

## 4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 4.1. Câncer

#### 4.1.1. Definição

Câncer é o termo comum para todos os tumores malignos. O nome é dado a um conjunto de doenças que têm em comum o crescimento desordenado de células que invadem os tecidos e órgãos, podendo espalhar-se para outras regiões do corpo<sup>2</sup>. Dividindo-se rapidamente, estas células tendem a ser muito agressivas e incontroláveis, determinando a formação dos chamados tumores ou neoplasias malignas. (INCA, 2012)

O câncer é considerado o resultado de anormalidades acumuladas e/ou inerentes, levando a sobrevivência celular prolongada, resistência à morte e uma alta capacidade de proliferação, mesmo que cada tipo seja sutilmente diferente.

O câncer pode ser causado por diversos fatores, chamados fatores de risco. Esses podem ser: fatores internos, como o envelhecimento, mutações inerentes, hormônios, condições imunológicas e fatores externos, como tabaco, álcool, radiação ionizante, organismos infecciosos (vírus e bactérias), dieta pobre e falta de atividades físicas. A incidência dos diferentes tipos de câncer depende de fatores como geografia, sexo, cultura alimentar entre outros.

As principais medidas para o seu controle são: i) prevenção, ii) diagnóstico precoce e iii) tratamento efetivo. A prevenção baseia-se na redução ou eliminação dos fatores de risco; o diagnóstico precoce busca a detecção de mudanças pré-câncer ou estágios iniciais quando o câncer ainda pode ser tratado mais efetivamente; e o tratamento efetivo baseia-se na escolha da terapia mais eficiente

---

<sup>2</sup> N.A. O espalhamento do câncer para outras regiões do corpo é denominado de metástase.

para o tipo de câncer. O tratamento do câncer inclui a cirurgia, a quimioterapia, a radioterapia, a utilização de hormônios e a imunoterapia. (Garcia, 2007)

#### **4.1.2. Estatística**

Conhecido há décadas, o câncer sempre foi considerado como uma doença de maior incidência nos países desenvolvidos e com grandes recursos financeiros. Porém, há aproximadamente duas décadas, esse cenário vem mudando, e grande parte do ônus global do câncer pode ser observada em países em desenvolvimento, principalmente aqueles com poucos e médios recursos. Assim, nas últimas décadas, o câncer ganhou uma dimensão maior, convertendo-se em um evidente problema de saúde pública mundial. A Organização Mundial da Saúde estima que, no ano 2030, podem-se esperar 27 milhões de casos de câncer, com 17 milhões de mortes por câncer e 75 milhões de pessoas vivendo com a doença. (WHO, 2008)

Mesmo com os bilhões de dólares gastos no mundo inteiro com pesquisas relacionadas, ele continua sendo uma grande causa de morte no mundo inteiro. Dados da World Health Organization, órgão da ONU mostrados na tabela 1 (WHO, 2008), demonstram que o câncer mata aproximadamente 7 milhões de pessoas por ano e é a terceira maior causa de morte no mundo atrás das doenças cardiovasculares e das doenças infecto-parasitárias. Uma em cada oito mortes no mundo é devido ao câncer, o que corresponde a aproximadamente 13 % das mortes mundiais.

Tabela 1 – Principais causas de morte no mundo em 2008 (em milhares), segundo a WHO, 2008.

<b>CAUSAS</b>	<b>Nº de MORTES</b>	<b>% TOTAL</b>
TOTAL DE MORTES	56,888	100,0
DOENÇAS CARDIOVASCULARES	17,327	30,5
DOENÇAS INFECTO-PARASITÁRIAS	8,721	15,3
<b>NEOPLASIAS MALÍGNAS</b>	<b>7,583</b>	<b>13,3</b>
DOENÇAS RESPIRATÓRIAS	4,234	7,4
LESÕES NÃO INTENSIONAIS	3,619	6,4
INFECÇÕES RESPIRATÓRIAS	3,534	6,2
CONDIÇÕES PERINATAIS	2,603	4,6
DOENÇAS DIGESTIVAS	2,206	3,9
LESÕES INTENCIONAIS	1,510	2,7
DESORDENS PSIQUIÁTRICAS	1,310	2,3
<i>DIABETES MELLITUS</i>	1,256	2,2
DOENÇAS DO SISTEMAS GENITOURINÁRIO	1,022	1,8
ANORMALIDADES CONGÊNITAS	428	0,8
DEFICIÊNCIAS NUTRICIONAIS	418	0,7
CONDIÇÕES MATERNAS	361	0,6
DESORDENS NUTRICIONAIS/ENDÓCRINAS	318	0,6
OUTROS NEOPLASMAS	188	0,3

Em países com grande volume de recursos financeiros, ditos países desenvolvidos, predominam os cânceres de pulmão, mama, próstata e cólon. Em países com baixos e médios recursos, os cânceres predominantes são os de estômago, fígado, cavidade oral e colo do útero. Mesmo na tentativa de se criar padrões mais característicos de países ricos em relação aos países de baixas e médias rendas, o paradigma está mudando rapidamente, e vem se observando um aumento progressivo nos cânceres de pulmão, mama e cólon e reto, os quais, historicamente, não apresentavam essa magnitude. (INCA, 2011)

Tabela 2 – Estimativas para o ano de 2012 das taxas brutas de incidência por 100 mil habitantes e de número de casos novos por câncer, segundo sexo e localização primária (INCA, 2011).

Localização Primária Neoplasia Maligna	Estimativa dos Casos Novos							
	Homens				Mulheres			
	Estados		Capitais		Estados		Capitais	
	Casos	Taxa Bruta	Casos	Taxa Bruta	Casos	Taxa Bruta	Casos	Taxa Bruta
Próstata	60.180	62,54	15.660	75,26	-	-	-	-
Mama Feminina	-	-	-	-	52.680	52,50	18.160	78,02
Colo do Útero	-	-	-	-	17.540	17,49	5.050	21,72
Traqueia, Brônquio e Pulmão	17.210	17,90	4.520	21,85	10.110	10,08	3.060	13,31
Cólon e Reto	14.180	14,75	4.860	23,24	15.960	15,94	5.850	25,27
Estômago	12.670	13,20	3.200	15,34	7.420	7,42	2.170	9,47
Cavidade Oral	9.990	10,41	2.760	13,34	4.180	4,18	1.130	4,92
Laringe	6.110	6,31	1.540	7,56	-	-	-	-
Bexiga	6.210	6,49	1.900	9,28	2.690	2,71	880	3,72
Esôfago	7.770	8,10	1.500	7,26	2.650	2,67	520	2,27
Ovário	-	-	-	-	6.190	6,17	2.220	9,53
Linfoma não Hodgkin	5.190	5,40	1.560	7,66	4.450	4,44	1.560	6,85
Glândula Tireoide	-	-	-	-	10.590	10,59	3.490	14,97
Sistema Nervoso Central	4.820	5,02	1.190	5,82	4.450	4,46	1.200	5,23
Leucemias	4.570	4,76	1.180	5,81	3.940	3,94	1.180	5,02
Corpo do Útero	-	-	-	-	4.520	4,53	1.700	7,39
Pele Melanoma	3.170	3,29	810	4,05	3.060	3,09	790	3,46
Outras Localizações	43.120	44,80	11.100	53,33	38.720	38,61	10.320	44,50
<b>Subtotal</b>	<b>195.190</b>	<b>202,85</b>	<b>51.780</b>	<b>248,60</b>	<b>189.150</b>	<b>188,58</b>	<b>59.280</b>	<b>254,86</b>
Pele não Melanoma	62.680	65,17	14.620	70,39	71.490	71,30	15.900	68,36
<b>Todas as Neoplasias</b>	<b>257.870</b>	<b>267,99</b>	<b>66.400</b>	<b>318,79</b>	<b>260.640</b>	<b>259,86</b>	<b>75.180</b>	<b>323,22</b>

