitária em um lugar de encontros verdadeiros e afetos reais.

Por fim, agradeço à arte, sei que sem ela que me acompanha e me molda desde os meus 11 anos de idade eu não teria trilhado o caminho que trilhei. Em meio a prazos, teorias infinitas e exigências da academia, o movimento sempre foi o meu refúgio mais sincero, a minha cura e a minha forma de me traduzir no mundo. Agradeço a todos os meus professores, que me ensinaram a ter

resiliência, disciplina e entrega sem perder a sensibilidade, preparando meu corpo e minha mente para persistir diante de qualquer obstáculo. Aos grandes amigos que a dança me proporcionou, por dividirem tanto comigo, horas extensas de ensaios, as risadas nos corredores, a amizade que se estendeu para fora das salas de aula, vocês também foram casa, obrigado.

RESUMO

O câncer de colo de útero representa um problema de saúde pública no Brasil caracterizado frequentemente por diagnósticos em estágios avançados que comprometem o prognóstico clínico e elevam os custos do sistema público de saúde. O tratamento para carcinomas avançados pode envolver a administração sistêmica da cisplatina, um quimioterápico com ótima mecânica farmacológica, porém que apresenta índice terapêutico limitado pela ocorrência de efeitos colaterais sistêmicos graves e pelo desenvolvimento de resistência tumoral. Diante desse cenário, a nanomedicina tem estudado maneiras de otimizar o direcionamento do fármaco especificamente para o microambiente tumoral. Este trabalho introduz os conceitos da nanomedicina e apresenta uma análise comparativa de três plataformas nanométricas documentadas na literatura científica para a entrega de cisplatina em linhagens de carcinoma cervical HeLa. Os trabalhos envolvem lipossomas peguillados direcionados por estrona, nanopartículas poliméricas de PLGA em regime de co-entrega, e nanopartículas de sílica mesoporosa funcionalizadas com grupos carboxila. Os resultados revelaram que a natureza química de cada matriz traça perfis biológicos e físico-químicos distintos. Os lipossomas ES-SSL-DDP apresentaram a maior potência citotóxica in vitro, aumentando em 169,6 vezes na eficácia em comparação ao fármaco livre, impulsionados pelo direcionamento ativo de estrona via receptores de estrogênio nas células HeLa. Por sua vez, as MSNs-C demonstraram superioridade quantitativa nos parâmetros de carregamento eficiência de encapsulamento aproximada de 63,7% e capacidade de carga de 11,3%. Além disso exibiram liberação altamente responsiva ao pH mais ácido, garantindo a proteção do fármaco sob condições fisiológicas neutras. As nanopartículas de PLGA viabilizaram um efeito terapêutico sinérgico na indução de apoptose quando combinadas à silibinina, embora careçam de dados de captação celular direta. Sob o aspecto da estabilidade coloidal, a nanopartícula polimérica de PLGA exibiu o maior módulo de potencial zeta negativo de -59 mV. Em suma, os nanocarreadores analisados evidenciam um potencial notável para superar as limitações da quimioterapia clássica.

Palavras-chave: câncer cervical, cisplatina, nanopartícula, PLGA, sílica mesoporosa, lipossoma.

ABSTRACT

Cervical cancer represents a public health problem in Brazil, frequently characterized by diagnoses in advanced stages that compromise the clinical prognosis and raise the costs of the public healthcare system. Treatment for advanced carcinomas may involve the systemic administration of cisplatin, a chemotherapeutic agent with excellent pharmacological mechanics, whose therapeutic index is, however, limited by the occurrence of severe systemic side effects and the development of tumor resistance. Faced with this scenario, nanomedicine has studied ways to optimize drug targeting specifically to the tumor microenvironment. This work introduces the concepts of nanomedicine and presents a comparative analysis of three nanoplatforms documented in the scientific literature for the delivery of cisplatin in HeLa cervical carcinoma cell lines. The studied works involve estrone-targeted PEGylated liposomes, polymeric PLGA nanoparticles in a co-delivery regimen, and mesoporous silica nanoparticles functionalized with carboxylic groups. The results revealed that the chemical nature of each matrix outlines distinct biological and physicochemical profiles. ES-SSL-DDP liposomes showed the highest in vitro cytotoxic potency, increasing efficacy by 169.6-fold compared to the free drug, driven by active targeting of estrone via estrogen receptors in HeLa cells. In turn, MSNs-C demonstrated quantitative superiority in loading parameters, with an approximate encapsulation efficiency of 63.7% and a loading capacity of 11.3%. In addition, they exhibited highly responsive release at more acidic pH, ensuring drug protection under neutral physiological conditions. PLGA nanoparticles enabled a synergistic therapeutic effect in inducing apoptosis when combined with silibinin, although they lack direct cellular uptake data. Regarding colloidal stability, the PLGA polymeric nanoparticle exhibited the highest negative zeta potential module of -59 mV. In summary, the analyzed nanocarriers demonstrate remarkable potential to overcome the limitations of classical chemotherapy.

Keywords: cervical cancer, cisplatin, nanoparticle, PLGA, mesoporous silica, liposome.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:Representação estrutural da cisplatina (esquerda) para a transplatina(direita).	4
Figura 2:Tipos de nanopartícula A: parecida com vírus, B: micelar, C: lipossomal, D:nanotubo, E: nanoesfera, F:polimérica, G: dendrimética, H: peptídica, I: nanocristal, J: metálica, K: sílica, L: a base de carbono.	10
Figura 3:Esquema dos diferentes tipos de funcionalização de superfície.	155
Figura 4:Imagens de nanopartícula de sílica mesoporosa em (a) MEV e (B) TEM.	211
Figura 5:Distribuição de diâmetro hidrodinâmico de nanopartículas de sílica mesoporosa contendo 250mL(azul), 350mL(vermelho) e 450mL(preto) de água destilada na sua formulação.	222
Figura 6: Gráfico da isoterma de fisiossorção de nitrogênio para síntese MSNs-C350.	244
Figura 7:Esquema do teste do MTT para avaliação da citotoxicidade.	266

LISTA DE TABELAS

Tabela1. Parâmetros para análise comparativa entre as sínteses diferentes.	29
--	----

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

²⁹Si-RMN: Ressonância Magnética Nuclear de Silício-29

ANOVA: Análise de Variância

AuNPs: Nanopartículas de Ouro

BET: Método de determinação de área superficial Brunauer-Emmett-Teller

BJH: Método de distribuição de diâmetro de poros Barrett-Joyner-Halenda

CDDP / DDP: Cisplatina

CES: Sal sódico de carboxietilsilanetriol

CLNs: Carreadores Lipídicos Nanoestruturados

CTAB: Brometo de cetiltrimetilamônio

CTR1: Transportador de Cobre 1

DLS: Espalhamento de Luz Dinâmico

DLVO: Teoria coloidal de Derjaguin, Landau, Verwey e Overbeek

DMSO: Dimetilsulfóxido

DNA: Ácido Desoxirribonucleico

DRX: Difração de Raios-X

E2F: Fator de transcrição celular E2F

E6AP: Proteína associada à oncoproteína viral E6

EPR: Efeito de Permeabilidade e Retenção Aprimorados

ER: Receptor de Estrogênio

ES-SSL-DDP: Lipossomas peguados direcionados por estrona carregados com cisplatina

FT-IR: Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier

GO: Óxido de Grafeno

GONPs: Nanopartículas de Óxido de Grafeno

HeLa: Linhagem celular de adenocarcinoma de colo uterino humano Henrietta Lacks

HPLC: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

HPV: Papilomavírus Humano

IC50: Concentração inibidora de 50%

ICP-OES: Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente

INCA: Instituto Nacional de Câncer

L-DDP: Lipossomas convencionais carregados com cisplatina

MAS-RMN: Ressonância Magnética Nuclear com Rotação no Ângulo Mágico

MEV: Microscopia Eletrônica de Varredura

MSNs: Nanopartículas de Sílica Mesoporosa

MSNs-C: Nanopartículas de Sílica Mesoporosa Carboxiladas

MTT: Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio MV

NaOH: Hidróxido de Sódio

NH₄OH: Hidróxido de Amônio

NIR: Infravermelho próximo

p53: Proteína Supressora Tumoral p53

PBS: Tampão Fosfato Salino

PDI: Índice de Polidispersidade

PEG: Polietilenoglicol

PLGA: Copolímero de ácido poli(lático-co-glicólico)

PNI: Programa Nacional de Imunizações

pRb: Proteína do Retinoblastoma

PVA: Álcool Polivinílico

RMN: Ressonância Magnética Nuclear

RNA: Ácido Ribonucleico

SLNs: Nanopartículas Lipídicas Sólidas

SPR: Ressonância Plasmônica de Superfície

SSL-DDP: Lipossomas peguizados carregados com cisplatina

SUS: Sistema Único de Saúde

TEOS: Tetraetilortosilicato

TEM: Microscopia Eletrônica de Transmissão

Tg: Temperatura de Transição Vítrea

THF: Tetraidrofurano

Tm: Temperatura de Transição de Fase

UV-Vis: Espectroscopia de Absorção no Ultravioleta-Visível

VUV: Ultravioleta a Vácuo

W1/O: Emulsão primária água em óleo

W1/O/W2: Emulsão dupla água em óleo em água

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO.....	1
2. CONTEXTUALIZAÇÃO TEÓRICA.....	2
2.1. CÂNCER CERVICAL, HPV E A ONCOGÊNESE.....	2
2.2. CISPLATINA: FUNDAMENTOS FARMACOLÓGICOS, APLICAÇÃO CLÍNICA E LIMITAÇÕES.....	4
2.3. NANOPARTÍCULAS.....	7
2.4 PLATAFORMAS DE ENTREGA DE FÁRMACOS.....	9
2.5. NANOMATERIAIS PARA ENTREGA DIRECIONADA DE FÁRMACOS.....	10
2.5.1. Nanopartículas orgânicas.....	10
2.5.2. Nanopartículas inorgânicas.....	12
2.6 Estratégias de alvejamento.....	13
2.6.1. Alvejamento indireto.....	13
2.6.2. Alvejamento direto.....	14
2.6.3. Métodos de síntese.....	15
2.6.3.1 O Método de hidratação de filme fino (Método de Bangham)	15
2.6.3.2 O Método de dupla emulsão para nanopartículas de PLGA.....	17
2.6.3.3 Método Templado por Surfactante para Sílica Mesoporosa.....	17
2.7 MÉTODOS AVALIATIVOS DOS SISTEMAS NANOPARTICULADOS.....	19
2.7.1. Caracterizações.....	20
2.7.1.1 Microscopias Eletrônicas.....	20
2.7.1.2 Espalhamento de luz dinâmico (DLS)	21
2.7.1.3. Espectroscopia de absorção no ultravioleta-visível(UV-Vis)	22
2.7.1.4. Espectroscopia de infravermelho por transformada de fourier (FT-IR).23	

2.7.1.5. Difração de raios-X (DRX)	23
2.7.1.6. Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)	23
2.7.1.7. Fisiossorção de nitrogênio.....	23
2.7.1.8. Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES)	24
2.7.1.9. Ressonância magnética nuclear de estado sólido (²⁹ Si-RMN)	25
2.7.2. Estudos in vitro.....	25
2.7.2.1. Ensaio de viabilidade celular por MTT.....	25
2.7.2.2. Estudos de liberação por diálise.....	26
2.7.2.3. Internalização celular das nanopartículas.....	27
3. ANÁLISE COMPARATIVA DE ESTUDOS RELEVANTES DA LITERATURA....	27
3.1. ANÁLISE DIMENSIONAL E DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO.....	29
3.2. CINÉTICA DE LIBERAÇÃO E RESPONSIVIDADE AO MICROAMBIENTE TUMORAL.....	30
3.3. DINÂMICA DE CAPTAÇÃO CELULAR E EFICÁCIA ANTITUMORAL IN VITRO.....	31
3.4. ESTABILIDADE DE CARGA SUPERFICIAL	34
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	35
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38

1.INTRODUÇÃO

Dados coletados pelo Instituto Nacional de Câncer (INCA) indicaram que o câncer de colo de útero no Brasil tem demonstrado um panorama de curva crescente registrando por volta de 19,3 mil novos casos anuais da doença ao longo dos próximos três anos.^{1,2,3} Esse valor epidemiológico representa um aumento significativo de aproximadamente 14% em comparação aos estudos de monitoramento realizados anteriormente pelo mesmo instituto, cujas previsões encontravam-se em pouco mais de 17 mil ocorrências por ano.^{2,3}

Dado os grandes números de casos estimados, o governo brasileiro tem adotado métodos como campanhas de conscientização e disponibilização de vacinas, que são oferecidas pelo Programa Nacional de Imunizações (PNI) para imunização primária.^{1,4} A vacina disponibilizada pelo sistema único de saúde (SUS) é uma quadrivalente que previne a infecção pelos tipos de HPV 6, 11, 16 e 18, sendo os dois últimos responsáveis por mais de 70% dos casos de câncer do colo do útero.^{4,5}

Além da disponibilização dessas vacinas, o SUS também possui programas de rastreamento para detecção precoce de lesões precursoras e desde agosto de 2025 tem incorporado gradualmente o teste molecular de DNA-HPV como método de rastreamento para mulheres de 25 a 64 anos como alternativa menos invasiva.^{6,7}

Analizando estes números de forma mais profunda e a partir de um recorte voltado para as desigualdades socioeconômicas regionais e das falhas que ocorrem estruturalmente nos programas de rastreamento preventivo no país, regiões destacadas por menores índices de desenvolvimento humano e maior vulnerabilidade assistencial, como o Norte e Nordeste, apresentaram um panorama de maior severidade.³ Conforme apontam os levantamentos do INCA, nas regiões Norte e Nordeste, as taxas de incidência atingem marcas de 20,48 e 17,59 casos a cada 100 mil mulheres, respectivamente, o que classifica o carcinoma cervical como o segundo tipo de neoplasia maligna mais frequente na população feminina local.³

A elevada taxa de mortalidade e o prognóstico desfavorável associados a essa doença no Brasil estão diretamente relacionados ao diagnóstico tardio, em que aproximadamente 60% dos casos são diagnosticados em estágios avançados da doença.⁸

O crescimento evidenciado e previsto para os próximos anos atrelado ao diagnóstico tardio indica que independente dos protocolos adotados, as barreiras de controle da patologia continuam a desejar no território nacional.^{8,9}

Esse cenário dificulta significativamente as chances de sucesso do tratamento, reduzindo as taxas de sobrevivência dos pacientes e contribuindo para a menor efetividade das terapias convencionais na prática clínica brasileira. Além dos prejuízos para os pacientes, o diagnóstico tardio também gera um impacto expressivo no sistema público de saúde, uma vez que o tratamento de casos avançados exige procedimentos mais complexos e que aumentam consideravelmente os custos para o Sistema Único de Saúde (SUS).⁸

Em relação ao tratamento, as terapias convencionais tendem a apresentar maior eficácia quando empregadas nas fases iniciais da doença.^{10,11} No entanto, os métodos mais utilizados, como a quimioterapia e a radioterapia, estão associados a efeitos adversos como náuseas, vômitos, fadiga, alopecia, comprometimento da fertilidade, toxicidade sistêmica e lesões em tecidos saudáveis adjacentes ao tumor que podem impactar a qualidade de vida das pacientes.^{12,13,14,15} A principal causa dessas complicações está na baixa especificidade celular das terapias convencionais. Tanto a quimioterapia quanto a radioterapia não atuam exclusivamente sobre as células tumorais, afetando também células saudáveis do organismo, levando aos efeitos adversos que comprometem a qualidade de vida dos pacientes.^{12,13,14,16,17}

Sabendo das limitações dos tratamentos convencionais e o impacto deles nos pacientes, se torna necessário a busca por estratégias terapêuticas mais seletivas, capazes de atingir especificamente as células cancerígenas, e que diminuam os efeitos colaterais. Os avanços na área da nanomedicina têm se destacado como uma estratégia promissora para o desenvolvimento de terapias mais eficazes e seguras utilizando nanopartículas para o direcionamento de fármacos aos tumores.^{17,18,19,20,21}

2. CONTEXTUALIZAÇÃO TEÓRICA

2.1. CÂNCER CERVICAL, HPV E A ONCOGÊNESE

Para entender melhor os mecanismos biológicos que estão por trás das novas estratégias de tratamento, é importante primeiramente conhecer a estrutura do colo do útero e as alterações celulares associadas ao câncer cervical. O cérvix é a região mais estreita e inferior do útero que liga o canal vaginal ao corpo uterino desempenhando papel importante na proteção do útero e na reprodução.²² O carcinoma cervical se desenvolve quando a região do cérvix passa por um processo biológico que transforma as células normais em células cancerígenas, a oncogênese.

Esse processo ocorre pelo contato dessas células com agentes cancerígenos que podem ser físicos, químicos ou biológicos, causando mutações no DNA, fazendo as células se multiplicarem de forma descontrolada em condições próximas à imortalidade, dando origem ao tumor.²³ Dessa forma, compreender como essas alterações ocorrem é essencial para entender a progressão da doença e o funcionamento das terapias propostas para seu tratamento.

O surgimento e o desenvolvimento desse tipo de câncer estão diretamente ligados à infecção persistente por tipos oncogênicos do Papilomavírus Humano (HPV).^{4,5,23} O vírus além de ser um fator de risco isolado, também é classificado como a causa central da doença e, por isso, se torna um alvo de interesse para o desenvolvimento de novas terapias.²³ Existem diversos subtipos na família do HPV, dentre eles estão os genótipos HPV16 e HPV18, que, como visto anteriormente, são considerados de alto risco, tornando o interesse de construir sistemas focados no combate a esses subtipos crescente devido à probabilidade de maior eficácia na prevenção ou tratamento do carcinoma.^{4,5,23}

O processo molecular que transforma a infecção viral simples em um tumor começa quando o genoma do vírus se incorpora ao DNA da célula humana. Inicialmente o vírus se encontra em baixa quantidade, na sua forma episossomal e em estado latente, nesse momento os genes E1 e E2 regulam e mantêm essa estrutura circular e dormente. Não se tem conhecimento ainda qual fenômeno transforma o vírus do estado latente para o seu estado ativo, porém é durante essa etapa em que ocorre a integração do genoma viral ao genoma do hospedeiro, os genes virais regulatórios E1 ou E2 são cortados e perdem função. Em uma infecção normal, a proteína E2 funciona como um regulador da replicação do vírus e sem a proteína E2 para regular o sistema por conta da integração, a expressão dos genes do vírus sai do controle, quebrando a estabilidade da célula e iniciando uma produção desregulada das oncoproteínas virais E6 e E7.²³

Essa produção descontrolada e constante de E6 e E7 é o que chama a atenção dos cientistas para usá-las como alvos em sistemas de nanopartículas. Essas proteínas são responsáveis pelo bloqueio dos mecanismos de defesa que impediriam o crescimento do tumor. A oncoproteína E6 ataca diretamente a proteína supressora tumoral p53, que tem por função monitorar os possíveis danos no DNA e, diante de tal, bloquear a divisão celular para reparo quando possível, ou se irreparável, induzir a morte celular (apoptose), prevenindo a formação de tumores. A E6 se utiliza de uma

enzima da própria célula, chamada E6AP (uma ubiquitina ligase), para realizar a degradação da p53. Sem a p53 ativa, a célula perde sua capacidade natural de pausar o ciclo celular para corrigir erros no DNA ou de acionar a morte celular programada. O resultado é que a célula infectada acumula mutações graves sem ser eliminada, tornando-se "imortal".^{23,24}

Já a oncoproteína E7 é responsável por desregular o controle da divisão celular, forçando a célula a se multiplicar sozinha. A E7 se liga e desativa a proteína do retinoblastoma (pRb). Em células não tumorais, a pRb segura um fator de transcrição chamado E2F, o impedindo de exercer sua função que é estimular a divisão celular, mantendo a célula fora do ciclo de divisão. Quando a E7 inativa a pRb, o E2F é liberado no meio intracelular desencadeando uma proliferação celular descontrolada.²³

A atuação dessas oncoproteínas estabelece um ambiente tumoral sólido. Enquanto a expressão constante da oncoproteína E6 impede que a célula defeituosa ative seus eixos internos de morte por apoptose, a ação da oncoproteína E7 remove o freio replicativo celular (pRb/E2F), fazendo com que a linhagem de células epitelial cervical se divida infinitamente, caracterizando a formação e a progressão da massa tumoral.²³

2.2. CISPLATINA: FUNDAMENTOS FARMACOLÓGICOS, APLICAÇÃO CLÍNICA E LIMITAÇÕES.

A cisplatina, Figura 1, é um agente quimioterápico importante da oncologia moderna e permanece como um dos principais fármacos utilizados no tratamento de diversos tumores sólidos, incluindo o câncer do colo do útero.^{11,12,13} Embora a molécula já fosse conhecida anteriormente, suas propriedades antitumorais foram descobertas por Barnett Rosenberg na década de 1960.

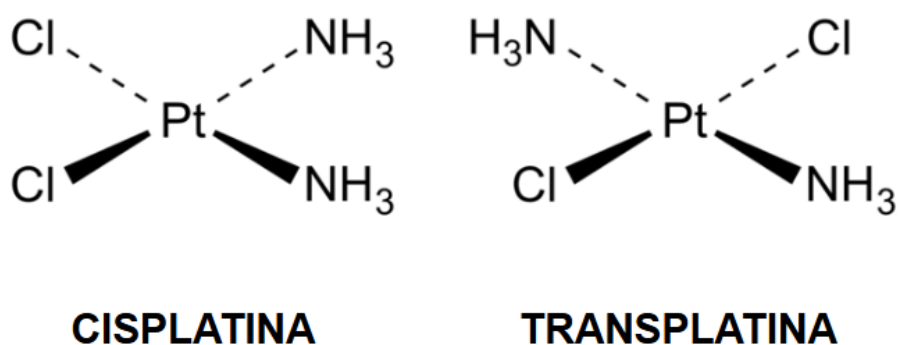


Figura 1: representação estrutural da cisplatina (esquerda) para a transplatina

(direita).(adaptado)⁸⁷

A cisplatina consiste em um complexo de coordenação contendo um átomo central de platina ligado a dois ligantes amino e dois ligantes cloro dispostos em configuração geométrica *cis*. Essa disposição estrutural é fundamental para sua atividade biológica, uma vez que o isômero *trans* correspondente apresenta atividade antitumoral significativamente reduzida devido à sua incapacidade de formar as interações adequadas com o DNA celular.¹²

Após sua administração sistêmica, a cisplatina permanece relativamente estável na circulação sanguínea em razão da elevada concentração de íons cloreto presente no plasma e nos fluidos extracelulares. Nessas condições, a dissociação dos ligantes cloro é desfavorecida, permitindo que o fármaco seja transportado pelo organismo sem sofrer ativação prematura. A entrada da cisplatina nas células pode ocorrer tanto por difusão passiva através da membrana plasmática quanto por mecanismos de transporte mediados por proteínas específicas, como o transportador de cobre CTR1, reconhecido como um dos principais responsáveis pela captação intracelular do fármaco.^{12,13,24}

Uma vez no interior da célula, onde a concentração de cloreto é significativamente menor, a cisplatina sofre um processo denominado aquação. Durante esse processo, os ligantes cloro são progressivamente substituídos por moléculas de água, originando espécies carregadas positivamente e altamente reativas. Essas formas ativadas apresentam elevada afinidade por grupos nucleofílicos presentes em biomoléculas intracelulares, especialmente os átomos de nitrogênio das bases nitrogenadas que compõem o DNA.^{12,13}

A atividade antineoplásica da cisplatina está relacionada à sua capacidade de induzir lesões genômicas persistentes. Após sua ativação, o complexo de platina estabelece ligações covalentes coordenadas predominantemente com os resíduos de guanina e, em menor quantidade, com adenina do DNA. Como resultado, ocorre a formação de diferentes tipos de adutos de platina, sendo as ligações cruzadas intrafilamento as mais frequentes. Essas alterações promovem distorções estruturais na dupla hélice, modificando sua conformação tridimensional e comprometendo processos celulares essenciais.^{12,13}

A presença desses adutos interfere diretamente nos mecanismos de replicação e transcrição gênica, uma vez que dificulta o avanço das DNA e RNA polimerases ao

longo da molécula de DNA. Consequentemente, ocorre interrupção da progressão do ciclo celular, acúmulo de danos genéticos e ativação de proteínas envolvidas na resposta ao dano ao DNA. Quando esses danos excedem a capacidade celular de reparação, são desencadeadas vias de sinalização que culminam na apoptose, processo de morte celular programada responsável pela eliminação das células tumorais.^{12,13}

Em virtude de sua elevada eficácia citotóxica, a cisplatina foi muito estudada para terapias no tratamento do câncer, sendo amplamente utilizada em esquemas de quimiorradioterapia e em protocolos destinados ao tratamento de doença localmente avançada ou metastática.^{11,12,13} Entretanto, apesar de seus benefícios, a utilização do fármaco é limitada pela ausência de seletividade tumoral. Após a administração, a cisplatina distribui-se amplamente pelo organismo, alcançando tecidos saudáveis e provocando efeitos tóxicos significativos que frequentemente restringem a dose máxima administrável.^{12,13,25}

Dentre as toxicidades associadas ao tratamento, a nefrotoxicidade é considerada a complicação clínica mais relevante e uma das principais causas de redução ou interrupção da terapia. Esse efeito adverso decorre da acumulação preferencial de compostos de platina nas células dos túbulos renais, promovendo estresse oxidativo, inflamação e danos mitocondriais. Como consequência, podem ocorrer lesão tubular aguda e comprometimento da função renal, exigindo o encerramento do tratamento.^{13,14}

Além da toxicidade renal, a cisplatina também está associada ao desenvolvimento de ototoxicidade irreversível, caracterizada principalmente pela perda auditiva bilateral progressiva, especialmente em altas frequências. A neurotoxicidade periférica representa outra importante limitação clínica, manifestando-se por parestesias, dormência e alterações sensoriais decorrentes do acúmulo de platina em estruturas neuronais. Outros efeitos adversos frequentemente observados incluem mielossupressão, fadiga, náuseas e vômitos, os quais podem comprometer significativamente a qualidade de vida dos pacientes e a adesão ao tratamento.¹³

Paralelamente aos desafios relacionados à toxicidade sistêmica, a eficácia terapêutica da cisplatina pode ser reduzida pelo desenvolvimento de resistência tumoral. Diversos mecanismos celulares estão envolvidos nesse processo, formando uma barreira multifatorial à ação do fármaco. Entre eles destacam-se a redução da captação intracelular de cisplatina, o aumento de sua eliminação por transportadores

de efluxo, a neutralização por moléculas contendo grupos tióis, como a glutathiona, e a intensificação dos mecanismos de reparo dos danos induzidos ao DNA fazendo com que as lesões genéticas produzidas pelo tratamento sejam corrigidas antes que possam desencadear a morte celular, reduzindo significativamente a eficácia terapêutica. Além disso, determinadas células tumorais desenvolvem a capacidade de tolerar níveis elevados de dano genético sem ativar adequadamente as vias apoptóticas, favorecendo a sobrevivência e a progressão tumoral mesmo após a exposição ao quimioterápico.^{13,24}

No câncer do colo do útero, esse fenômeno pode ser agravado pela presença do papilomavírus humano (HPV).^{11,23} As oncoproteínas virais, especialmente a proteína E6, promovem a degradação do supressor tumoral p53, uma das proteínas envolvidas na resposta celular ao dano genético. Como resultado, as células neoplásicas tornam-se menos suscetíveis à apoptose induzido pela cisplatina, contribuindo para a diminuição da resposta terapêutica e para o surgimento de recidivas tumorais.^{13,23}

Diante das limitações impostas pela toxicidade sistêmica e pelos mecanismos de resistência tumoral, novas estratégias têm sido amplamente investigadas para otimizar o desempenho terapêutico da cisplatina.^{25,26} Nesse contexto, a nanotecnologia aplicada à medicina tem emergido como uma abordagem promissora para aumentar a eficácia e a segurança do tratamento.^{16,17} A encapsulação da cisplatina em sistemas nanoestruturados permite proteger o fármaco contra interações prematuras no meio biológico, prolongar seu tempo de circulação e favorecer sua acumulação preferencial em tecidos tumorais por meio de mecanismos passivos ou ativos de direcionamento. Além disso, a redução da exposição de órgãos saudáveis ao fármaco pode contribuir para minimizar efeitos adversos, aumentar a dose efetivamente entregue ao tumor e potencialmente superar alguns mecanismos de resistência observados na terapia convencional.^{16,17,25}

2.3. NANOPARTÍCULAS

A nanotecnologia baseia-se na exploração de materiais cujas dimensões se encontram na faixa de aproximadamente 1 a 100 nm. Nessa escala, os materiais passam a apresentar comportamentos distintos daqueles observados em sistemas macroscópicos. Dentre os fatores que influenciam nesses comportamentos estão o aumento da razão área superficial em relação ao volume, o surgimento de efeitos de

confinamento quântico e o tamanho. Em conjunto, esses fenômenos alteram profundamente a forma como os materiais interagem com luz, calor, cargas elétricas e sistemas biológicos.^{16,27,28,29}

À medida que o tamanho das partículas diminui, cada vez mais átomos passam a se localizar na superfície. Diferentemente dos átomos presentes no interior da estrutura, que possuem suas ligações químicas praticamente satisfeitas, os átomos superficiais apresentam maior energia livre e maior tendência a interagir com moléculas do meio externo. Como consequência, os nanomateriais exibem elevada reatividade química, maior capacidade de adsorção molecular e maior facilidade de funcionalização superficial, características particularmente importantes para aplicações biomédicas.^{16,27,28,29}

Quando as dimensões do material se tornam comparáveis às escalas características dos elétrons, estes passam a ocupar níveis discretos de energia, em vez das bandas contínuas observadas em materiais convencionais. Esse fenômeno, conhecido como confinamento quântico, altera significativamente as propriedades eletrônicas e ópticas do sistema. Um exemplo clássico são os *quantum dots*, semicondutores cuja cor de emissão pode ser ajustada simplesmente pela modificação do tamanho da nanopartícula devida à modulação dos band gaps.³⁰

Os efeitos de superfície e o confinamento quântico refletem-se em diversas propriedades físico-químicas. Nas propriedades ópticas, observa-se a modulação da absorção e emissão de luz, permitindo o desenvolvimento de sondas fluorescentes de alta sensibilidade para diagnóstico e imageamento biomédico.^{16,28,31} Nas propriedades elétricas, a discretização dos níveis de energia e a maior influência das superfícies modificam o transporte de cargas, possibilitando a construção de sensores e dispositivos eletrônicos miniaturizados.³² Do ponto de vista térmico, a propagação de calor passa a ser influenciada por interações em interfaces e superfícies, podendo alterar a condutividade térmica e reduzir a temperatura de fusão dos materiais em comparação aos seus tamanhos macroscópicos.³³ Já no contexto biológico, o tamanho na escala nanométrica das nanopartículas favorece sua interação com células, tecidos e biomoléculas, influenciando processos como internalização celular, biodistribuição e direcionamento terapêutico.^{16,18,28,34}

Embora a definição clássica de nanopartículas estabeleça a faixa de 1 a 100 nm, esse limite foi originalmente proposto para fins de padronização e para destacar a escala na qual surgem essas propriedades físico-químicas distintas. Entretanto, não

existe uma mudança abrupta de comportamento exatamente aos 100 nm. Muitas das características que tornam os materiais nanoestruturados interessantes permanecem presentes acima desse limite, especialmente em sistemas coloidais utilizados em aplicações biomédicas. Por esse motivo, áreas como a nanomedicina adotam uma definição mais funcional que considera nanopartículas sistemas com dimensões que podem se estender até algumas centenas de nanômetros.^{16,21,27,29}