As estimativas feitas pelo INCA apresentadas na tabela 2 para o ano de 2012 no Brasil apontam a ocorrência de aproximadamente 518.510 novos casos de câncer, incluindo os casos de câncer de pele não melanoma, reforçando a magnitude do problema do câncer no país. Sem os casos de câncer da pele não melanoma, estima-se um total de 385 mil casos novos. É esperado um total de 257.870 novos casos para o sexo masculino e 260.640 para o sexo feminino. Confirmando-se a estimativa que o câncer da pele do tipo não melanoma (134 mil casos novos) será o mais incidente na população brasileira, seguido pelos tumores de próstata (60 mil), mama feminina (53 mil), cólon e reto (30 mil), pulmão (27 mil), estômago (20 mil) e colo do útero (18 mil).

Na figura 2, estão listados os cinco tipos de tumores mais incidentes para o sexo masculino, que são o câncer de pele não melanoma (63 mil casos novos), próstata (60 mil), pulmão (17 mil), cólon e reto (14 mil) e estômago (13 mil). Para o sexo feminino, destacam-se, entre os cinco mais incidentes, os tumores de pele não melanoma (71 mil casos novos), mama (53 mil), colo do útero (18 mil), cólon e reto (16 mil) e pulmão (10 mil). (INCA, 2011)



Localização primária			casos novos	percentual			Localização primária			
	Próstata	60.180	30,8%	Homens		Mulheres		Mama Feminina	52.680	27,9%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	17.210	8,8%	Colo do Útero					17.540	9,3%	
Cólon e Reto	14.180	7,3%	Cólon e Reto					15.960	8,4%	
Estômago	12.670	6,5%	Glândula Tireoide					10.590	5,6%	
Cavidade Oral	9.990	5,1%	Traqueia, Brônquio e Pulmão					10.110	5,3%	
Esôfago	7.770	4,0%	Estômago					7.420	3,9%	
Bexiga	6.210	3,2%	Ovário					6.190	3,3%	
Laringe	6.110	3,1%	Corpo do Útero					4.520	2,4%	
Linfoma não Hodgkin	5.190	2,7%	Linfoma não Hodgkin					4.450	2,4%	
Sistema Nervoso Central	4.820	2,5%	Sistema Nervoso Central					4.450	2,4%	

Figura 2 – Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2012 por sexo, exceto pele não melanoma. (INCA, 2011).

## 4.2. Radiofármacos

Os radiofármacos são medicamentos emissores de radiação e podem ser utilizados na medicina para radioterapia e para exames de diagnóstico por imagem na medicina nuclear. São compostos por dois componentes principais: o carreador (partícula) e o radionuclídeos ou radioisótopos (elemento radioativo). A eficácia dos radiofármacos está diretamente relacionada tanto à escolha do carreador quanto ao radioisótopo empregados. (Liu, 2004)

Atualmente, diversos radiofármacos vêm sendo utilizados tanto para o diagnóstico como para o tratamento do câncer. Aproximadamente 40 desses compostos são utilizados para imagem em medicina nuclear, gerando um volume de exames correspondente a 80% da rotina clínica de um serviço de medicina nuclear, o que corresponde a aproximadamente 2 milhões de procedimentos por ano somente nos Estados do Rio de Janeiro e São Paulo. (INCA, 2012)

A utilização de radiofármacos para imagem na medicina nuclear permite o mapeamento da função fisiológica dos órgãos e de suas atividades metabólicas de um modo pouco invasivo, gerando assim, informações mais específicas sobre possíveis disfunções, por isso possui papel importante no diagnóstico de diversas doenças associadas ao mau funcionamento do órgão.

As técnicas de imagem na medicina nuclear são variadas, contudo as mais comumente utilizadas são: tomografia de emissão de pósitrons (PET) que detecta os raios  $\gamma$  (gama) emitidos pelo processo de aniquilação do pósitron pelos radioisótopos, essa pode estar integrada com um tomógrafo computadorizado

(PET/CT); e a cintilografia, onde um radiofármaco é injetado em um paciente e a radiação  $\gamma$  (gama) é contada por gama-câmara, que gera imagens funcionais dos órgãos de acordo com a biodistribuição do radiofármaco.

Os radiofármacos utilizados para diagnóstico devem possuir características importantes para que sejam utilizados na clínica, dentre elas: serem facilmente disponíveis; possuir meia-vida efetiva curta (aproximadamente 8 horas); não apresentar decaimento por emissão  $\alpha$  ou  $\beta$  (utilizados apenas na terapia); e possuir biodistribuição onde atinja preferencialmente/exclusivamente os órgãos pretendidos.