2.4 PLATAFORMAS DE ENTREGA DE FÁRMACOS

O tamanho nanométrico associado a alta área superficial levaram as nanopartículas a serem de extremo interesse científico para o desenvolvimento dos sistemas de entrega de fármacos, amplamente denominados na literatura como *drug delivery systems*.^{16,17,29} No cenário da oncologia, como visto anteriormente, a administração sistêmica de agentes quimioterápicos livres possui limitações.^{12,13,16,26} Os fármacos convencionais podem manifestar baixa solubilidade em meio fisiológico neutro, sofrer degradação química prematura por enzimas circulantes no plasma e apresentar filtração renal excessivamente rápida, exigindo a administração de doses elevadas para que uma fração mínima consiga alcançar a eficácia biológica necessária no tecido-alvo. A ausência de uma seletividade celular faz com que os quimioterápicos livres se distribuam de maneira inespecífica por todo o organismo, desencadeando efeitos adversos agudos, cumulativos e dose-limitantes.^{12,13,16,17,26}

Nesse contexto, as nanopartículas foram integradas à medicina para atuar como vetores de transporte coloidal estrategicamente projetados para contornar esses problemas biofarmacêuticos. Ao encapsular o agente terapêutico, o nanosistema pode assumir o papel de uma barreira física protetora. Essa blindagem impede a interação prematura do fármaco com as proteínas plasmáticas, reduzindo drasticamente as taxas de metabolização e inativação precoce do composto ativo.^{16,17,25,29,35}

Consequentemente, também é observado um prolongamento do tempo de meia-vida de circulação periférica do princípio ativo na corrente sanguínea, permitindo que uma fração substancialmente maior da dose administrada permaneça viável no plasma por períodos prolongados, o que aumenta as chances de o vetor se acumular de forma preferencial no microambiente tumoral através do efeito de aumento da permeabilidade e retenção (EPR).^{16,25,35,36} Dessa maneira, as plataformas de entrega modificam o perfil farmacocinético, a biodistribuição e a segurança dos compostos terapêuticos livres, maximizando a eficácia local no sítio da lesão e também atenuando

de forma expressiva os danos colaterais nos tecidos saudáveis, contribuindo para a redução dos efeitos colaterais associados aos tratamentos tradicionais e para a melhora da sobrevivência das pacientes.^{16,17,35,36}

2.5. NANOMATERIAIS PARA ENTREGA DIRECIONADA DE FÁRMACOS

Existem diversas plataformas nanotecnológicas, como podemos ver na Figura 2, empregadas para o carregamento de fármacos podem ser classificadas de diversas formas, uma delas é a organização pela composição química das suas matrizes estruturais, dividindo-se em sistemas orgânicos, inorgânicos e híbridos. A escolha do material da nanopartícula é de extrema importância para o objetivo do estudo, cada categoria possui propriedades únicas que determinam o seu comportamento em meios biológicos e ditam a sua capacidade para diferentes modalidades de diagnóstico e terapia.^{16,17,21,37}

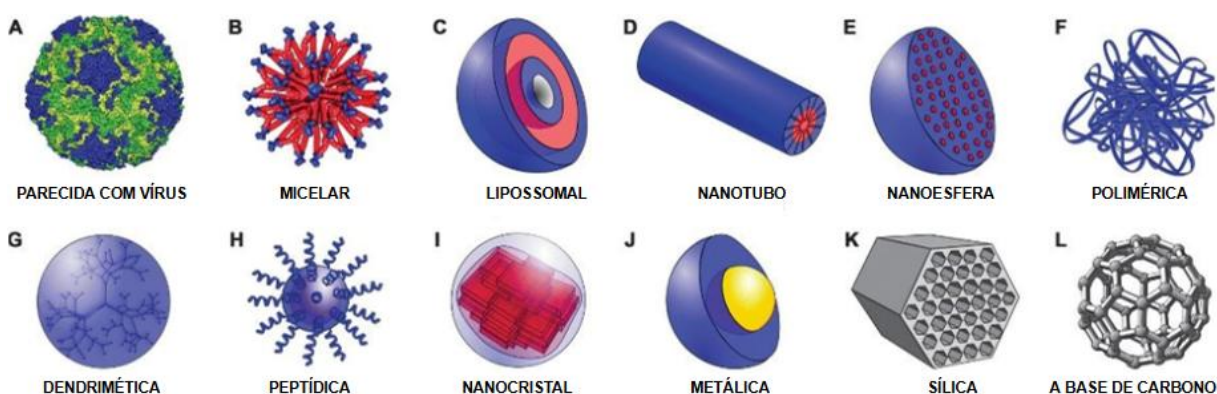


Figura 2: Tipos de nanopartícula A: parecida com vírus, B: micelar, C: lipossomal, D: nanotubo, E: nanoesfera, F: polimérica, G: dendrítica, H: peptídica, I: nanocristal, J: metálica, K: sílica, L: a base de carbono. (adaptado)⁸⁸

2.5.1. Nanopartículas orgânicas

Dentro dos nanosistemas orgânicos geralmente se destacam as classes de polímeros e lipídios.^{16,17} Os lipossomas representam uma classe proeminente de carreadores orgânicos de natureza lipídica, descrita como uma das primeiras plataformas coloidais de entrega de fármacos a alcançar o mercado farmacêutico clínico.^{35,38,39,40}

Descobertas em 1961 por Alec D. Bangham, essas vesículas esféricas são compostas por uma ou mais bicamadas concêntricas de fosfolipídios anfipáticos que circundam espontaneamente um núcleo aquoso central, mimetizando a estrutura

molecular das membranas celulares biológicas.^{35,40}

O principal diferencial dos lipossomas é a sua capacidade ambivalente de carregar os fármacos. Devido à sua natureza anfifílica, essa plataforma atua como um sistema capaz de incorporar e alojar simultaneamente compostos hidrofílicos e lipofílicos ou hidrofóbicos como quimioterápicos, proteínas, peptídeos, nucleotídeos e agentes de imagem. Os fármacos hidrofílicos podem ser encapsulados no compartimento aquoso interno enquanto os fármacos lipofílicos podem ser incorporados na bicamada lipídica.^{17,35,38,40}

Outras formas estruturais como as nanopartículas lipídicas sólidas (SLNs) e os carreadores lipídicos nanoestruturados (CLNs) também foram desenvolvidos. As SLNs se diferenciam por possuírem matriz preenchida e sólida na temperatura corporal, porém como desvantagem podem possuir menor armazenamento de fármaco. Já as CLNs são desenvolvidas por uma mistura de lipídios sólidos e líquidos. Essa mistura distorce o arranjo cristalino criando imperfeições e espaços vazios que aumentam a encapsulação de fármacos e providenciam uma liberação mais controlada.⁴¹

Pelo lado da outra classe orgânica, os polímeros são os materiais versáteis explorados para a construção de novos sistemas de liberação de fármacos. Para que um polímero seja considerado viável no desenvolvimento dessas nanopartículas, ele precisa ser quimicamente inerte, livre de impurezas lixiviáveis, totalmente atóxico e apresentar uma estrutura física que resista ao envelhecimento no organismo. Eles podem ser sintéticos como o poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) ou naturais como a quitosana, colágeno e albumina.^{17,34,42,43}

Os polímeros naturais, por mais que biologicamente aceitos, podem sofrer com a falta de reprodutibilidade, degradação acelerada e risco de induzir respostas imunológicas. Já os sintéticos utilizados são altamente customizáveis e biodegradáveis, porém dependendo da heterogeneidade estrutural podem apresentar alto índice de polidispersão. Entre os grupos estruturais das nanopartículas poliméricas estão as nanoesferas e as nanocápsulas. As nanoesferas possuem matriz polimérica sólida onde o composto é ligado ou adsorvido na rede cristalina. Já as nanocápsulas possuem um núcleo líquido rodeado por uma camada polimérica fina que protege o ativo.^{34,42}

Dentre as nanopartículas poliméricas, o copolímero poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) é um material consolidado e seguro para a veiculação de agentes

quimioterápicos.^{34,44,45,46} Estruturalmente, o PLGA é um poliéster sintético linear composto por proporções variáveis de monômeros de ácido láctico e ácido glicólico, cuja ligação do tipo éster confere flexibilidade e estabilidade mecânica ao nanossistema. O grande diferencial biológico dessa matriz reside na sua biodegradabilidade completa e na sua aprovação pelas agências regulatórias internacionais para uso clínico em humanos.^{34,42}

2.5.2. Nanopartículas inorgânicas

Em contraste com os sistemas orgânicos, as nanopartículas inorgânicas correspondem a uma classe de carreadores desenvolvidos a partir de materiais inorgânicos, incluindo metais, óxidos metálicos e cerâmicas, que se destacam por suas propriedades físicas, ópticas e magnéticas intrínsecas que viabilizam a integração entre o diagnóstico por imagem e a terapia direcionada.^{17,47}

Essa categoria de nanopartículas costuma apresentar limitações quanto à biocompatibilidade e taxas de biodegradação quando comparadas aos sistemas lipídicos e poliméricos, porém oferecem como vantagem a reprodutibilidade da síntese química em relação ao seu tamanho, formato e propriedades. Para a aplicação in vivo, podem aparecer juntas a um revestimento protetor para diminuir a toxicidade celular, evitar a agregação e estender a estabilidade física do sistema na circulação sanguínea.^{17,47,48}

As principais classes inorgânicas aplicadas como veículos de princípios ativos são as nanopartículas de ouro, grafeno e sílica. As nanopartículas de ouro (AuNPs) são comumente sintetizadas via redução química de sais metálicos e costumam apresentar alta estabilidade e natureza inerte.^{17,47}

Além disso, devido ao fenômeno de ressonância plasmônica de superfície (SPR), absorvem luz na região do infravermelho próximo (NIR), permitindo associar a entrega de fármacos à terapia fototérmica por liberação local de calor.⁶ Paralelamente, o grafeno e o óxido de grafeno (GONPs) oferecem uma geometria bidimensional com grande área superficial, ideal para a adsorção estável de quimioterápicos aromáticos por meio de interações hidrofóbicas.⁴⁹

Como o presente trabalho fez um recorte voltado para sistemas direcionados de liberação de fármacos, certas classes de nanopartículas inorgânicas, como os quantum dots e nanopartículas magnéticas não serão aprofundadas nesta revisão por terem como foco primário o diagnóstico por imagem.^{16,37}

As nanopartículas de sílica mesoporosa (MSNs), exemplificam o avanço dos

sistemas carreadores inorgânicos estáveis de última geração. A arquitetura nanométrica dessas partículas consiste em uma rede rígida que abriga em seu interior arranjos ordenados de poros uniformes, cujos diâmetros situam-se na faixa de 2 a 50 nm.^{24,48,50,51}

O diferencial tecnológico das MSNs em relação às matrizes poliméricas e lipídicas consiste na sua área superficial extremamente elevada, que pode ultrapassar 700 m²/g de material. Essa configuração estrutural confere à sílica uma capacidade de carga, permitindo a adsorção de grandes quantidades de agentes quimioterápicos. Além de utilizar essas nanopartículas de forma pura, a hibridização com diferentes materiais é uma possibilidade para ter o máximo de aproveitamento de todas as propriedades de interesse e modelar sistemas mais complexos que superam as dificuldades encontradas para cada fármaco e patologia.^{24,48,50,51,52}

A seleção ou hibridização dessas matrizes é essencial para a modelar veículos terapêuticos sob medida para superar barreiras anatômicas e celulares específicas de cada patologia.^{16,17,37}

2.6. Estratégias de alveijamento

Além de uma matriz bem escolhida, o método de direcionar essas nanopartículas, o alveijamento, também influencia muito o resultado final dos sistemas nanométricos escolhidos e desenvolvidos em laboratório. Métodos passivos podem apresentar baixa eficácia sendo necessário escolher um método direto para direcionar de forma mais eficaz esse sistema.^{16,36.}

2.6.1. Alveijamento indireto

O efeito de aumento da permeabilidade e retenção (EPR) constitui um dos principais pilares biológicos para o direcionamento passivo de sistemas nanotecnológicos a tecidos tumorais. Este fenômeno é decorrente do crescimento caótico e acelerado do tumor, que resulta em uma vasculatura estruturalmente defeituosa que varia de 100 a 780 nm de diâmetro.^{16,36}

Aliado a essa hiperpermeabilidade vascular, o microambiente tumoral apresenta uma deficiência no sistema de drenagem linfática. A ausência de um fluxo linfático funcional impede o escoamento de fluidos, promovendo a retenção prolongada das nanopartículas.^{16,36}

Nesse cenário, para que um sistema carreador nanométrico possa efetivamente se beneficiar do efeito EPR e maximizar seu acúmulo no tecido-alvo, o

controle rigoroso de suas propriedades físico-químicas é um fator determinante.^{5,12,48}

Entre essas características, o controle dimensional desempenha um papel crítico, visto que nanopartículas variando de alguns nanômetros até por volta de 200 nm apresentam o diâmetro ideal para transitar pelas fendas tumorais e, simultaneamente, escapar dos mecanismos de filtração fisiológica realizados pelo fígado e pelo baço.^{16,36}

A densidade de carga superficial também influencia de modo que superfícies neutras ou com carga negativa auxiliam no prolongamento da meia-vida de circulação da nanopartícula no plasma sanguíneo, estendendo o tempo disponível para que o acúmulo tumoral ocorra, enquanto a presença de uma carga superficial positiva pode ser vantajosa em alguns casos por elevar a afinidade eletrostática da nanopartícula com o endotélio vascular do tumor, o qual possui carga predominantemente negativa.^{16,36}

Por fim, a forma das nanopartículas, tais como bastões, cilindros, esfera auxiliam na hidrodinâmica vascular, ditando uma melhor velocidade de acúmulo e maior penetração tecidual.^{16,36}

2.6.2. Alveamento direto

O direcionamento ativo é uma estratégia fundamental para contornar a toxicidade generalizada e o alcance limitado das terapias aplicadas à oncologia. Esse método se baseia na funcionalização química das superfícies nanoparticulares através do acoplamento de ligantes específicos, Figura 3, os quais reconhecem com alta afinidade os receptores e antígenos superexpressos pelas células malignas.^{16,18,20,53}

A partir desse acoplamento na periferia do tumor, desencadeia-se uma cascata de endocitose mediada por receptor que internaliza rapidamente o nanocarreador. Esse processo garante o confinamento da ação citotóxica ao ambiente maligno, poupando os tecidos sadios adjacentes e maximizando a eficácia terapêutica diretamente no interior das células doentes.^{16,18,20,53}

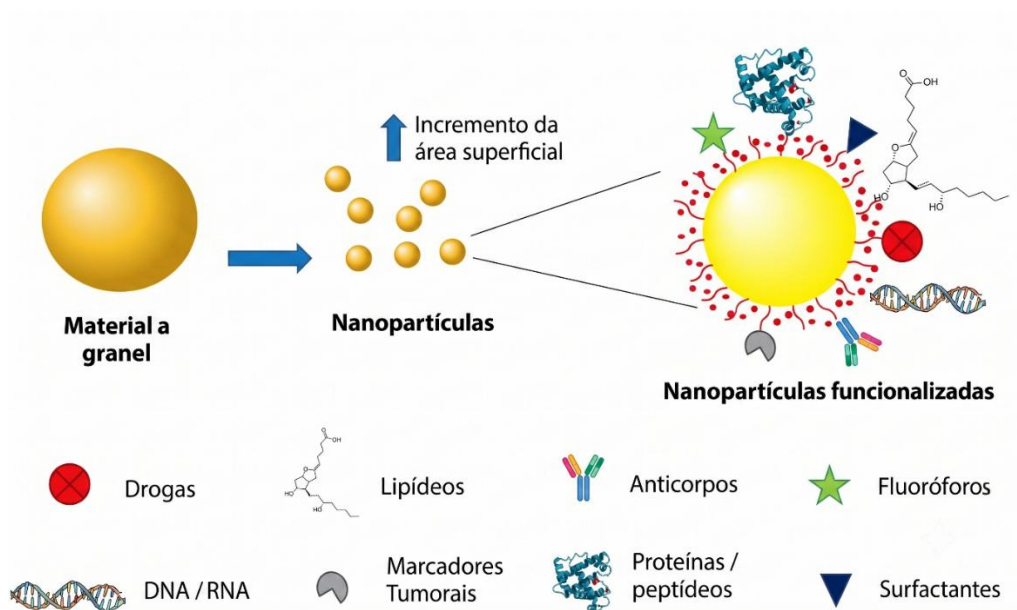


Figura 3: Esquema dos diferentes tipos de funcionalização de superfície.⁸⁹

2.6.3. Métodos de síntese de nanopartículas

A obtenção de sínteses reprodutíveis e eficientes é importante para garantir um tratamento consistente. Existe uma vasta gama de métodos de síntese consolidados na literatura científica.^{17,21,28,29} No cenário dos lipossomas, abordagens como a injeção de solvente, evaporação em fase reversa e hidratação de filme fino atrelado a processos de congelamento e descongelamento, extrusão de membrana e sonicação, são estudadas.^{45,46} Para os carreadores de sílica mesoporosa, destacam-se os processos de sol-gel, corrosão, co-condensação e método de Stöber.^{48,51,54} Já para o polímero PLGA, técnicas como a nanoprecipitação, emulsão simples, dupla emulsão, método assistido por microfluídica e salting out estão entre as mais empregadas.^{34,42,45,46}

Contudo, para fins do escopo deste trabalho, a discussão será direcionada exclusivamente a três metodologias principais referente a cada artigo utilizado para a análise comparativa entre os sistemas nanoparticulados de entrega de fármaco, sendo elas a hidratação de filme fino para nanopartículas lipossomais, emulsão dupla para nanopartícula polimérica e método templado por surfactante para nanopartículas de sílica mesoporosa.