Já o efeito terapêutico dos radiofármacos deve-se à absorção pelo tecido tumoral das radiações  $\alpha$  ou  $\beta$  emitidas pelos radioisótopos. O radiofármaco ideal para a terapia é aquele que atinge o alvo correto sem que a radiação atinja o tecido sadio, garantindo maior eficiência e diminuindo os efeitos colaterais e tóxicos associados à radiação. (Hamoudeha, 2008)

Os efeitos adversos e eficácia limitada de alguns radiofármacos podem ser atribuídos à sua alta de especificidade ao alvo terapêutico. Portanto, nas últimas décadas, esforços mundiais vêm sendo realizados na pesquisa das propriedades físico-químicas dos radiofármacos, nos mecanismos de captação celular que possam levar a novas estratégias terapêuticas e no desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos (DDS) que possam transportar radiofármacos e/ou agentes antineoplásicos efetivamente para os sítios alvos (células ou tecidos) especificamente e liberá-los controladamente sem atingir as células saudáveis, superando as limitações da quimioterapia convencional. (Slowing, 2008)

O desenvolvimento de novos micro- e nano-carreadores para a radioterapia e para o diagnóstico do câncer também vem sendo estudado, com o objetivo de buscar maior eficiência na biodistribuição do radiofármaco nos tecidos e células tumorais. A escolha do carreador ideal é feita de acordo com o seu perfil de biodistribuição, isto é, acumulação em determinado órgão, ou participação na fisiologia do órgão. A biodistribuição de carreadores pode ser explicada por diferentes mecanismos de internalização celular, como a difusão passiva, transporte ativo, fagocitose, ligação a receptor e bloqueio capilar.

O desenvolvimento de novos carreadores para radiofármacos deve levar em conta fatores como:

- Possibilidade de marcação com o radioisótopo;
- Estequiometria carreador/radioisótopo bem definida;
- Solubilidade em meio fisiológico;
- Tamanho;
- Ligação a proteínas plasmáticas;
- Estabilidade *in vivo*;
- Biodistribuição.

As tendências modernas da química radiofarmacêutica também se concentram na associação de carreadores e moléculas biologicamente ativas tais como o ácido fólico, peptídeos, esteróides, aptâmeros e outras espécies com atração por receptores específicos presentes em células tumorais. (Sudimack, 2000 e Trikha, 2002) Por esta razão é necessário conhecer bem a química de coordenação dos metais de transição, especialmente no que diz respeito às esferas de coordenação estáveis ou inertes que possibilitem o acoplamento as biomoléculas, de acordo com a estratégia de formação de bioconjugados. (Abram, 2006)

Existem cerca de 2700 radioisótopos que são produzidos artificialmente em cíclotrons ou reatores. Como exemplo tem o Gálio-67, Iodo-123 (longa meia-vida), Carbono 11, Nitrogênio-13, Oxigênio-15, Flúor-18 (curta meia-vida), Iodo-131 e o Tecnécio-99m.

Os radiofármacos à base do radioisótopo tecnécio-99m ( $^{99m}\text{Tc}$ ) tornaram-se nos últimos 30 anos importantes ferramentas para o diagnóstico de diversas doenças ou disfunções de órgãos e sistemas que compõem o corpo humano, principalmente o câncer. (Dewanjee, 1990) São 25 isótopos e 10 isômeros do Tecnécio e 80% dos radiofármacos utilizados para imagem na medicina nuclear são marcados com o radioisótopo  $^{99m}\text{Tc}$ . (Welch and Redvanly, 2003)

Como membro do sétimo grupo da tabela periódica, o Tecnécio (número atômico 43) possui uma química de coordenação bem rica, conferindo-o 8 estados de oxidação possíveis, de -1 a +7, que resultam na perda de elétrons nos orbitais

4d e/ou 5s ou ganho de um elétron no orbital 4d . Há vários ligantes que podem garantir estabilidade aos estados de oxidação do tecnécio, que abrangem desde doadores de elétrons como ligantes oxo e imio, até sistemas puxadores de elétron, como carbonilas e isocianidos. Os estados de oxidação que apresentam maior estabilidade são +4 e +7 e existem na forma de óxidos, pertecnetatos, sulfetos e haletos. Uma das maiores limitações para o desenvolvimento de radiofármacos a base de  $^{99m}\text{Tc}$  é que ele é um metal de transição, o que dificulta sua química de marcação e não pode ser diretamente substituído por átomos de hidrogênio em carreadores, pois os produtos são geralmente instáveis.

Apesar do tecnécio não possuir isótopos estáveis na natureza, a química desse elemento artificial é bem explorada. O progresso no desenvolvimento da química do tecnécio é diretamente relacionado ao amplo uso dos compostos de  $^{99m}\text{Tc}$  na medicina nuclear e a busca permanente por novos compostos com melhores propriedades químicas e farmacêuticas. (Abram, 2006)

A utilização do  $^{99m}\text{Tc}$  como principal radioisótopo se deve a diversos fatores, dentre eles o mais importante é o seu decaimento mono-energético com raios-gama (raios  $\gamma$ ) de 140 keV, que são eficientemente detectados por câmaras cintilográficas. A emissão pura de 140 KeV é suficientemente baixa para não causar danos ao paciente, mas suficientemente alta para penetrar nos tecidos biológicos e atingir os órgãos internos (Abram, 2006). Não obstante, a meia-vida de seis horas e a quantidade insignificante de radiação penetrante favorecem a dosimetria no paciente e a manipulação química necessária para a preparação dos radiofármacos. Além disso, são facilmente produzidos em geradores  $^{99}\text{Mo}$ - $^{99m}\text{Tc}$ . (Welch and Redvanly, 2003)

O princípio básico para a preparação de radiofármacos marcados com o  $^{99m}\text{Tc}$  começa pelo decaimento por emissão  $\beta$  do isótopo instável  $\text{Mo}^{99}$ , em que 87% desse decaimento gera o estado metaestável do tecnécio (Tecnécio-99m -  $^{99m}\text{Tc}$ ), que é um emissor de raios  $\gamma$ . O  $^{99m}\text{Tc}$  é eluído do gerador  $^{99}\text{Mo}$ - $^{99m}\text{Tc}$  com solução salina na forma de pertecnetato de sódio ( $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ ). O íon pertecnetato possui configuração de tetraedro piramidal, com o  $^{99m}\text{Tc}$  - estado de oxidação +7 - localizado no centro, ligado a 4 átomos de oxigênio. Quimicamente, o íon pertecnetato ( $\text{TcO}_4^-$ ) é uma espécie não reativa e, portanto, não marca nenhum



composto por simples adição. Portanto, para a marcação com o  $^{99m}\text{Tc}$ , deve-se diminuir o estado de oxidação da espécie com a adição de agentes redutores, como o cloreto estânico ( $\text{SnCl}_2$ ) – mais utilizado, ácido clorídrico ( $\text{HCl}$ ) e borohidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ) e incubando-se pelo tempo necessário. O  $^{99m}\text{Tc}$  é reduzido a +4 e +5, principalmente, mas espécies com números de oxidação que variam de +1 a +6 também podem ser formadas. A variação do estado de oxidação permite diversas geometrias estruturais, proporcionando ao tecnécio, uma química rica que pode ser explorada para sintetizar uma ampla gama de complexos. (Welch and Redvanly, 2003) As espécies reduzidas tornam-se reativas e passíveis de ligação covalente com uma ampla gama de agentes quelantes ou ligantes de coordenação, usualmente com grupos doadores de par de elétrons, como  $-\text{COO}^-$ ,  $-\text{OH}^-$ ,  $-\text{NH}_2$ , e  $-\text{SH}$ . Os estados de oxidação dos complexos de  $^{99m}\text{Tc}$  são difíceis de serem determinados.

Na prática clínica, a preparação dos radiofármacos é feita por meio de kits que possuem as quantidades apropriadas de misturas do carreador (ligante), agentes redutores, estabilizantes e catalisadores para posterior marcação com o Tc-99m. A metodologia de marcação precisa ser otimizada para que possua rendimento e pureza acima de 95%, esterilidade e apirogenicidade. (Abram, 2006)

O uso do tecnécio em exames de imagens na medicina nuclear já é bem estabelecido, principalmente em imagens ósseas, já que ele se liga com grande afinidade pela matriz óssea inorgânica, formada principalmente por hidroxiapatita. (Batholoma, 2009 e Gasser, 2010) Os compostos de fosfatos e fosfonatos marcados com o  $^{99m}\text{Tc}$  são largamente utilizados como agentes de diagnóstico para imagens de tumores e infecções ósseas. (El-Mabhouh, 2006) Porém, os fosfonatos são mais estáveis que os fosfatos *in vivo*, devido à ligação P-O-P do fosfato, que pode ser quebrado facilmente por fosfatases, enquanto a ligação P-C-P dos fosfonatos não. (El-Mabhouh, 2006) Por essa razão, complexos marcados com  $^{99m}\text{Tc}$  são mais comumente utilizados para exames de imagem. Os principais compostos utilizados são o hidróxietilideno difosfonato (HEDP), o metileno difosfonato (MDP) e o hidróximetileno difosfonato (HMDP ou HDP) estão apresentados na figura 3. (Saha, 2003)

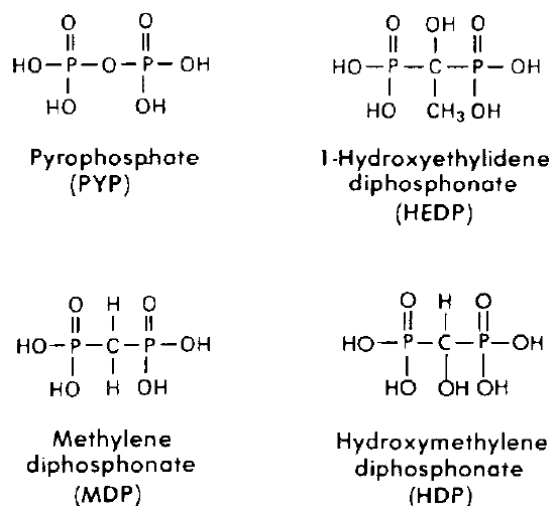


Figura 3 – Estruturas de diferentes fosfatos e fosfonatos utilizados na radiofarmácia. (Saha, 2003)

A presença de átomos de oxigênio não coordenados nos grupos fosfato permite um mecanismo para absorção dos complexos na superfície recém-formada da hidroxiapatita óssea. Assim, os complexos de  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  podem agir como ligantes de íons  $\text{Ca}^{2+}$  da hidroxiapatita formada durante a gênese dos componentes minerais do novo tecido ósseo. Mesmo com esforços para determinação das características estruturais dos complexos de tecnécio com grupos fosfato, há pouca informação disponível. Sabe-se, porém, que os bifosfatos podem agir como ligantes bidentados e podem fazer uma ponte entre dois metais de transição como no caso da ligação no  $\text{Ca}^{2+}$  no osso. (Cuenca, 2006)

### 4.3. Sistemas de liberação (DDS)

Diversos tipos de sistemas biocompatíveis formulados a partir de materiais com estruturas únicas já foram descritos para serem utilizados como sistemas de liberação, como: Lipossomas, gelatinas nanoparticuladas, micelas, dendrímeros, quantum dots (QD), nanocápsulas, nanopartículas de ouro, nanopartículas paramagnéticas, nanotubos de carbono (Cuenca, 2006) e substâncias mesoporosas (Pasqua, 2007; Wang, 2009; Izquierdo-Barba, 2009; Vallet-Regi, 2010; e Al-Kady, 2011). (Figuras 4)



Figura 4 – Diferentes sistemas de liberação de agentes bioativos já descritos. (Faraji, 2009)

As principais vantagens que podem ser obtidas com a utilização de DDS para a liberação de agentes bioativos são:

- Aumento da solubilidade dos agentes bioativos;
- Proteção dos agentes bioativos contra a degradação;
- Liberação prolongada e controlada dos agentes bioativos numa taxa específica, mantendo sua concentração na faixa terapêutica por tempo predeterminado;
- Melhoria da farmacocinética dos agentes bioativos com meias-vida pequenas *in vivo*;
- Melhoria da biodisponibilidade;
- Atingir um sítio alvo específico;
- Diminuição dos efeitos colaterais e a toxicidade;
- Diversificação dos modos de administração;
- Conjugação com agentes direcionadores como anticorpos monoclonais, aptâmeros, ácido fólico para direcioná-los mais efetivamente e convenientemente para o alvo terapêutico.

Andresen (2005) ressalta que os três requisitos básicos para o sucesso da liberação de fármacos de forma direcionada e seletiva para o tecido tumoral são:

(i) circulação sanguínea prolongada, (ii) acumulação de quantidade suficiente no tumor (biodistribuição), (iii) liberação controlada do fármaco e captura (acúmulo) pelas células tumorais com um perfil de liberação condizente com a farmacodinâmica do fármaco. Para atingir esses requisitos, os DDS devem possuir as seguintes características: (Slowing, 2008)

- Biocompatibilidade;
- Grande capacidade de carga do agente bioativo;
- Não permitir o vazamento do fármaco prematuramente;
- Especificidade e habilidade de direcionamento para determinado tipo de célula ou tecido;
- Liberação controlada do fármaco numa taxa apropriada para atingir a concentração adequada;
- Tamanhos de 10 a 100 nm de diâmetro.