2.6.3.1 O Método de hidratação de filme fino (Método de Bangham)

A técnica de hidratação do filme fino, historicamente denominado método de

Bangham, consolidou-se como a abordagem mais antiga, comum e simplificada para a preparação de nanopartículas de caráter lipídico.^{35,40,41} A metodologia é subdividida em etapas sequenciais baseadas na transição estrutural de lipídios organizados a partir de um estado sólido desidratado para uma suspensão aquosa dispersa.⁴⁰

Primeiramente, os fosfolipídios principais selecionados para compor a estrutura da nanopartícula são solubilizados junto a fármacos lipofílicos, quando for o caso, em um solvente orgânico, tais como clorofórmio, diclorometano, etanol ou uma mistura deles, obtendo-se uma solução homogênea.⁴⁰ Em seguida, a remoção da fase orgânica é conduzida sob pressão reduzida, mantendo-se a temperatura entre 45°C e 60°C.^{40,55,56} Para volumes reduzidos, utiliza-se um fluxo seco de nitrogênio ou argônio em capela de exaustão até a eliminação completa dos resíduos; para volumes maiores, emprega-se a evaporação rotatória. Este processo resulta na deposição de um filme lipídico fino, seco e homogêneo, composto por bicamadas empilhadas nas paredes do frasco.⁴⁰

Esse filme é reidratado em um meio aquoso adequado, podendo ser água destilada simples ou uma solução tampão salina de fosfato (PBS) com pH fisiológico ajustado em 7,4, por 1 a 2 horas sob agitação. Essa etapa deve ocorrer obrigatoriamente acima da temperatura de transição de fase (T_m) dos lipídios constituintes na síntese, geralmente entre 60°C e 70°C, para facilitar o desprendimento das lamelas da parede do recipiente. Nesse momento, os fármacos hidrofílicos podem ser inseridos para serem incorporados no lipossoma. Após essas etapas, a suspensão deve passar por um período de estabilização durante 24 horas.^{40,55,56}

Até esse ponto, as vesículas lipídicas apresentam-se heterogêneas e com multicamadas em solução, devendo passar por processos de miniaturização, geralmente por sonicação, extrusão, ou por ambos os processos combinados. O processo de sonicação é utilizado como forma de transferir energia ultrassônica suficiente para quebrar essas camadas e homogeneizar as nanopartículas em tamanhos menores, empregando geralmente um banho de ultrassom ou sonificador de sonda em processos de pulso para evitar o superaquecimento da amostra. Já o processo de extrusão é uma técnica física onde as nanopartículas são pressionadas contra membranas de polycarbonato com diferentes tamanhos de poros, quebrando as vesículas maiores e reorganizando-as em tamanhos menores. Geralmente, este processo deve ser repetido diversas vezes para atingir o tamanho desejado das

nanopartículas.⁴⁰

2.6.3.2 O Método de dupla emulsão para nanopartículas de PLGA

O método de emulsão dupla baseia-se na compartimentação sequencial de fases aquosas e orgânicas imiscíveis, permitindo a estruturação de um sistema carreador capaz de reter eficientemente o fármaco em sua matriz polimérica.^{34,44,45,46,57}

O processo experimental inicia-se com o preparo isolado da fase aquosa interna (W_1), contendo o fármaco dissolvido em água destilada, e da fase orgânica primária (O), composta pelo polímero solubilizado em um solvente orgânico imiscível em água, como o diclorometano ou o clorofórmio. Na sequência, estas duas fases iniciais são combinadas e submetidas a uma primeira etapa de sonicação, o que resulta na formação da emulsão primária (W_1/O). Imediatamente após o término dessa fase, incorpora-se uma solução de surfactante como o álcool polivinílico (PVA), que atua como a segunda fase aquosa (W_2) à emulsão recém-formada, mantendo-se a sonicação ativa para consolidar o sistema de emulsão dupla ($W_1/O/W_2$).^{34,44,57}

Para promover a estruturação das nanopartículas, o sistema duplo obtido pode ser vertido em uma nova solução de surfactante em baixa porcentagem sob agitação suave. Essa mistura permanece em evaporação até a eliminação completa do solvente orgânico. Por fim, a suspensão passa por uma rota de purificação via centrifugação e ressuspensão em água deionizada com o intuito de separar as nanopartículas do sobrenadante e coletar o precipitado, que contém o fármaco não encapsulado.^{34,44,57}

2.6.3.3 Método Templado por Surfactante para Sílica Mesoporosa

A síntese de nanopartículas de sílica mesoporosa (MSNs) fundamenta-se no método direcionado por molde estrutural. O procedimento experimental inicia-se com a etapa de preparo do molde micelar, na qual uma quantidade controlada de um surfactante direcionador de poros, como o brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), é completamente dissolvida em água destilada sob aquecimento moderado e agitação constante até a obtenção de uma solução homogênea.^{48,50,51,54}

Em seguida, adiciona-se um agente alcalinizante, como hidróxido de sódio (NaOH) ou hidróxido de amônio (NH_4OH), promovendo as condições básicas necessárias para as etapas subsequentes de hidrólise e condensação dos

precursores de sílica. Nessa fase, parâmetros como a concentração de surfactante, o volume do meio reacional, o pH e a temperatura exercem influência direta sobre as características morfológicas das nanopartículas obtidas, incluindo seu tamanho, distribuição granulométrica e organização mesoporosa.^{48,51,54}

Quando o objetivo é a obtenção de nanopartículas funcionalizadas, pode-se empregar a estratégia de co-condensação utilizando organossilanos funcionalizados. Ele pode ser adicionado ao sistema reacional antes ou simultaneamente ao precursor principal de sílica. Entre os agentes utilizados encontram-se derivados organossilânicos contendo grupos amino, tiol ou carboxila, permitindo a incorporação direta de funcionalidades químicas à matriz inorgânica durante a formação da estrutura mesoporosa. Após a adição dos precursores, a mistura é mantida sob agitação contínua até a completa homogeneização do sistema.^{48,54,58}

A etapa de formação da matriz de sílica ocorre por meio da reação sol-gel, iniciada pela ação do precursor da sílica, como o tetraetilortosilicato (TEOS), geralmente diluído em um co-solvente alcoólico, como o etanol. Uma vez introduzido no meio reacional, o TEOS sofre hidrólise seguida de condensação, promovendo a nucleação e o crescimento da rede inorgânica ao redor das micelas formadas pelo surfactante. A suspensão permanece sob agitação vigorosa durante várias horas para assegurar a formação ordenada da estrutura mesoporosa. Em determinados protocolos, etapas adicionais de alimentação de TEOS podem ser empregadas para modular o crescimento das partículas, a espessura das paredes mesoporosas ou a distribuição do tamanho das nanopartículas.^{48,54}

Após a conclusão da reação, a suspensão é submetida ao processo de envelhecimento sob condições estáticas e temperatura controlada, geralmente entre 25°C e 80°C, por períodos que podem variar de algumas horas até um dia completo. Essa etapa favorece o rearranjo estrutural da rede de sílica e o aumento da estabilidade mecânica do material. Em seguida, os sólidos formados são recuperados por centrifugação e submetidos a sucessivas etapas de lavagem com água deionizada e etanol para remoção de reagentes residuais e subprodutos da síntese. Posteriormente, o material é seco ao ar, em estufa de baixa temperatura ou sob vácuo, conforme as condições experimentais adotadas.^{48,54}

Para que a porosidade interna seja efetivamente ativada e os canais mesoporosos fiquem disponíveis para o carregamento de fármacos, torna-se necessária a remoção do surfactante presente no interior da estrutura. Essa etapa

pode ser realizada por calcinação em altas temperaturas, promovendo a eliminação completa do molde orgânico, ou por extração química utilizando solventes apropriados.^{48,54}

Quando a matriz contém grupos orgânicos funcionalizados que devem ser preservados, a extração química é preferida. Nesse procedimento, o material é submetido a refluxo em solventes como etanol ou tetraidrofurano (THF) acidificados com pequenas quantidades de ácido clorídrico, promovendo a remoção eficiente do surfactante sem comprometer os grupos funcionais incorporados à superfície da sílica. Após a extração, as nanopartículas de sílica mesoporosa são novamente recuperadas por centrifugação, lavadas para remoção dos resíduos do processo e secas, resultando em um material mesoporoso purificado e com os poros acessíveis.^{48,54}

O protocolo de carregamento de fármacos em nanopartículas de sílica mesoporosa ocorre por adsorção passiva. O fármaco é solubilizado em um solvente ou sistema de solventes adequados, garantindo uma dispersão molecular homogênea. Em seguida, adiciona-se uma quantidade proporcional das nanopartículas de sílica diretamente à solução contendo o princípio ativo.^{48,51,54}

A suspensão resultante é mantida sob agitação constante por um período prolongado de 24 horas em temperatura moderada de 45°C (ou temperatura ambiente para moléculas termolábeis) para assegurar a difusão e a retenção efetiva das moléculas no interior dos mesoporos. Após o equilíbrio de adsorção, o nanocarreador carregado é separado do meio reacional por meio de centrifugação.^{48,54}

O precipitado é coletado e submetido a lavagens abundantes com água ou solvente compatível para eliminar os resíduos de fármaco que não foram incorporados e que permaneceram fracamente aderidos, procedendo-se então à secagem do material sólido.^{48,54}

2.7 MÉTODOS AVALIATIVOS DOS SISTEMAS NANOPARTICULADOS

A avaliação de sistemas nanoparticulados envolve uma ampla variedade de técnicas de caracterizações físico-químicas e ensaios biológicos que permitem investigar desde propriedades estruturais, superficiais das partículas, assim como seu comportamento em sistemas celulares e modelos animais.^{28,42,59}

Dependendo da aplicação proposta, podem ser empregados estudos relacionados à morfologia, tamanho de partícula, estabilidade coloidal, eficiência de encapsulação, cinética de liberação, internalização celular, citotoxicidade,

biodistribuição, farmacocinética e eficácia terapêutica, entre diversos outros parâmetros.^{16,28,42}

Entretanto, em virtude da diversidade de metodologias disponíveis e considerando o escopo do presente trabalho, optou-se por concentrar a discussão nos parâmetros importantes para a posterior avaliação dos sistemas nanoparticulados da literatura.

2.7.1. Caracterizações

2.7.1.1 Microscopias Eletrônicas

A microscopia eletrônica é um método utilizado para a caracterização de sistemas nanoparticulados direcionando um feixe de elétrons para gerar imagens com resolução superior e em escalas menores (Figura 4) em comparação às obtidas por microscópios ópticos. Essa elevada resolução permite a análise de características estruturais em escala nanométrica, empregada na avaliação de propriedades físicas e morfológicas de nanomateriais.^{42,60}

Entre as microscopias mais utilizadas estão a microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e a microscopia eletrônica de varredura (MEV). O TEM é empregado principalmente para investigar o tamanho, a distribuição e a organização interna das nanopartículas. Nessa técnica, elétrons são acelerados e direcionados através de uma amostra previamente preparada em pequena espessura mantida sob condições de vácuo. As diferenças de interação dos elétrons com regiões de distintas densidades geram contrastes que são convertidos em imagens de alta resolução, permitindo a visualização detalhada da estrutura interna e da morfologia das partículas.^{42,60}

Por outro lado, o MEV é utilizado para a caracterização das nanopartículas, fornecendo informações sobre morfologia, topografia e organização estrutural externa. O método baseia-se na varredura superficial da amostra por um feixe focalizado de elétrons, cuja interação com o material produz diferentes sinais detectáveis. Esses sinais são processados para gerar imagens bidimensionais. Além disso, dependendo dos detectores acoplados ao equipamento, o MEV pode fornecer informações complementares sobre a composição química dos materiais analisados.^{42,60}

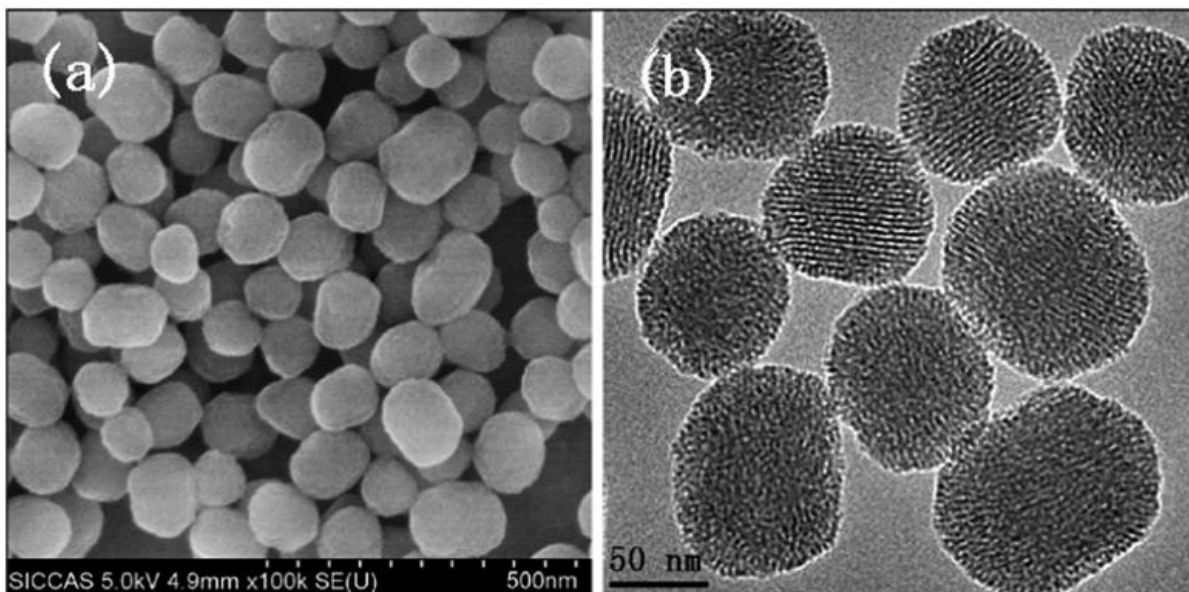


Figura 4: Imagens de nanopartícula de sílica mesoporosa em (a) MEV e (B) TEM.⁴⁸

2.7.1.2 Espalhamento de luz dinâmico (DLS)

O espalhamento de luz dinâmico está entre os modelos utilizados na caracterização de nanopartículas em suspensão para determinar o tamanho hidrodinâmico e o índice de polidispersidade (PDI) das partículas a partir das flutuações da luz espalhada por nanopartículas em movimento browniano, permitindo calcular seu diâmetro hidrodinâmico médio (Figura 5). Esse parâmetro corresponde ao tamanho aparente da partícula dispersa no meio, incluindo a camada de solvatação presente em sua superfície.^{61,62,63}