O tamanho entre 10 e 100 nm de diâmetro é importante para que os DDS possam penetrar as barreiras fisiológicas de forma eficiente, permeando desde os pequenos capilares até as células, permitindo a acumulação do fármaco exclusivamente no sítio alvo. Assim, os efeitos colaterais e a toxicidade do agente terapêutico ficam reduzidos e a eficácia terapêutica aumentada. (Sahay, 2010)

Na terapia de diversas enfermidades, há uma pequena disponibilidade de DDS biocompatíveis para associação, por exemplo, com antineoplásicos hidrofóbicos e alterações nas características físico-químicas desses antineoplásicos (por exemplo, transformá-los em um sal) normalmente causam modificações tanto na atividade antineoplásica como em seu perfil toxicológico. Portanto, é particularmente importante o desenvolvimento de DDS que melhorem a solubilidade dos antineoplásico em água, já que a baixa hidrossolubilidade impede a administração intravenosa desses fármacos. (Lu, 2007)

#### 4.4. Sílicas mesoporosas e sistemas $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$

De acordo com a definição da IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), os materiais porosos podem ser classificados de acordo com o tamanho dos poros: microporosos ( $\leq 20 \text{ \AA}$ ); mesoporosos (20 a  $500 \text{ \AA}$ ) e macroporosos ( $> 500 \text{ \AA}$ ).

As sílicas mesoporosas possuem diversas características que justificam sua utilização em diversos campos, como distribuição de poros estreita e uniforme, grande área específica, estrutura altamente regular e possibilidade de se ajustar o volume e tamanho dos poros e, por isso, vêm sendo aplicadas em diversos campos, como na catálise (Taguchi, 2005), adsorção (Lin, 2005), biocerâmicas (Izquierdo-Barba, 2005 e Díaz, 2006) e nos últimos 12 anos como sistemas para liberação de fármacos (DDS). (Ponder, 2001; Qu, 2006; Lu, 2007; e Yu, 2009)

O primeiro material mesoporoso ordenado foi descrito e patenteado por Chiola, 1971, porém as propriedades não foram reconhecidas na época pela falta de técnicas físico-químicas adequadas para a caracterização do material.

Em 1992, cientistas da Mobil Corporation sintetizaram a MCM-41, material altamente ordenado hexagonalmente com poros unidimensionais e com estreita distribuição de tamanho de poros, contudo com as paredes formadas por sílica amorfa. (Kresge, 1992 e Beck, 1992) Desde então, diversos procedimentos para a síntese e caracterização desses tipos de materiais vêm sendo descritos. (Meynen, 2009)

A incorporação de fosfatos de cálcio na estrutura das sílicas mesoporosa formando sistemas do tipo  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  ordenados que se aproveitassem das características das sílicas mesoporosas e dos fosfatos de cálcio também vem sendo estudadas e já demonstraram poder melhorar a biocompatibilidade, bioatividade e biodistribuição das sílicas.

Os fosfatos de cálcio podem ser classificados de acordo com a sua razão molar Ca/P, que pode variar de 0,5 a 2,0. A hidroxiapatita (HAP) é o fosfato de cálcio mais estudado, com razão Ca/P igual a 1,67 (hidroxiapatita estequiométrica). É a fase mineral dos ossos e dos dentes, que é responsável por

fornecer estabilidade estrutural ao corpo, protegendo órgãos vitais como pulmões e coração e funcionando como um depósito regulador de íons. (Kawachi, 2000)

Os fosfatos de cálcio, principalmente a hidroxiapatita, são utilizados em diversos ramos da biomedicina (Kumta, 2005), pois apresentam propriedades interessantes como bioatividade, biocompatibilidade, osteocondutividade e comportamento não inflamatório. (Sopyan, 2007) Essas propriedades podem ser explicadas pela natureza química destes materiais que são formados basicamente por íons cálcio e fosfato, e conseqüentemente, podem participar ativamente do equilíbrio iônico entre o fluido biológico e o tecido ósseo. Devido a essas características peculiares, a hidroxiapatita pode ser utilizada como DDS. (Szymura-Oleksiak, 2001; Burgos, 2002; Kumta, 2005; Zamoume, 2011; e Son, 2011)

Os materiais de fosfato de cálcio e também as sílicas mesoporosas, mesmo que em menor escala, apresentam bioatividade, isto é, induzem uma resposta biológica específica na superfície do material quando estão em contato com fluido corporal simulado (SBF) ou em contato com o plasma *in vivo*, formando uma camada do tipo apatita (*apatita-like*). (Izquierdo-Barba, 2005) A camada tipo apatita permite uma maior capacidade de interação entre o material e os tecidos, que é resultado de um complexo processo de dissolução, policondensação e readsorção que envolve espécies orgânicas e inorgânicas. (Hench, 1972; López-Noriega, 2006; e Xia, 2006) O produto da reação entre o material e o sistema biológico é uma apatita, que junto com alguns direcionadores biológicos (*drivers*), podem ajudar na formação da matriz óssea e no crescimento ósseo. A resposta dos fosfatos de cálcio e sílicas mesoporosas *in vivo* depende de diversos fatores, como sua composição, cristalinidade, tamanho de partícula, porosidade e espessura.

Pereira, 1996; Hench; 1998, Polak, 2002, Savaranapavan, 2003 já demonstraram que materiais com maiores áreas específicas, partículas mais negativamente carregadas e partículas com poros entre 2 a 50 nm apresentam maior velocidade de formação da camada tipo apatita. Enquanto que Phan, 2003 e Porter, 2004 demonstraram que a presença de sílica em materiais de fosfatos de cálcio aumenta a bioatividade se comparados a fosfatos de cálcio sem sílica. Assim como Andersson, 2005, que demonstrou que um sistema com

hidroxiapatita recoberta com uma camada de sílica mesoporosa, também apresentam bioatividade superior a outros fosfatos de cálcio e/ou a sílicas mesoporosas.

Patel, 2002 e Porter, 2004 demonstraram que a substituição de grupos fosfato por grupos silicato na hidroxiapatita aumenta a bioatividade do material, o que é atribuído ao efeito dos íons silicato em acelerar o processo de dissolução. O mapeamento da composição sugeriu que o silício dissolve-se preferencialmente do material Si-HA, que contém silício e hidroxiapatita e estimula a nucleação do carbonato da apatita ao redor do material.

#### **4.4.1. Síntese**

A síntese dos materiais mesoporosos contém basicamente quatro componentes: o precursor inorgânico que forma a parede inorgânica com a matriz de sílica amorfa, o surfactante (molécula orgânica) através do qual se dá a montagem e formação da mesofase e o meio de reação (solvente, pH). As estruturas dos mesoporos, os tamanhos e volumes dos poros, as áreas específicas e a morfologia das partículas vão depender das interações complexas entre esses componentes (figura 5). Os principais processos que definem a estrutura que será formada são: a automontagem das moléculas do surfactante que formam estruturas organizadas que servem como modelo; a química sol-gel que gera a rede inorgânica; e a interação na interface entre o modelo formado e os oligômeros inorgânicos que vão sendo formados. As interações entre os componentes podem ocorrer por meio de interações eletrostáticas, ligações de hidrogênio e interações de Van der Waals entre os agentes direcionadores (surfactantes), as moléculas anfifílicas e o meio de reação. Tipicamente, esses materiais são sintetizados sob condições em que a incorporação da sílica com o surfactante ocorre simultaneamente com a condensação da espécie inorgânica, gerando compostos mesocopicamente ordenados, mas cuja matriz é amorfa. Como exemplo de sílicas mesoporosas, temos a SBA-15, MCM-41 e a HMS.