Além da determinação do tamanho, o DLS pode indicar o índice de polidispersidade (PDI), utilizado para avaliar a uniformidade da distribuição de tamanhos das partículas na formulação. De modo geral, valores reduzidos de PDI, menores que 0,2, indicam sistemas mais homogêneos, enquanto valores elevados, maiores que 0,2, sugerem maior heterogeneidade e possível agregação das nanopartículas.^{61,62,63}

A estabilidade coloidal da suspensão pode ser complementada pela determinação do potencial zeta, obtido por técnicas de mobilidade eletroforética frequentemente acopladas aos equipamentos de DLS. Esse parâmetro corresponde ao potencial elétrico na interface entre a superfície da nanopartícula e o meio dispersante, permitindo obter a carga superficial do sistema. Valores elevados de potencial zeta podem estar associados a maior estabilidade coloidal devido ao

aumento das forças de repulsão entre as partículas, o que pode reduzir a tendência à agregação.^{59,61,62,63}

Em sistemas nanoparticulados destinados à liberação de fármacos, esses parâmetros conseguem sugerir como será o comportamento da formulação. O tamanho hidrodinâmico influencia processos como biodistribuição, circulação sistêmica e internalização celular.^{16,18,34}

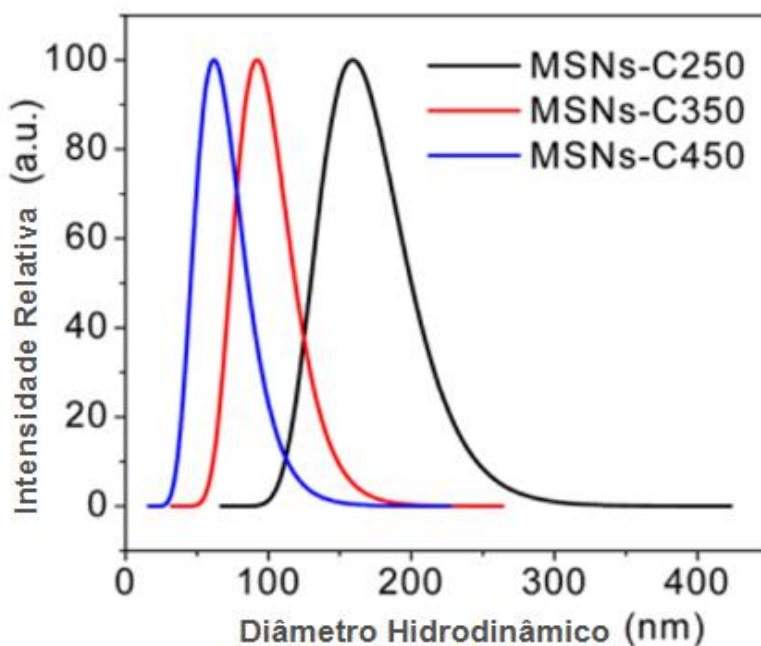


Figura 5: Distribuição de diâmetro hidrodinâmico de nanopartículas de sílica mesoporosa contendo 250mL (azul), 350mL (vermelho) e 450mL (preto) de água destilada na sua formulação. (adaptado)⁴⁸

2.7.1.3. Espectroscopia de absorção no ultravioleta-visível (UV-Vis)

A espectroscopia de absorção no ultravioleta-visível (UV-Vis) avalia a interação da radiação eletromagnética com a amostra pela absorção de luz nas regiões do ultravioleta e do visível. A análise é feita quando um feixe de luz atravessa uma solução contendo a nanopartícula, sobrenadante, ou outra solução de interesse, e a intensidade da radiação transmitida é comparada com a de uma amostra de referência. A partir dessa diferença, é possível determinar o espectro de absorção da amostra. Na área de nanomedicina, a espectroscopia UV-Vis é frequentemente utilizada para confirmar a presença de fármacos encapsulados, monitorar processos de encapsulação e liberação, além de auxiliar na quantificação de compostos presentes em sistemas nanoparticulados referentes a sua faixa espectral específica.^{13,64,65}

2.7.1.4. Espectroscopia de infravermelho por transformada de fourier (FT-IR)

A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier é uma técnica aplicada para confirmar modificações de superfície e monitorar a integridade estrutural das matrizes orgânicas e inorgânicas baseada na absorção de radiação eletromagnética na região do infravermelho pelas ligações químicas de uma molécula. Essa absorção ocorre quando a frequência da radiação coincide com a frequência de vibração natural da ligação química, promovendo a transição para níveis mais elevados de energia vibracional. Para que ocorra a absorção, o modo vibracional deve gerar uma alteração temporária no momento de dipolo elétrico da molécula. O espectro gerado funciona como uma assinatura molecular, identificando grupos funcionais a partir de bandas vibracionais específicas presentes na amostra.^{66,67}

2.7.1.5. Difração de raios-X (DRX)

A difração de raios-X é uma técnica analítica não destrutiva utilizada para investigar o estado físico, a cristalinidade e a organização estrutural de materiais em escala atômica e molecular, utilizando o espelhamento coerente de feixes de raios-X incidentes por planos atômicos paralelos e ordenados na amostra. Em materiais que exibem ordenamento cristalino periódico, o perfil difratométrico exibe picos nítidos em ângulos de difração específicos. Além disso, o tamanho médio de domínios cristalinos também pode ser estimado pela mesma técnica.^{68,69}

2.7.1.6. Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

A cromatografia líquida de alta eficiência é um método instrumental de separação analítica utilizado para a identificação, separação e quantificação precisa de compostos em misturas líquidas. O sistema opera forçando a passagem de uma fase móvel líquida sob alta pressão por uma fase estacionária empacotada no interior de uma coluna cromatográfica. A separação dos analitos baseia-se na diferença de afinidade e interação física e química que cada composto exibe em relação às duas fases, gerando tempos de retenção específicos na coluna. Ao eluírem, as moléculas passam por sistemas de detecção, como espectrofotômetros UV-Vis ou detectores de fluorescência, gerando sinais cromatográficos cujas áreas de pico são proporcionais à concentração das substâncias na amostra.^{9,70,71}

2.7.1.7. Fisiossorção de nitrogênio

A fisiossorção de nitrogênio gasoso é uma análise mais utilizada para caracterização de materiais porosos que se baseia na adsorção física e condensação capilar de moléculas de nitrogênio sobre a superfície e no interior dos poros de um material mantido sob temperatura criogênica constante de 77 K. Pela variação controlada da pressão de gás no sistema, obtém-se a curva isotérmica de adsorção-desorção, exemplificada pela Figura 6, e a partir da aplicação estatística do modelo matemático de Brunauer-Emmett-Teller (BET) na região de pressões relativamente baixas, pode determinar a área superficial específica. Complementarmente, o método de Barrett-Joyner-Halenda (BJH) aplica equações de condensação capilar para determinar o volume total acumulado e a curva de distribuição do diâmetro dos poros a partir do ramo de desorção da isoterma.^{72,73}

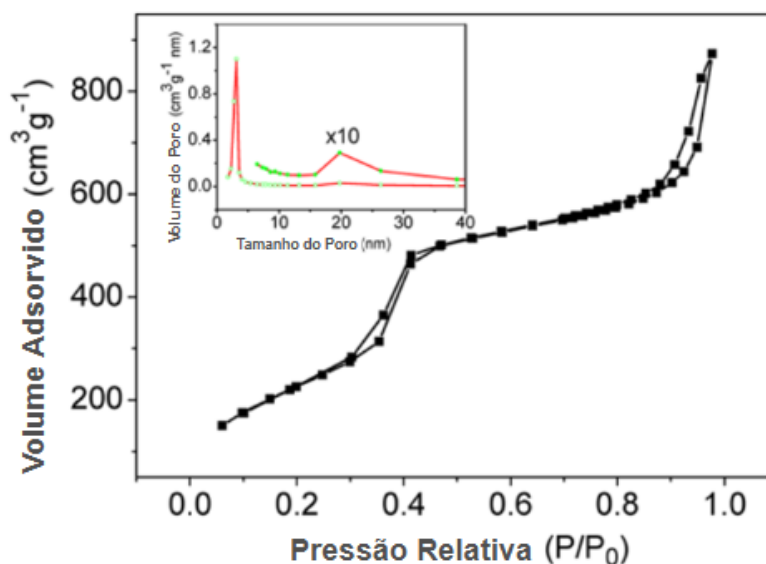


Figura 6: Gráfico da isoterma de fisiossorção de nitrogênio para síntese MSNs-C350.

2.7.1.8. Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES)

A espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente é uma técnica espectroquímica quantitativa de alta sensibilidade muito utilizada principalmente para a determinação de traços de elementos metálicos em soluções. O princípio baseia-se na nebulização e introdução da amostra na forma de aerossol em um plasma de argônio mantida sob temperaturas extremamente elevadas, por volta de 10000 °C. Nesse ambiente térmico, os elementos químicos passam por

processos de atomização, ionização e excitação eletrônica, e ao retornarem para o estado fundamental, os átomos e íons emitem radiação eletromagnética em comprimentos de onda característicos, cujas intensidades de emissão são detectadas e correlacionadas linearmente com as concentrações elementares na amostra original.^{74,75}

Essa técnica apresenta elevada eficiência analítica para elementos metálicos, porém possui limitações para a determinação de alguns elementos da tabela periódica, como gases nobres, nitrogênio, oxigênio e carbono. No caso dos gases nobres, a detecção é dificultada devido ao mascaramento dos sinais pelo plasma de argônio utilizado no equipamento e a sua alta energia de ionização.^{74,75}

Para o nitrogênio e o oxigênio, a principal limitação decorre da interferência proveniente do ar atmosférico, que contém esses mesmos elementos em sua composição, comprometendo a precisão das medições.^{75,76}

Já para o carbono, a dificuldade está relacionada às suas linhas de emissão localizadas na região do ultravioleta a vácuo (VUV), faixa espectral que geralmente não é acessível ou adequadamente coberta pela maioria dos espectrômetros convencionais.^{74,75}

2.7.1.9. Ressonância magnética nuclear de estado sólido (²⁹Si-RMN)

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear de estado sólido focada no núcleo de silício-29 constitui uma técnica espectroscópica avançada de alta resolução para determinar de forma direta o ambiente químico local, a coordenação eletrônica e o grau de polimerização de silício em amostras sólidas insolúveis.^{26,31,43}

Pela ausência de movimento rotacional rápido típico de soluções, as amostras em estado sólido sofrem com alargamentos físicos de picos causados pela anisotropia do deslocamento químico e por acoplamentos dipolares homonucleares e heteronucleares.^{48,76,77}

Esse obstáculo instrumental é contornado por meio da técnica de rotação no ângulo mágico (MAS-RMN), na qual a amostra em pó é mantida sob rotação em altíssima velocidade inclinada sob o ângulo crítico de 54,74 graus em relação ao campo magnético estático aplicado.^{48,76,77}

2.7.2. Estudos *in vitro*

2.7.2.1. Ensaio de Viabilidade Celular por MTT

O ensaio de MTT é uma metodologia colorimétrica utilizada na triagem *in vitro* de viabilidade metabólica e citotoxicidade celular quando exposto a agentes químicos livres ou incorporados a carreadores coloidais. O ensaio fundamenta-se na capacidade de desidrogenases ativas localizadas na cadeia mitocondrial de células metabolicamente viáveis reduzirem o sal solúvel de coloração amarela brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) a cristais de formazan insolúveis de cor púrpura intensa.^{78,79,80}

Esses cristais gerados acumulam-se no citoplasma celular e, após a adição de um solvente orgânico de dissolução, como o dimetilsulfóxido (DMSO), a absorbância óptica da solução homogênea resultante é lida espectrofotometricamente em comprimentos de onda específicos, correlacionando com o número de células vivas.^{78,79,80}

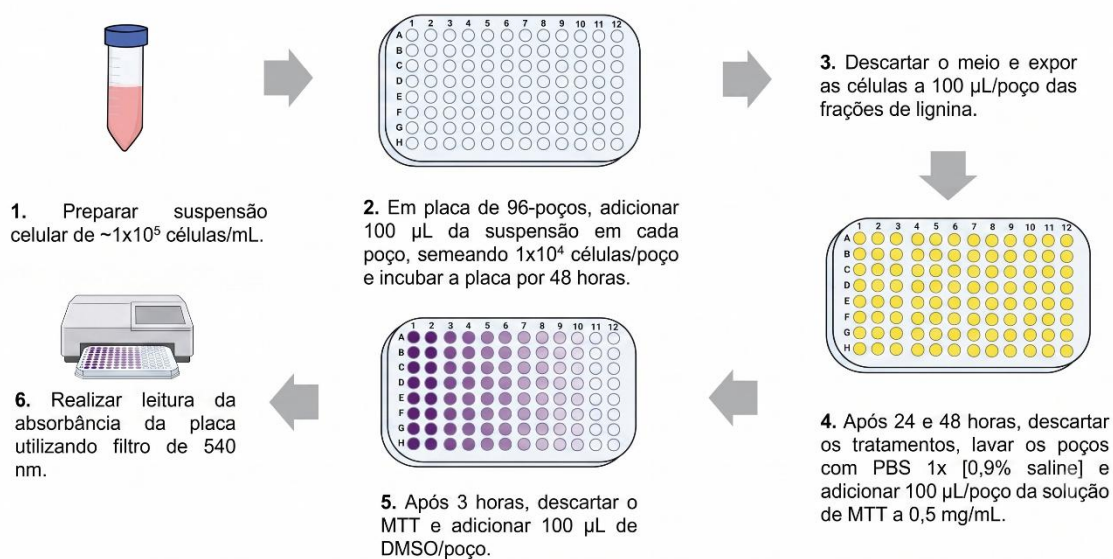


Figura 7: Esquema do teste do MTT para avaliação da citotoxicidade.⁹⁰

2.7.2.2. Estudos de Liberação por Diálise

O ensaio de liberação *in vitro* por diálise constitui o modelo experimental clássico projetado para monitorar como é feita a eluição de fármacos ativos encapsulados em suspensões de nanopartículas ao longo do tempo. O ensaio baseia-se no aprisionamento da formulação coloidal no compartimento interno de uma membrana porosa de diálise com limite de corte de massa molecular específico para cada nanopartícula e fármaco.^{81,82,83}

Essa barreira porosa impede fisicamente a passagem das nanopartículas

íntegras de escala nanométrica, porém permite a livre difusão de moléculas de fármaco em seu estado molecular livre e solúvel em direção ao reservatório externo de liberação sob agitação mecânica constante e sob temperatura controlada de 37°C para simular condições fisiológicas. Porções do meio ao qual o fármaco foi difundido são recolhidas e quantificadas para predizer as características de liberação do fármaco.^{81,82,83}

2.7.2.3. Internalização Celular das nanopartículas

A localização citoplasmática e a distribuição perinuclear de nanopartículas em suspensão celular *in vitro* podem ser mapeadas pela co-coloração seletiva do núcleo celular com corantes supravitais específicos que se intercalam no DNA e detectadas por microscopia de fluorescência.^{31,84}

Dentre os métodos utilizados como a citometria de massas, citometria de fluxo e ICP-MS, a microscopia de fluorescência se destaca por ser técnica de imageamento biológico óptico de alta resolução espacial baseada na excitação eletrônica de moléculas fluorescentes (fluoróforos) por radiação luminosa em comprimentos de onda específicos e subsequente captação e amplificação da luz emitida em comprimentos de onda mais longos. Por meio do imageamento de amostras celulares fixadas ou em tempo real, a técnica permite mapear e diferenciar estruturas celulares específicas pela aplicação combinada de corantes e sondas.^{31,84}

3. ANÁLISE COMPARATIVA DE ESTUDOS RELEVANTES DA LITERATURA

Este capítulo propõe uma análise comparativa de três artigos científicos que abordam o mesmo problema por caminhos completamente diferentes. Todos os artigos partem do mesmo objetivo principal que é otimizar a entrega da cisplatina, um excelente quimioterápico que possui alta toxicidade sistêmica.^{12,13,14} Para resolver esse problema, cada grupo de pesquisadores selecionou e otimizou uma plataforma nanométrica diferente, explorando matrizes inorgânicas, poliméricas e lipídicas.^{44,48,55}

O primeiro estudo propôs a síntese de nanopartículas de sílica mesoporosa funcionalizadas com grupos carboxílicos para a administração de cisplatina. O objetivo central foi contornar a baixa afinidade da cisplatina pela sílica pura e, com isso, melhorar a capacidade de carregamento e modular a liberação do fármaco. Para isso, os autores utilizaram uma estratégia one-pot em duas etapas, baseada na co-condensação do sal sódico de carboxietilsilanetriol (CES) com TEOS, sob moldagem

por CTAB.⁴⁸

O segundo trabalho executou uma perspectiva polimérica, nanopartículas de PLGA (poliácido láctico-co-glicólico) como carreadores de cisplatina e silibinina, com o propósito de melhorar a estabilidade dos compostos, favorecer a liberação controlada e ampliar o potencial terapêutico contra células de câncer cervical HeLa. Nesse caso, as nanopartículas foram produzidas por uma metodologia de dupla emulsão do tipo W/O/W (água/óleo/água) associada à evaporação de solvente, empregando PVA como estabilizante e solventes orgânicos como diclorometano ou clorofórmio, conforme a formulação. Diferentemente dos outros artigos, o objetivo principal deste estudo foi a síntese de duas formulações independentes, uma para cada fármaco, posteriormente utilizadas em conjunto nos experimentos celulares para avaliar um possível efeito sinérgico entre a quimioterapia convencional e um agente quimioterápico natural.⁴⁴

Por fim, adotando uma abordagem biomimética e lipídica, o terceiro estudo teve como objetivo desenvolver um sistema lipossomal para a veiculação da cisplatina, buscando superar limitações clássicas do fármaco. Para isso, os autores trabalharam com lipossomas peguillados e direcionados por estrona, isto é, uma plataforma lipídica biocompatível na qual foi incorporado o polímero PEG (polietilenoglicol) para aumentar a estabilidade circulatória e reduzir a captação pelo sistema fagocítico mononuclear, além do ligante de estrona para favorecer o reconhecimento por células que expressam receptores estrogênicos. A preparação foi realizada pelo método de hidratação de filme fino, seguida de sonicação e extrusão para ajuste de tamanho e posterior conjugação do ligante direcionador.⁵⁵

As três publicações utilizaram a linhagem celular HeLa, um adenocarcinoma cervical positivo para o HPV-18, para a validação biológica *em vitro*.^{44,48,55}

Para avaliar sistematicamente o impacto da matriz estrutural no desempenho de entrega da cisplatina, as propriedades das três principais plataformas nanoparticuladas documentadas na literatura científica foram compiladas e analisadas quantitativamente através da Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros para análise comparativa entre as sínteses diferentes.

Parâmetro de Caracterização	Lipossoma Convencional (L-DDP)	Lipossoma Direcionado (ES-L-DDP)	Lipossoma Peguilado (SSL-DDP)	Lipossoma Duplo-Modificado (ES-SSL-DDP)	Nanopartícula de PLGA (F7)	Sílica Mesoporosa Carboxilada (MSNs-C350)
Tamanho Médio por DLS/TEM (nm)	78,7 ± 4,8	85,5 ± 2,96	90,0 ± 3,75	97,3 ± 0,71	164,0	~85
Índice de Polidispersidade (PDI)	0,084 ± 0,003	0,163 ± 0,006	0,174 ± 0,002	0,206 ± 0,005	polidisperso	monodisperso
Potencial Zeta (mV)	-25,9 ± 0,24	-25,1 ± 0,45	-19,8 ± 0,58	-19,3 ± 0,36	-59,0	Negativo (-COO ⁻)
Eficiência de Encapsulamento (EE%)	41,3 ± 1,42	46,8 ± 1,21	48,2 ± 0,87	47,7 ± 0,92	59,4 ± 0,074	63,7
Capacidade de Carga (%)	3,25 ± 0,09	3,32 ± 0,08	3,07 ± 0,04	3,01 ± 0,04	Não determinado	11,3
Liberação em 48h (pH 7,4)	79,67%	77%	69,33%	66,33%	57,18 ± 3,07%	~28%
Liberação em 48h (pH Ácido)	Não avaliado	Não avaliado	Não avaliado	Não avaliado	73,41 ± 0,69%	~ 50%
IC ₅₀ para HeLa em 48h (comparação com DDP livre)	~11,0 ng/mL (~1,48 vezes menor)	~1,6 ng/mL (~10,18 vezes maior)	1,47 ng/mL (11,08 vezes maior)	1,24 ng/mL (13,14 vezes maior)	3,706 ug/mL (1,5 vezes maior)	8,3 ug/mL (2,38 vezes maior)

Fonte: elaborada pelo autor

3.1. ANÁLISE DIMENSIONAL E DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO

Os dados dimensionais medidos por DLS e TEM revelaram uma variação sistemática que reflete diretamente a natureza físico-química e a metodologia de síntese de cada matriz carreadora. Os sistemas lipossomais exibiram tamanhos por DLS que variaram de 78,7 ± 4,8 nm (L-DDP) a 97,3 ± 0,71 nm (ES-SSL-DDP).⁵⁵ O aumento gradual do diâmetro hidrodinâmico é justificado termodinamicamente pela introdução sequencial do fragmento de peguilação (DSPE-mPEG200) e do fragmento de direcionamento ativo ancorado ao polímero DSPE-PEG200-ES), os quais se estendem radialmente a partir da bicamada fosfolipídica externa e expandem a camada de solvatação ao redor das vesículas.⁵⁵ O PDI dessas formulações manteve-se estritamente abaixo de 0,206, indicando excelente monodispersão coloidal.⁵⁵

Para as nanopartículas de sílica mesoporosa (MSNs-C), o diâmetro hidrodinâmico médio obtido para a amostra MSNs-C350 foi de aproximadamente 85 nm, com tamanho estimado por TEM de cerca de 80 nm, exibindo um perfil de distribuição estreito.⁴⁸

No extremo superior da escala nanométrica, as nanopartículas poliméricas de PLGA (F7) apresentaram um tamanho médio de 164 nm medido por DLS.⁴⁴ Essa dimensão mais elevada decorre da síntese realizada via técnica de dupla emulsão

com evaporação de solvente (W1/O/W2), na qual o tamanho final é altamente sensível à viscosidade da fase orgânica de diclorometano contendo o copolímero de PLGA (proporção de lactídeo para glicolídeo de 50:50) e à energia fornecida durante as etapas de sonicação.^{34,42,44,57}

Além de maiores, a formulação F7 foi classificada como polidispersa, indicando dispersibilidade inadequada podendo ocorrer precipitação coloidal macroscópica em meio aquoso.⁴⁴ Do ponto de vista do efeito EPR, todas as três plataformas situam-se na faixa dimensional ideal para transitar pelo endotélio tumoral, minimizando simultaneamente a filtração glomerular renal precoce e maximizando a retenção passiva no interstício neoplásico pelo efeito EPR.^{18,16,36}

3.2. CINÉTICA DE LIBERAÇÃO E RESPONSIVIDADE AO MICROAMBIENTE TUMORAL

Os perfis de liberação *in vitro* avaliados por diálise ao longo de 48 horas sob diferentes condições de pH e temperatura revelam mecanismos de transporte molecular totalmente distintos e controlados de acordo com a arquitetura química de cada nanomaterial.

Nas nanopartículas de sílica mesoporosa (MSNs-C350), o mecanismo de liberação baseia-se na estabilidade de coordenação entre os resíduos carboxilato e o átomo de platina central. Sob condições fisiológicas neutras (pH 7,4, 37 °C), a liberação de cisplatina é extremamente restrita, situando por volta de 28% ao longo de 48 horas e demandando até 96 horas para atingir o equilíbrio de saturação no meio de diálise. A força dessa coordenação impede a difusão passiva e elimina por completo qualquer efeito de liberação explosiva, o que confirma que o fármaco está covalentemente ancorado e protegido no interior dos mesoporos e não apenas fisicamente adsorvido na superfície externa do carreador.⁴⁸

Quando o meio é acidificado para valores típicos de endossomos e lisossomos (pH 5,5), ocorre a protonação em massa dos grupos carboxilato para a forma de ácido carboxílico eletricamente neutro (-COOH). Essa transição química desestabiliza a coordenação coordenada e enfraquece a ligação entre a platina e a parede do poro de sílica, acelerando o processo de eluição do fármaco, que alcança cerca de 50% em 48 horas. A acidez tumoral atua, portanto, como um gatilho químico de descomplexação, garantindo que o quimioterápico permaneça protegido durante a circulação e seja liberado rapidamente apenas após a internalização intracelular.⁴⁸

Nas nanopartículas poliméricas de PLGA (F7), a cinética de liberação exibe um padrão bifásico clássico.^{26,34,44,46} Sob pH fisiológico (7,4, 37 °C), ocorre uma liberação inicial cumulativa de $57,18 \pm 3,07\%$ em 48 horas, regulada majoritariamente pela dessorção passiva da cisplatina fisicamente retida próxima à superfície porosa da matriz polimérica.⁴⁴

Quando exposta às condições simuladas do microambiente tumoral ácido e hipertérmico (pH 5,2, 42 °C), a taxa de liberação acumulada de cisplatina eleva-se significativamente para $73,41 \pm 0,69\%$.⁴⁴ Sob pH ácido e temperatura elevada ocorre a catálise ácida da hidrólise das ligações éster do esqueleto polimérico do PLGA, convertendo o copolímero em seus monômeros solúveis de ácido lático e ácido glicólico. Simultaneamente, a elevação da temperatura do meio acima da temperatura de transição vítrea (T_g) do polímero expande o volume livre interfacial e aumenta a mobilidade das cadeias, acelerando de forma combinada o processo de erosão da matriz e a difusão molecular do fármaco em direção ao meio tumoral.^{34,44,45,46}

Para as preparações lipossomais avaliadas em pH fisiológico (7,4), a eluição de cisplatina em 48 horas registrou taxas de 79,67% para L-DDP, 77% para ES-L-DDP, 69,33% para SSL-DDP e 66,33% para ES-SSL-DDP.⁵⁵ A redução sistemática da liberação observada nas formulações peguiladas (SSL-DDP e ES-SSL-DDP) deve-se à presença física da densa coroa hidrofílica de cadeias de PEG polimerizadas sobre as cabeças polares dos fosfolípidios na superfície externa da vesícula. Esse envoltório molecular forma uma barreira estérica que restringe a mobilidade e a penetração de água através da bicamada lipídica, retardando a difusão passiva da cisplatina encapsulada no núcleo aquoso para o meio de diálise.^{25,40,55} Embora as formulações lipossomais não tenham sido avaliadas sob pH ácido in vitro, ensaios adicionais comprovaram excelente estabilidade física a 4 °C, mantendo uma taxa de vazamento de cisplatina inferior a 10% após 48 horas de armazenamento, o que indica grande viabilidade de estocagem sob refrigeração.⁵⁵

3.3. DINÂMICA DE CAPTAÇÃO CELULAR E EFICÁCIA ANTITUMORAL IN VITRO

Os ensaios de viabilidade celular conduzidos por MTT contra a linhagem tumoral de carcinoma cervical HeLa expuseram uma diferença marcante na eficácia terapêutica em virtude dos mecanismos de internalização apresentados por cada carreador.^{44,48,55}

O lipossoma duplo-modificado (ES-SSL-DDP) demonstrou uma potência

citotóxica extraordinariamente superior em comparação aos quimioterápicos livres e às demais preparações. Após 48 horas de incubação, o IC₅₀ da formulação ES-SSL-DDP atingiu a marca de apenas 1,24 ng/mL, enquanto o lipossoma peguilado não direcionado (SSL-DDP) registrou 1,47 ng/mL, o lipossoma convencional (L-DDP) manteve-se na faixa de 11,0 ng/mL e a cisplatina livre apresentou 16,3 ng/mL.⁵⁵

A amplificação da toxicidade do ES-SSL-DDP expandiu-se drasticamente após 72 horas de exposição, onde o seu IC₅₀ decaiu para a concentração infinitesimal de 0,09 ng/mL contra os 15,27 ng/mL da cisplatina livre, consolidando um aumento de potência terapêutica real de 169,6 vezes sobre o fármaco convencional.⁵⁵

Esse desempenho excepcional é diretamente justificado pelo mecanismo de direcionamento ativo promovido pela estrona acoplada à extremidade das cadeias de PEG. As células HeLa expressam os receptores de estrogênio (ER) em sua membrana plasmática e a conjugação com a estrona induz o reconhecimento específico de alta afinidade por esses receptores, desencadeando uma cascata de endocitose que internaliza rapidamente a vesícula lipossomal íntegra.^{55,43,85}

A quantificação exata da superioridade do direcionamento ativo de estrona foi estabelecida via análise de intensidade de fluorescência utilizando a rodamina B como sonda molecular. O lipossoma direcionado (ES-SSL-Rh B) atingiu um nível de captação de aproximadamente 95.000 unidades de intensidade de fluorescência nas células HeLa, enquanto a formulação peguilada não-direcionada (SSL-Rh B) e a rodamina livre mantiveram-se na faixa basal de 55.000 unidades, demonstrando que o direcionamento ativo promoveu uma internalização intracelular de fármaco 1,7 vezes maior em comparação com a entrega passiva.⁵⁵

A especificidade desse ligante foi comprovada por ensaios de bloqueio de receptores em que as células HeLa foram pré-incubadas com estrona livre em excesso para saturar os receptores de estrogênio de membrana, a captação intracelular do lipossoma modificado despencou de 95.000 para apenas 30.000 unidades. Esse declínio drástico confirma que a livre interação entre o ligante estrona na superfície lipossomal e o receptor celular ER é o fator determinante para induzir uma taxa de internalização celular 3 vezes superior à captação basal inespecífica.⁵⁵

Para a sílica mesoporosa (MSNs-C350-CDDP), o valor de IC₅₀ obtido em 48 horas contra as células HeLa foi de 8,3 ug/mL, representando um aumento significativo de citotoxicidade em relação à cisplatina livre (19,8 ug/mL).⁴⁸ Esse incremento na morte tumoral está perfeitamente alinhado às análises de acúmulo

intracelular de platina quantificadas via espectroscopia ICP-OES.^{48,74,75} As células incubadas com a formulação otimizada MSNs-C350 contendo cisplatina exibiram níveis de retenção líquida de platina intracelular (expressos em ng Pt/ g de proteína celular) de 8 a 10 vezes maiores em comparação com as células que receberam o quimioterápico em sua forma livre.⁴⁸

Análises complementares de captação de sílica livre de fármaco (pg de sílica / célula) revelaram que o processo de endocitose é altamente sensível à geometria espacial das partículas. A amostra esférica MSNs-C350 (80 nm) exibiu a internalização mais eficiente, seguida pela MSNs-C450 (60 nm). Em contraste, a formulação MSNs-C250 (100-140 nm), que exibe um formato elipsoidal alongado decorrente da rápida velocidade de condensação induzida pela elevada concentração dos precursores de silício na síntese, apresentou a menor captação celular de sílica.⁴⁸

Isso pode ocorrer devido às partículas esféricas possuírem distribuição de curvatura simétrica e isotrópica que minimiza a barreira de energia livre e a deformação elástica necessária para que a membrana celular se curve ao redor da nanopartícula durante a endocitose, ao passo que o formato alongado/elipsoidal impõe uma resistência mecânica desfavorável à membrana plasmática. Esse comportamento pode indicar que a morfologia alongada e as maiores dimensões do carreador impõem barreiras termodinâmicas desfavoráveis para a flexão da membrana celular durante a formação da vesícula endossomal, retardando a internalização do sistema.