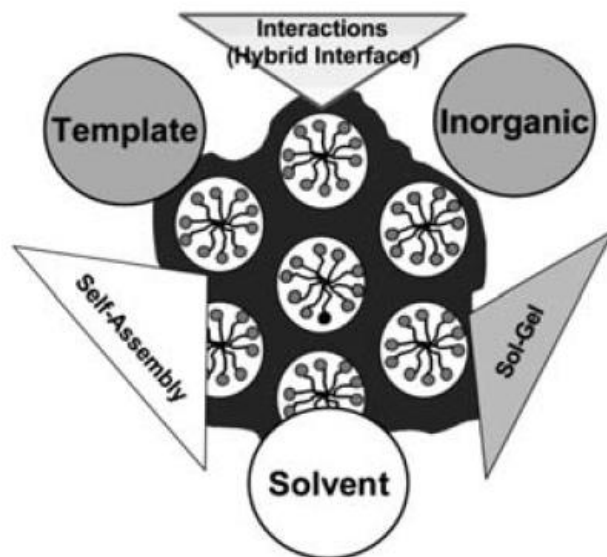


Figura 5 - Interações entre os componentes envolvidos na síntese e formação do sistema mesoporoso.

A síntese desses materiais pode ser dividida em dois estágios principais: (i) formação da fase líquido-cristal orgânica-inorgânica (mesofases), que resulta da automontagem do surfactante e das espécies inorgânicas polimerizáveis (condensáveis) nas condições da síntese; (ii) remoção do surfactante da mesoestrutura por calcinação em altas temperaturas ou por extração com solvente, resultando na formação dos mesoporos.

Zhao, 1998 e 2000 sintetizou a sílica mesoporosa SBA-15 com estrutura altamente ordenada 2D hexagonal com grupo espacial  $p6mm$  utilizando o copolímero tribloco orgânico não iônico ( $EO_x PO_y EO_x$ ) ( $S^0$ ) como agente direcionador de estrutura em meio ácido. As partículas de SBA-15 podem apresentar uma grande variedade de morfologia: filme, esfera, fibra e esfera oca, dependendo das condições de síntese (pH, temperatura, tempo), do precursor inorgânico (TEOS, TMOS); do cosolvente (DMF, THF), dos sais inorgânicos (NaCl, LiCl) e dos surfactante (CTAB, P-123). A interface das interações durante a síntese se dá por meio de ligações de hidrogênio, com o mecanismo  $[(S^0H^+)(X^- I^+)]$ , isto é, surfactante não iônico ( $S^0$ ) em meio ácido ( $H^+$ ), com a possível presença de um contra íon ( $X^-$ ) e o precursor de sílica catiônico ( $I^+$ ). Além dos mesoporos, a SBA-15 também possui microporos na estrutura, formados a partir da inserção dos blocos hidrofílicos laterais EO (PEO) do surfactante nas paredes



de sílica. A remoção do surfactante pode ser realizada em temperaturas altas por calcinação ou por extração com etanol ou outros solventes orgânicos.

Em 2005, Onida precipitou sílica mesoporosa no interior de um material macroporoso formando um sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-K}_2\text{O}$ , otimizando a bioatividade e aumentando a capacidade adsorptiva pelo ibuprofeno.

Também em 2005, Vallet-Regí sintetizou a MCM-41 dopada com fósforo por tratamento hidrotérmico em pH básico com adição dos precursores de silício e fósforo baseado em prévias caracterizações por espectroscopia Raman e RMN que demonstraram a presença de ligações P-O-Si. O material apresentou maior bioatividade, o que está diretamente ligado à incorporação do fósforo no material.

Diaz, 2006 sintetizou um material baseado na precipitação de hidroxiapatita no interior dos mesoporos da SBA-15 em um procedimento de duas etapas. O novo sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  manteve a estrutura 2D hexagonal da SBA-15 preservada e demonstrou ser biocompatível e não causar alterações em tecidos cerebrais de ratos.

Li, 2007 sintetizou esferas de sílica mesoporosa dopadas com cálcio em uma etapa e demonstrou que esse material apresentou maior taxa de degradação do que esferas de sílica não dopadas, o que pode ser interessante para se atingir maior controle na liberação de agentes bioativos.

Shi, 2008 apresentou dois métodos para a impregnação da sílica mesoporosa HMS com hidroxiapatita, baseado na precipitação de hidroxiapatita no interior da HMS. Em um dos métodos, foi sintetizada a HMS via  $\text{S}^{\text{I}^0}$  e posteriormente, a HMS foi utilizada como suporte para a adição dos precursores da hidroxiapatita. No segundo, os precursores da hidroxiapatita foram adicionados durante a incorporação do precursor inorgânico com o surfactante durante a síntese da HMS. Os resultados da caracterização demonstraram que o método 2 foi mais efetivo para a incorporação de hidroxiapatita, pois o TEOS se incorporou na superfície da DDA por ligação de hidrogênio e ao mesmo tempo, os íons  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{PO}_3^{4-}$  combinaram-se, produzindo grande precipitação de hidroxiapatita na estrutura mesoporosa.

Três metodologias já foram propostas buscando a incorporação da hidroxiapatita na sílica mesoporosa MCM-41, levando a formação de materiais com características distintas. Sousa, 2008 adicionou os precursores da hidroxiapatita junto com o direcionador de estrutura antes da adição do precursor de sílica e demonstrou que partículas de hidroxiapatita bloquearam os espaços disponíveis nos poros da MCM-41, diminuindo a área específica e o volume dos poros. Borówka, 2011 apresentou duas rotas sintéticas buscando a coprecipitação de hidroxiapatita e sílica. Uma metodologia baseada na adição do precursor de sílica em uma solução contendo os precursores da hidroxiapatita e o direcionador de estrutura, gerando uma hidroxiapatita recoberta por sílica amorfa. Na segunda, foi adicionado o precursor de cálcio numa solução contendo o precursor de fosfato e de silício e o direcionador de estrutura, gerando um material com grande área específica e uma distribuição de mesoporos uniforme e estreita.