Por fim, as nanopartículas de PLGA com cisplatina (F7) apresentaram um IC₅₀ de 3,706 ug/mL contra os 5,563 ug/mL obtidos para a cisplatina livre. A associação com as nanopartículas poliméricas contendo silibinina (F4) desencadeou uma morte celular sinérgica amplificada, confirmada por testes estatísticos de ANOVA de duas vias ($P < 0,05$). A silibinina encapsulada em PLGA induz a parada de ciclo na transição G1-S através da modulação do estresse oxidativo celular, redução da fosforilação da pRb e consequente supressão do complexo mitótico E2F1/DP1.⁴⁴

Essa ação antineoplásica complementar e não-sobreposta atua em perfeita sinergia com o dano genotópico direto induzido pela cisplatina no DNA, promovendo a clivagem em massa das caspases 3, 7 e 9 no citoplasma das células HeLa. Contudo, é fundamental ressaltar que a publicação referente ao PLGA carece totalmente de dados quantitativos ou de imageamento experimental para captação celular e internalização.⁴⁴

Os autores justificam essa ausência metodológica pela falta de instalações laboratoriais adequadas para a realização de ensaios de microscopia confocal de varredura a laser ou citometria de fluxo, limitando-se a deduzir teoricamente que a maior citotoxicidade do PLGA-CDDP decorre de uma provável maior retenção interna de fármaco.

Essa dedução puramente indireta representa uma limitação científica relevante, visto que estudos mecanísticos da literatura alertam que nanopartículas puras de PLGA sem modificação com ligantes específicos não são prontamente internalizadas por células cancerígenas em monocultura.^{34,42}

Diferentemente dos lipossomas direcionados e das MSNs carregadas negativamente, as quais interagem ativamente com a membrana celular, as partículas de PLGA não-funcionalizadas tendem a exercer sua citotoxicidade majoritariamente pela liberação prévia do quimioterápico no meio extracelular, com posterior captação passiva do fármaco livre pelas células hospedeiras, ou por processos inespecíficos de transferência por contato de membrana.^{34,42}

3.4. ESTABILIDADE DE CARGA SUPERFICIAL

O potencial zeta pode ditar a estabilidade de dispersão coloidal e o comportamento de circulação sistêmica das plataformas nanoparticuladas.^{10,37,67} Potenciais zeta com módulo absoluto superior a 30 mV geram forças de repulsão eletrostática mútua de altíssima magnitude entre as partículas dispersas em suspensão, superando as forças atrativas de dispersão de Van der Waals, impedindo a agregação.^{61,63}

Na sílica funcionalizada, essa eletronegatividade é conferida pela presença abundante dos grupos carboxilato ($-\text{COO}^-$) desprotonados e expostos ao longo de toda a rede inorgânica de silicato, somada à desprotonação dos grupos silanóis superficiais remanescentes (Si-OH).⁴⁸

No polímero de PLGA, a nanopartícula polimérica de PLGA (F7) registrou marcas de -59 mV.² Essa carga altamente negativa origina-se dos resíduos carboxila livres terminais das cadeias de poliéster e do uso do tensoativo álcool polivinílico (PVA) como agente estabilizante de emulsão.^{44,34,57}

Em contrapartida, os sistemas lipossomais exibiram uma dinâmica de carga superficial marcadamente distinta, regulada pela modificação de membrana. Os lipossomas convencionais L-DDP e direcionados sem PEG (ES-L-DDP) apresentaram

potenciais zeta negativos de $-25,9 \pm 0,24$ mV e $-25,1 \pm 0,45$ mV, respectivamente. Com a incorporação do fragmento polimérico hidrofílico de polietilenoglicol, o potencial zeta das formulações peguiladas SSL-DDP e ES-SSL-DDP sofreu uma redução em sua magnitude eletronegativa, deslocando-se para valores próximos de $-19,8 \pm 0,58$ mV e $-19,3 \pm 0,36$ mV.⁵⁵

Essa perda de carga negativa superficial após a polimerização com PEG é cientificamente explicada pelo fenômeno físico de mascaramento estérico de carga. A incorporação do lipídio peguilado introduz volumosas cadeias lineares de PEG que se projetam para fora das cabeças polares fosfolipídicas na superfície externa da bicamada.^{35,40,55,56}

Essas cadeias densamente hidratadas promovem um deslocamento físico do plano de cisalhamento hidrodinâmico das partículas para uma distância significativamente maior em relação à carga elétrica nativa da superfície fosfolipídica central.^{55,40,86} Como o potencial elétrico decai em relação à distância da superfície carregada, o equipamento de difração eletroforética DLS registra uma queda na magnitude do potencial medido.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente revisão permitiu uma análise científica aprofundada a respeito do papel da nanomedicina no tratamento do carcinoma cervical. A cisplatina livre, embora possua um mecanismo de ótimo atendimento para o enfrentamento do câncer, apresenta toxicidade considerável e resistência no organismo.^{12,13,14,24} A partir disso foi possível avaliar o encapsulamento da cisplatina em três plataformas nanotecnológicas de matrizes diferentes, os lipossomas duplamente funcionalizados, as nanopartículas de PLGA em sistema de co-entrega e as nanopartículas de sílica mesoporosa carboxilada.^{44,48,55} Todos os sistemas demonstraram o potencial de superar essas barreiras biofarmacêuticas e otimizar a cisplatina, dados que confirmam que o carregamento de quimioterápicos via nanocarreadores representa uma vertente promissora para o desenvolvimento de tratamentos oncológicos eficazes, seguros e precisos.^{16,17,21,37}

Em relação à avaliação de qual nanopartícula apresentou maior eficiência para a entrega e otimização da cisplatina, a nanopartícula lipossomal funcionalizada com PEG e estrona teve a maior otimização do fármaco com eficácia 13 vezes maior do que a cisplatina livre para 48 h e de 169 vezes para 72 h de incubação, mostrando

que as suas modificações de superfície promoveram o reconhecimento específico.⁵⁵

Por outro lado, as outras duas plataformas estruturais alcançaram otimizações que também foram relevantes e possuíram diferenciais tecnológicos que as tornam ótimas precursoras para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas.^{44,48}

A síntese otimizada de sílica mesoporosa carboxilada apresentou superioridade quantitativa nos parâmetros de incorporação farmacológica, alcançando a maior eficiência de encapsulamento de aproximadamente 63,7 % e uma capacidade de carga de 11,3 %, que superam em escala os valores obtidos pelos lipossomas, e obtiveram também uma excelente liberação controlada e responsiva ao pH, todos resultados decorrentes do sucesso na sua funcionalização de superfície.⁴⁸

Por outro lado, as nanopartículas de PLGA F7 obtiveram uma otimização biológica ao viabilizar uma estratégia de co-administração. Embora individualmente as formulações poliméricas tenham apresentado uma citotoxicidade moderada, a associação conjunta de nanopartículas de PLGA encapsulando cisplatina (F7) com nanopartículas contendo silibinina (F4) induziu uma taxa de morte celular HeLa sinérgica, amplificada e viabilizada por uma matriz polimérica completamente biodegradável, biocompatível.⁴⁴

A transposição futura dessas plataformas para o Sistema Único de Saúde (SUS) apresenta relevância frente ao panorama do câncer de colo de útero no Brasil, que registra uma curva crescente que afeta desproporcionalmente as regiões Norte e Nordeste além de muitos diagnósticos tardios que elevam substancialmente os custos do SUS com tratamentos complexos.^{1,2,3,8} Embora existam medidas preventivas e a incorporação testes moleculares de DNA-HPV para otimizar o rastreamento, o tratamento de tumores avançados ainda pode depender da administração sistêmica de cisplatina livre, cuja baixa especificidade provoca efeitos adversos severos e limitantes.^{6,7,12,13} Nesse cenário, a encapsulação em nanocarreadores atua como uma blindagem protetora que tem ótimo potencial de reduzir a aquação prematura do fármaco na circulação, diminuindo as toxicidades sistêmicas, o que poderia levar a menos internações hospitalares, menor demanda por hemodiálise de urgência e otimização dos recursos públicos por meio de uma oncologia de precisão.^{16,17,25}

Por mais que este estudo pode efetuar análises concretas sobre nanopartículas para o tratamento de câncer cervical, ele ainda apresentou limitações. A análise comparativa evidenciou uma falta de padronização na literatura científica internacional, que frequentemente falha em reportar de forma homogênea parâmetros

estruturais dos nanocarreadores, como o índice de polidispersidade e o potencial zeta. Essa heterogeneidade metodológica gerou um problema no qual o aumento do volume de artigos triados aprofundava as lacunas de comparação, obrigando a restrição da seleção final deste trabalho a apenas três plataformas de entrega (lipossomas, PLGA e sílica mesoporosa) para preservar a confiabilidade do estudo. No entanto, mesmo entre as plataformas selecionadas, lacunas críticas de dados ainda foram encontradas, que foram necessárias aproximações ou a ausência dos resultados, como ensaios experimentais ou de imageamento de internalização celular direta nas células HeLa para o PLGA, além de disparidades metodológicas na determinação do IC₅₀ em vários tempos de incubação, a falta em dados de capacidade de carga e carência de dados que avaliem a liberação acumulada em pH ácido (pH 5,2 a 5,5) por 48 h.^{44,48,55,61,62,63}

A avaliação físico-química e biológica dessas plataformas conseguiu demonstrar que a existência de um nanocarreador perfeito está longe da realidade. O lipossoma duplamente modificado revelou a maior potência citotóxica *in vitro* de 169,6 vezes superior à cisplatina livre por meio do direcionamento ativo de estrona via receptores de estrogênio (ER) superexpressos em células HeLa, porém esta funcionalização de superfície não funciona para tumores com baixa expressão de estrogênio.⁵⁵

Por outro lado, as nanopartículas de sílica mesoporosa carboxiladas exibiram superioridade na eficiência de encapsulamento, capacidade de carga e liberação responsiva ao pH, contudo possuem uma biodegradação *in vivo* mais lenta que levanta preocupações de bioacumulação a longo prazo.⁴⁸

Por fim, as nanopartículas de PLGA (F7) destacaram-se por sua biocompatibilidade e biodegradabilidade completas, possibilitando uma co-administração sinérgica com a silibinina (F4), mas sofrem com limitações de polidispersão e ausência de dados de captação celular direta.⁴⁴

Assim, o sucesso da nanomedicina no tratamento do câncer cervical reside na seleção criteriosa do carreador ideal de acordo com as necessidades clínicas de cada paciente.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Câncer do colo do útero.** Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tipos/colo-do-utero>>. Acesso em: 8 jun. 2026.
2. CURY, Fernanda. **Câncer de colo do útero avança 14% no Brasil, indicam estimativas.** Disponível em: <<https://www.estadao.com.br/pulsa/medicina-e-estudos/cancer-de-colo-do-utero-avanca-14-no-brasil-indicam-estimativas/>>. Acesso em: 8 jun. 2026.
3. **ESTIMATIVA 2026 incidência de Câncer no Brasil.** Disponível em: <https://ninho.inca.gov.br/jspui/bitstream/123456789/17914/1/Estima2026_completo%20%281%29.pdf>. Acesso em: 7 jun. 2026.
4. **HPV.** Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/h/hpv>>. Acesso em: 8 jun. 2026.
5. **HPV.** Disponível em: <<https://www.febrasgo.org.br/noticia/hpv/>>. Acesso em: 8 jun. 2026.
6. **Deteção precoce.** Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/gestor-e-profissional-de-saude/controle-do-cancer-do-colo-do-utero/acoes/deteccao-precoce>>. Acesso em: 8 jun. 2026.
7. **Ministério da Saúde oferta tecnologia inovadora 100% nacional para detectar câncer do colo do útero no SUS.** Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2025/agosto/ministerio-da-saude-oferta-tecnologia-inovadora-100-nacional-para-detectar-cancer-do-colo-do-utero-no-sus>>. Acesso em: 8 jun. 2026.
8. **Diagnóstico tardio do câncer de colo de útero eleva custos no SUS.** Disponível em: <<https://agenciabrasil.ebc.com.br/saude/noticia/2025-08/diagnostico-tardio-do-cancer-de-colo-de-utero-eleva-custos-no-sus>>. Acesso em: 8 jun. 2026.
9. DA ROCHA LINDNER, Gabriela; KHALIL, Najeh Maissar; MAINARDES, Rubiana Mara. Resveratrol-loaded polymeric nanoparticles: validation of an HPLC-PDA method to determine the drug entrapment and evaluation of its antioxidant activity. **TheScientificWorldJournal**, v. 2013, n. 1, p. 506083, 2013.
10. DA ROCHA LINDNER, Gabriela; KHALIL, Najeh Maissar; MAINARDES, Rubiana Mara. Resveratrol-loaded polymeric nanoparticles: validation of an

HPLC-PDA method to determine the drug entrapment and evaluation of its antioxidant activity. **TheScientificWorldJournal**, v. 2013, n. 1, p. 506083, 2013.

11.VENKATAS, Jeaneen; SINGH, Moganavelli. Cervical cancer: a meta-analysis, therapy and future of nanomedicine. **Ecancermedicalscience**, v. 14, p. 1111, 2020.

12.DASARI, Shaloam; TCHOUNWOU, Paul Bernard. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. **European Journal of Pharmacology**, v. 740, p. 364–378, 2014.

13.FLOREA, Ana-Maria; BÜSSELBERG, Dietrich. Cisplatin as an anti-tumor drug: cellular mechanisms of activity, drug resistance and induced side effects. **Cancers**, v. 3, n. 1, p. 1351–1371, 2011.

14.VOLAREVIC, Vladislav *et al.* Molecular mechanisms of cisplatin-induced nephrotoxicity: a balance on the knife edge between renoprotection and tumor toxicity. **Journal of Biomedical Science**, v. 26, n. 1, p. 25, 2019.

15.DISNER, Elton; QUINTELA, Gabriel. **Conheça os principais efeitos colaterais da radioterapia.** Disponível em: <<https://venceonco.com.br/conheca-os-principais-efeitos-colaterais-da-radioterapia/>>. Acesso em: 8 jun. 2026.

16.CASTRO, Emilio; KUMAR, Arun. Nanoparticles in Drug Delivery Systems. *In: Nanomedicine in Drug Delivery*. [S.l.]: CRC Press, 2013. p. 1–22.

17.PATRA, Jayanta Kumar *et al.* Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 16, n. 1, p. 71, 2018.

18.BAZAK, Remon *et al.* Cancer active targeting by nanoparticles: a comprehensive review of literature. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v. 141, n. 5, p. 769–784, 2015.

19.GUPTA, Swati; GUPTA, Manish K. Possible role of nanocarriers in drug delivery against cervical cancer. **Nano Reviews & Experiments**, v. 8, n. 1, p. 1335567, 2017.

20.MUHAMAD, Nadda; PLENGSURIYAKARN, Tullayakorn; NABANGCHANG, Kesara. Application of active targeting nanoparticle delivery system for chemotherapeutic drugs and traditional/herbal medicines in cancer therapy: a systematic review. **International Journal of Nanomedicine**, v. 13,

p. 3921–3935, 2018.

21. SONG, Yujun (ORG.). **Nanomedicine: Fundamentals, synthesis, and applications**. Berlin, Germany: Blackwell Verlag, 2024.

22. **Cervix**. Disponível em: <<https://my.clevelandclinic.org/health/body/23279-cervix>>. Acesso em: 8 jun. 2026.

23. DA CONCEIÇÃO SILVA SOUZA, Gláucia *et al.* **Papillomavirus human: viral biology and carcinogenesis**. Disponível em: <<https://docs.bvsalud.org/upload/S/0100-7254/2015/v43n4/a5313.pdf>>.

Acesso em: 8 jun. 2026.

24. GALLUZZI, L. *et al.* Molecular mechanisms of cisplatin resistance. **Oncogene**, v. 31, n. 15, p. 1869–1883, 2012.

25. DUAN, Xiaopin *et al.* Nanoparticle formulations of cisplatin for cancer therapy: Nanoparticle formulations of cisplatin. **Wiley Interdisciplinary Reviews. Nanomedicine and Nanobiotechnology**, v. 8, n. 5, p. 776–791, 2016.

26. JOHNSTONE, Timothy C.; SUNTHARALINGAM, Kogularamanan; LIPPARD, Stephen J. The next generation of platinum drugs: Targeted pt(II) agents, nanoparticle delivery, and pt(IV) prodrugs. **Chemical Reviews**, v. 116, n. 5, p. 3436–3486, 2016.

27. AUFFAN, Mélanie *et al.* Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective. **Nature Nanotechnology**, v. 4, n. 10, p. 634–641, 2009.

28. FICAI, Denisa; GRUMEZESCU, Alexandru Mihai (ORGS.). **Nanostructures for novel therapy: Synthesis, characterization and applications**. Filadélfia, PA, USA: Elsevier - Health Sciences Division, 2017.

29. KUMAR, Arun *et al.* **Nanomedicine in Drug Delivery**. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 2013.

30. KALARIKKAL, Nandakumar; THOMAS; WU. Nanomaterials for solar cell applications. Filadélfia, PA, USA: Elsevier Science Publishing, 2019.

31. MICROSCOPY, Fluorescence; ZEISS, Carl; GMBH, Microscopy. **Principles of Fluorescence and**. Disponível em: <[https://pages.zeiss.com/rs/896-XMS-794/images/ZEISS-](https://pages.zeiss.com/rs/896-XMS-794/images/ZEISS-Microscopy_Technology-Note_Principles-of-Fluorescence.pdf)

[Microscopy_Technology-Note_Principles-of-Fluorescence.pdf](https://pages.zeiss.com/rs/896-XMS-794/images/ZEISS-Microscopy_Technology-Note_Principles-of-Fluorescence.pdf)>. Acesso em: 8 jun. 2026.

32. MARIANO, Luiz Carlos. ESTUDO DAS PROPRIEDADES ELÉTRICAS DE NOVOS NANOMATERIAIS COM VIABILIDADE DE APLICAÇÃO EM DISPOSITIVOS ELETRÔNICOS. Disponível em: <<https://acervodigital.ufpr.br/xmlui/bitstream/handle/1884/45234/R%20-%20T%20-%20LUIZ%20CARLOS%20MARIANO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 8 jun. 2026.
33. LU, Chenhan; ZHANG, Xiaohui. Effect of size-dependent thermal conductivity on heat transfer and fluid flow in TiC-reinforced nanocomposites during moving annular laser melting. *Revue generale de thermique [International Journal of Thermal Sciences]*, v. 220, n. 110312, p. 110312, 2026.
34. DANHIER, Fabienne *et al.* PLGA-based nanoparticles: an overview of biomedical applications. **Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society**, v. 161, n. 2, p. 505–522, 2012.
35. LIU, Peng; CHEN, Guiliang; ZHANG, Jingchen. A review of liposomes as a drug delivery system: Current status of approved products, regulatory environments, and future perspectives. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 27, n. 4, p. 1372, 2022.
36. MAEDA, H. *et al.* Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review. **Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society**, v. 65, n. 1–2, p. 271–284, 2000.
37. RIAZ, Ramish *et al.* (ORGS.). **Nanotheranostics and precision oncology**. San Diego, CA, USA: Academic Press, 2025.
38. BOULIKAS, Teni. Low toxicity and anticancer activity of a novel liposomal cisplatin (Lipoplatin) in mouse xenografts. **Oncology Reports**, v. 12, n. 1, p. 3–12, 2004.
39. CASAGRANDE, Naïke *et al.* Preclinical evaluation of a new liposomal formulation of cisplatin, lipoplatin, to treat cisplatin-resistant cervical cancer. **Gynecologic Oncology**, v. 131, n. 3, p. 744–752, 2013.
40. LOMBARDO, Domenico; KISELEV, Mikhail A. Methods of liposomes preparation: Formation and control factors of versatile nanocarriers for biomedical and nanomedicine application. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 3, p. 543,

2022.

41.MUSIELAK, Ewelina; FELICZAK-GUZIK, Agnieszka; NOWAK, Izabela. Synthesis and potential applications of lipid nanoparticles in medicine. **Materials**, v. 15, n. 2, p. 682, 2022.

42.FLOYD, Thomas G.; GURNANI, Pratik; RHO, Julia Y. Characterisation of polymeric nanoparticles for drug delivery. **Nanoscale**, v. 17, n. 13, p. 7738–7752, 2025.

43.MEHATA, Abhishesh Kumar *et al.* Chitosan-g-estrone nanoparticles of palbociclib vanished hypoxic breast tumor after targeted delivery: Development and ultrasound/photoacoustic imaging. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 15, n. 29, p. 34343–34359, 2023.

44.AKBARI, Parinaz *et al.* Investigation of the effect of encapsulating cisplatin with the active compound silibinin in PLGA polymeric nanoparticles on the HeLa cervical cancer cell line. **Medical Oncology (Northwood, London, England)**, v. 43, n. 2, p. 79, 2025.

45.KHAN, Mohammad Sakib *et al.* Advances in PLGA-based polymeric nanocarriers for colorectal cancer therapy: overcoming chemoresistance through controlled delivery strategies. **Molecular Cancer**, v. 24, n. 1, p. 288, 2025.

46.TODARIA, Moulika; AWASTHI, Rajendra. PLGA nanoparticles as promising drug delivery carrier: the future of skin cancer treatment. **Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences**, 2025.

47.BHATTACHARYYA, Sanjib *et al.* Inorganic nanoparticles in cancer therapy. **Pharmaceutical Research**, v. 28, n. 2, p. 237–259, 2011.

48.GU, Jinlou *et al.* One-pot synthesis of mesoporous silica nanocarriers with tunable particle sizes and pendent carboxylic groups for cisplatin delivery. **Langmuir: The ACS Journal of Surfaces and Colloids**, v. 29, n. 1, p. 403–410, 2013.

49.ABOUAITAH, Khaled; SABBAGH, Farzaneh; KIM, Beom Soo. Graphene oxide nanostructures as nanoplatfroms for delivering natural therapeutic agents: Applications in cancer treatment, bacterial infections, and bone regeneration medicine. **Nanomaterials (Basel, Switzerland)**, v. 13, n. 19, p. 2666, 2023.

50.KOOHI MOFTAKHARI ESFAHANI, Maedeh *et al.* Application of

- mesoporous silica nanoparticles in cancer therapy and delivery of repurposed anthelmintics for cancer therapy. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 8, p. 1579, 2022.
- 51.VIVERO-ESCOTO, Juan L.; ELNAGHEEB, Maram. Mesoporous silica nanoparticles loaded with cisplatin and phthalocyanine for combination chemotherapy and photodynamic therapy in vitro. **Nanomaterials (Basel, Switzerland)**, v. 5, n. 4, p. 2302–2316, 2015.
- 52.LYU, Xingyi *et al.* Synthesis and characterization of mesoporous silica nanoparticles loaded with Pt catalysts. **Catalysts (Basel, Switzerland)**, v. 12, n. 2, p. 183, 2022.
- 53.ZHOU, Peijie *et al.* Nanoparticle-based applications for cervical cancer treatment in drug delivery, gene editing, and therapeutic cancer vaccines. **Wiley Interdisciplinary Reviews. Nanomedicine and Nanobiotechnology**, v. 13, n. 5, p. e1718, 2021.
- 54.ARGYO, Christian *et al.* Multifunctional mesoporous silica nanoparticles as a universal platform for drug delivery. **Chemistry of Materials**, v. 26, n. 1, p. 435–451, 2014.
- 55.LI, Qianwen *et al.* Estrone-targeted PEGylated Liposomal nanoparticles for cisplatin (DDP) delivery in cervical cancer. **European Journal of Pharmaceutical Sciences: Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences**, v. 174, n. 106187, p. 106187, 2022.
- 56.TANG, Huan *et al.* Estrone-conjugated PEGylated liposome co-loaded paclitaxel and carboplatin improve anti-tumor efficacy in ovarian cancer and reduce acute toxicity of chemo-drugs. **International Journal of Nanomedicine**, v. 17, p. 3013–3041, 2022.
- 57.IBRAHIM, Wisam Nabeel; MUIZZUDDIN BIN MOHD ROSLI, Luqman; DOOLAANEA, Abd Almonem. Formulation, cellular uptake and cytotoxicity of thymoquinone-loaded PLGA nanoparticles in malignant melanoma cancer cells. **International Journal of Nanomedicine**, v. 15, p. 8059–8074, 2020.
- 58.PLUEDDEMANN, Edwin P. **Silane Coupling Agents**. Nova Iorque, NY, USA: Springer, 2014.
- 59.NTOLIA, Anastasia *et al.* A comprehensive physicochemical characterization of silver nanoparticles as a prerequisite for their successful biomedical applications. **Inorganics**, v. 13, n. 10, p. 341, 2025.
- 60.SCHWAB, Kevin. What's the difference between SEM & TEM?

- Nanoscience Instruments, 10 jan. 2024. Disponível em: <<https://www.nanoscience.com/blogs/whats-the-difference-between-sem-and-tem/>>. Acesso em: 8 jun. 2026
61. CARVALHO, Patrícia M. *et al.* Application of light scattering techniques to nanoparticle characterization and development. **Frontiers in Chemistry**, v. 6, p. 237, 2018.
62. JIA, Zixian *et al.* Dynamic light scattering: A powerful tool for in situ nanoparticle sizing. **Colloids and Interfaces**, v. 7, n. 1, p. 15, 2023.
63. STETEFELD, Jörg; MCKENNA, Sean A.; PATEL, Trushar R. Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences. **Biophysical Reviews**, v. 8, n. 4, p. 409–427, 2016.
64. PERKAMPUS, Heinz-Helmut; GRINTER, H. C.; THRELFALL, T. L. (ORGS.). **UV-VIS Spectroscopy and Its Applications**. [S.l.]: Springer My Copy UK, 1992.
65. WATHUDURA, Pathum *et al.* Expanding the horizons of UV-vis spectroscopy education: Beyond the Beer-Lambert Law. **Journal of Chemical Education**, v. 102, n. 6, p. 2389–2397, 2025.
66. EID, May M. Characterization of Nanoparticles by FTIR and FTIR-Microscopy. *In*: **Handbook of Consumer Nanoproducts**. Singapore: Springer Nature Singapore, 2022. p. 645–673.
67. PASIECZNA-PATKOWSKA, Sylwia; CICHY, Marcin; FLIEGER, Jolanta. Application of Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy in characterization of green synthesized nanoparticles. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 30, n. 3, p. 684, 2025.
68. CULLITY, B. D.; STOCK, S. R. **Elements of X-ray diffraction: International edition**. 3. ed. Upper Saddle River, NJ, USA: Pearson, 2003.
69. STRAIN, Jacob. **X-ray diffraction (XRD) – XRD principle, XRD analysis and applications**. Disponível em: <<https://www.technologynetworks.com/analysis/articles/x-ray-diffraction-xrd-xrd-principle-xrd-analysis-and-applications-404260>>. Acesso em: 8 jun. 2026.
70. SNYDER, Lloyd R.; KIRKLAND, Joseph J.; DOLAN, John W. **Introduction to Modern Liquid Chromatography**. 3. ed. Hoboken, NJ, USA: Wiley-Blackwell, 2009.
71. TSARENKO, Ekaterina; SCHUBERT, Ulrich S.; NISCHANG, Ivo.

Nanoparticle formulation composition analysis by liquid chromatography on reversed-phase monolithic silica. **Analytical Chemistry**, v. 95, n. 2, p. 565–569, 2023.

72.THOMMES, Matthias *et al.* Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 87, n. 9–10, p. 1051–1069, 2015.

73.USTINOV, Eugene A. Nitrogen adsorption on silica surfaces of nonporous and mesoporous materials. **Langmuir: The ACS Journal of Surfaces and Colloids**, v. 24, n. 13, p. 6668–6675, 2008.

74.SAI, M. Kavya; SRI, K. Bhavya; SUMAKANTH, Mogili. Inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy: Emerging trends and future directions. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 85, n. 9, 2025.

75.WANG, Qian; YANG, Zhenyu. Quantification of Si in silicone oils by F-OES. **Silicon**, v. 10, n. 1, p. 1–10, 2018.

76.FAULKNER, Rebecca A. *et al.* The surface of nanoparticle silicon as studied by solid-state NMR. **Materials**, v. 6, n. 1, p. 18–46, 2012.

77.LELLI, Moreno *et al.* Fast characterization of functionalized silica materials by silicon-29 surface-enhanced NMR spectroscopy using dynamic nuclear polarization. **Journal of the American Chemical Society**, v. 133, n. 7, p. 2104–2107, 2011.

78.BRAUN, Katharina *et al.* Comparison of different cytotoxicity assays for in vitro evaluation of mesoporous silica nanoparticles. **Toxicology in Vitro: An International Journal Published in Association With BIBRA**, v. 52, p. 214–221, 2018.

79.LAAKSONEN, Timo *et al.* Failure of MTT as a toxicity testing agent for mesoporous silicon microparticles. **Chemical Research in Toxicology**, v. 20, n. 12, p. 1913–1918, 2007.

80.VAN MEERLOO, Johan; KASPERS, Gertjan J. L.; CLOOS, Jacqueline. Cell sensitivity assays: the MTT assay. **Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)**, v. 731, p. 237–245, 2011.

81.ESMAEILI, Javad *et al.* Reliable kinetics for drug delivery with a microfluidic device integrated with the dialysis bag. **Molecular Pharmaceutics**, v. 20, n. 2, p. 1129–1137, 2023.

82. HUA, Susan. Comparison of in vitro dialysis release methods of loperamide-encapsulated liposomal gel for topical drug delivery. **International Journal of Nanomedicine**, v. 9, p. 735–744, 2014.
83. SHEN, Jie; BURGESS, Diane J. In vitro dissolution testing strategies for nanoparticulate drug delivery systems: Recent developments and challenges. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 3, n. 5, p. 409–415, 2013.
84. CHEN, Shasha *et al.* Direct observation of nanoparticles within cells at subcellular levels by super-resolution fluorescence imaging. **Analytical Chemistry**, v. 91, n. 9, p. 5747–5752, 2019.
85. PALIWAL, Shivani Rai *et al.* A novel cancer targeting approach based on estrone anchored stealth liposome for site-specific breast cancer therapy. **Current Cancer Drug Targets**, v. 10, n. 3, p. 343–353, 2010.
86. DE SOUZA GUIMARAES, Marina. **Desenvolvimento e caracterização de lipossomas peguilados para veiculação de L-asparaginase**. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9135/tde-29072022-173525/publico/Marina_de_Souza_Guimaraes_ME_Corrigida.pdf>. Acesso em: 8 jun. 2026.
87. **Cisplatina E Transplatina PNG - Cisplatina E Transplatina Moléculas Estrutura Química ilustração transparente**. Disponível em: <<https://www.gratispng.com/png-wibthb/>>. Acesso em: 8 jun. 2026.
88. CALDAS, Bárbara. **Tipos de nanopartículas (NPs) Sistemas de carregamento de substâncias podem assumir muitos perfis e formatos, por exemplo micelas, vesículas, nanocápsulas, nanoesferas, nanotubos, dendrímeros, além disso estes podem ser flexíveis ou não, solúveis ou insolúveis em meio aquoso e tem sido desenvolvidos**. Disponível em: <<https://pt.linkedin.com/pulse/nanopart%C3%ADculas-auto-organizadas-para-encapsulamento-e-b%C3%A1rbara-caldas>>. Acesso em: 8 jun. 2026.
89. DA SILVEIRA, Clarice Emilia. **Estudo da conjugação de nanopartículas de ouro (AuNP) com fluoróforos orgânicos derivados do borodipirrometeno (BODIPY)**. Disponível em: https://sappg.ufes.br/tese_drupal/tese_15319_Disserta%E7%E3o%20Final%20-%20Clarice%20Emilia%20da%20Silveira.pdf>. Acesso em: 8 jun. 2026.
90. WASHINGTON LUIZ ESTEVES MAGALHÃES EMANOELA LUNDGREN THÁ DANIELA MORAIS LEME. **Método de determinação de concentrações não citotóxicas para avaliação da capacidade protetora da lignina contra danos ao DNA**. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1104215/1/CT4271572final2.pdf>>. Acesso em: 8 jun. 2026.