#### **4.4.2. Sistemas de liberação**

Em 2000, Vallet-Regi demonstrou pela primeira vez, uma nova propriedade desses materiais: a capacidade do material mesoporoso MCM-41 estocar o fármaco Ibuprofeno e atuar como sistema de liberação controlada de fármacos (DDS). Já os sistemas  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  foram associados a fármacos pela primeira vez por Henrich em 1997.

Desde então, diversos estudos vêm sendo desenvolvidos, buscando materiais mesoporosos, com diferentes estruturas, áreas específicas, tamanhos e volumes de poros e funcionalizações, que permitam a modelagem da adsorção/dosagem, liberação controlada de fármacos (load-up e release) na concentração ideal e no local de ação e liberação estímulo-resposta, buscando assim, maior eficácia terapêutica e menor toxicidade. Na figura 6 são apresentados algumas sílicas mesoporosas e os fármacos associados a eles.

Mesoporous solid	SBET (m <sup>2</sup> /g)	Pore diameter (Å)	Drug	Loading (wt%)	Reference
MCM-41	1157	36	Ibuprofen	34	[2]
AlSi-MCM41	1124	43	Diflunisal	8.7	[1]
AlSi-MCM41	1124	43	Naproxen	7.3	[1]
AlSi-MCM41	1124	43	Ibuprofen	6.4	[1]
AlSi-MCM41	1124	43	Ibuprofen Na salt	6.9	[1]
Si-MCM41	1210	27.9	Captopril	32.5	[21]
Si-MCM41-A	1157	25	Ibuprofen	2.9	[24]
Si-MCM41-A	1024	35.9	Aspirin	3.88	[25]
Si-SBA-15	787	61	Gentamicin	20.0	[27]
Si-SBA-15	787	88	Erythromycin	34	[29]
Si-SBA-15-CBT	559	82	Erythromycin	13	[29]
Si-SBA-15-C18ACE	71	54	Erythromycin	15	[29]
Si-SBA-15	602	86	Ibuprofen	14.6	[30]
Si-SBA-15-APTMS-O	571	86	Ibuprofen	16.9	[30]
Si-SBA-15-APTMS-P	473	78	Ibuprofen	20.6	[30]
Si-SBA-15	602	86	Bovine serum albumin	9.9	[30]
Si-SBA-15-APTMS-O	571	86	Bovine serum albumin	28.5	[30]
Si-SBA-15-APTMS-P	473	78	Bovine serum albumin	1.1	[30]
Si-SBA-15	787	49	Amoxicillin	24	[28]
HMS	1152	-	Ibuprofen	35.9	[33]
MCM-41	1210	26.7	Ibuprofen	74.4	[33]
HMS	1244	27.1	Ibuprofen	96.9	[37]
HMS-N-TES	1083	25.2	Ibuprofen	76.8	[37]
HMS-NN-TES	1036	24.6	Ibuprofen	74.2	[37]
HMS-NNN-TES	990	24.7	Ibuprofen	70.9	[37]
Si-MSU	1200	42	Pentapeptide	-	[38]
MCM-41	1200	33	Ibuprofen	41	[31]
SBA-3	1000	26	Ibuprofen	33	[31]
SBA-1	1000	18	Ibuprofen	25	[31]
SBA-16	490	85	ZnNIA	14.3	[32]
SBA-16	490	85	ZnPCB	18.3	[32]
MCM-48	1166	36	Ibuprofen	28.7	[22]
IP- <i>ks3d</i>	857	57	Ibuprofen	20.1	[22]
MCM-48	1166	36	Erythromycin	28.0	[22]
IP- <i>ks3d</i>	857	57	Erythromycin	28.0	[22]

Figura 6 – Sistemas mesoporosos utilizados como DDS, com áreas específicas, diâmetros de poro e fármacos. (Wang, 2009)

As principais características das sílicas mesoporosas e dos sistemas SiO<sub>2</sub>-CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> organizados que permitem sua utilização como DDS e vêm atraindo o interesse da comunidade científica são:

- Grande área específica que permite ampla dosagem (*loading*) do agente bioativo;
- Estrutura mesoporosa altamente ordenada e bem definida que facilita o controle da liberação do agente bioativo;
- Tamanhos e volumes de poro ajustáveis que permitem a associação com fármacos e espécies ativas biológicas;
- Estabilidade em meios fisiológicos;
- Grupos silanol na superfície do poro passíveis de funcionalização com novos grupos para modular a adsorção e liberação de fármacos;

- Conjugação com moléculas direcionadoras;
- Bioatividade;
- Biocompatibilidade e biodegradabilidade;
- Capacidade de serem administradas por via oral e/ou parenteral. (Thomas, 2010)

O perfil de liberação do fármaco dos sistemas mesoporos é importante para o entendimento e desenvolvimento de DDS. A liberação do fármaco pode ser dividida em quatro etapas: embebição do meio de liberação no interior do poro por pressão osmótica; dissolução do fármaco; difusão do fármaco pela matriz devido ao gradiente de concentração e difusão do fármaco no meio de liberação.

Uma das maiores vantagens obtidas com o uso de sílicas mesoporosas e já foi descrita por alguns autores é a habilidade desses materiais “aumentarem a solubilidade” de fármacos pouco solúveis e poderem ainda ser utilizadas com fármacos solúveis. (Ballas, 2006; Yu, 2009; Mellaerts, 2010; Thomas, 2010; e Colilla, 2010)

Zhao 2000 e Van der Vort, 2002 demonstraram que a presença de microporos em sílicas mesoporosas, como no caso da SBA-15, permite uma maior taxa de difusão, maior capacidade de encapsulação, taxas mais bem controladas de liberação do ativo e capacidade de funcionalização.

As diferentes estruturas, volumes e tamanhos de poro das sílicas mesoporosas e sistemas  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  organizados são determinantes para a adsorção e dosagem do fármaco. Tamanhos, volumes e estruturas de poro afetam o perfil de liberação e adsorção dos fármacos, inclusive podendo afetar a ligação às proteínas plasmáticas. Os tamanhos de poros menores já demonstram restringir tanto a adsorção quanto a liberação do fármaco. (Han, 1999; Muñoz, 2003; Andersson, 2005; e Izquierdo-Barba, 2005)

Ballas, 2006; Yu, 2009; Mellaerts, 2010; Thomas, 2010; e Colilla, 2010 estudaram as taxas de adsorção e de absorção *in vivo* de fármacos pouco solúveis, como alendronato, nimodipina, itraconazol e antiépléticos, associados às sílicas mesoporosas para possível liberação controlada e até em implantes ósseos. Demonstraram que a associação gera grande eficiência na adsorção e dosagem dos

fármacos, aumento da absorção intestinal e prevenção da cristalização e agregação.

Andersson, 2005 demonstrou que um material contendo HAP recoberta com uma camada de sílica mesoporosa possui um perfil de liberação de ibuprofeno ligeiramente mais acelerado que outras sílicas mesoporosas. Xia, 2006 e 2008 demonstrou que um sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  apresenta bioatividade em até 6 horas em SBF e o perfil de liberação da gentamicina é similar às sílicas mesoporosas. Li, 2007 demonstrou que esferas de sílica mesoporosa dopadas com cálcio apresentam perfis de adsorção e de liberação do ibuprofeno similares a sílica mesoporosa. Souza, 2008 demonstrou que o material MCM-41 com HAP apresenta um perfil de liberação do atenolol mais lento que a MCM-41 pura, segundo ele devido a forte interação entre o fármaco e os íons cálcio da hidroxiapatita.

Izquierdo-Barba, 2010 demonstrou que a SBA-15 é estável após 60 dias em diversos meios, como solução salina, SBF e em meio de Dubecco modificado. O material perdeu parcialmente a estrutura ordenada, mas ainda manteve domínios com a estrutura 2D hexagonal. O material quando é funcionalizado com grupos alquila (metil e octil) e grupos aminopropil apresenta maior estabilidade que o material não funcionalizado.

Mesmo com a grande quantidade de artigos publicados apontando a utilização dos materiais mesoporosos e também dos sistemas  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  como potenciais DDS, até hoje, nenhum chegou ao mercado.

#### **4.4.3. Funcionalizações superficiais**

No campo médico-farmacêutico, é muito importante a aplicação da dosagem correta. A dosagem vai ser governada pela quantidade do fármaco impregnado (*loaded-up*) e a cinética de liberação. A modificação da superfície da matriz mesoporosa pode ser realizada através de funcionalizações na superfície dos mesoporos, de modo a controlar a liberação do fármaco na taxa pretendida.

A interação entre o fármaco e a parede dos mesoporos possui papel fundamental na adsorção dos fármacos nos materiais mesoporosos, especialmente quando essas superfícies estão corretamente funcionalizadas. Com isso, a modificação da superfície dos grupos silanol presentes nos mesoporos garante maior controle na adsorção do fármaco e sua posterior liberação. Esse é um fator decisivo para o ajuste da dosagem de acordo com o paciente. (Nieto, 2008)

Os grupos silanol presentes nos mesoporos das sílicas mesoporosas formam apenas ligações de hidrogênio fracas com os fármacos, que não são fortes o suficiente para adsorver os fármacos e liberá-los de maneira continuada. Portanto, a introdução de grupos funcionais na superfície para uma interação específica matriz/fármaco é importante (Figura 7). (Wang, 2009) Os grupos silanol são reativos e, portanto, passíveis de funcionalização com diferentes grupos funcionais que modificam a natureza da interação entre os fármacos e as matrizes, permitindo assim, a modulação da adsorção, carregamento e o controle da taxa de liberação do fármaco. Porém, já foi demonstrado que a funcionalização dos mesoporos pode alterar o tamanho do poro e a propriedade hidrofóbica/hidrofílica da superfície.

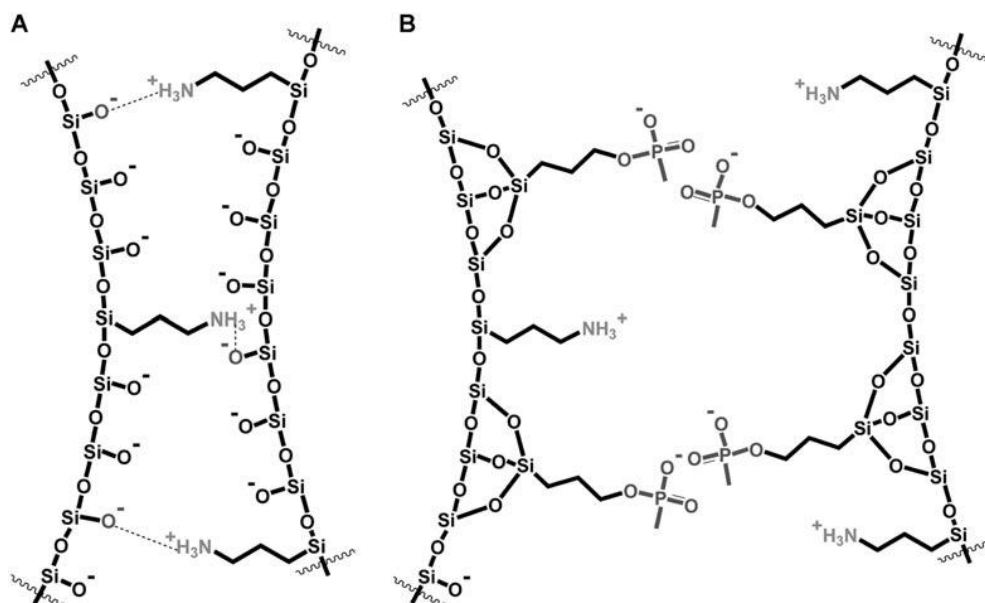


Figura 7 – Exemplo de funcionalização de sílicas mesoporosas com grupos funcionais amina e fosfato. (Lu, 2007)

As funcionalizações podem ser realizadas das seguintes formas: modificação das paredes do material sintetizado e calcinado (pós-síntese); ancoramento do grupo funcional por deslocamento do agente direcionador de estrutura no material não calcinado (processo solvotérmico); ou adição do grupo funcional durante adição da fonte de sílica (co-condensação).

A primeira tentativa de modificação de uma estrutura mesoporosa com o objetivo de regular a taxa de liberação de um fármaco foi de Muñoz, 2003. No estudo, duas sílicas MCM-41 com diferentes tamanhos de poro foram modificados com o grupo propilamino visando o controle da taxa de liberação do ibuprofeno dos mesoporos. A funcionalização foi realizada no material calcinado e por deslocamento do direcionador de estrutura e foi mostrado que a funcionalização diminuiu a taxa de liberação do fármaco, devido a maior interação entre o ibuprofeno, fármaco ácido, e o grupo propilamino, grupo básico. Desde então, a capacidade de adsorção e o comportamento da liberação dos fármacos em sílicas mesoporosas funcionalizadas com diferentes grupos vem sendo estudados. (Doadrio, 2006; Colilla, 2010)

#### **4.4.4. Partículas de sílica *in vivo* e *in vitro***

O conhecimento do mecanismo de formação, desenvolvimento e fisiologia dos tumores permite a formulação de diferentes estratégias para liberação e direcionamento eficientes de fármacos através dos DDS. Pode-se lançar mão dos mecanismos de direcionamento ativo e passivo, que estão apresentados na figura 8.

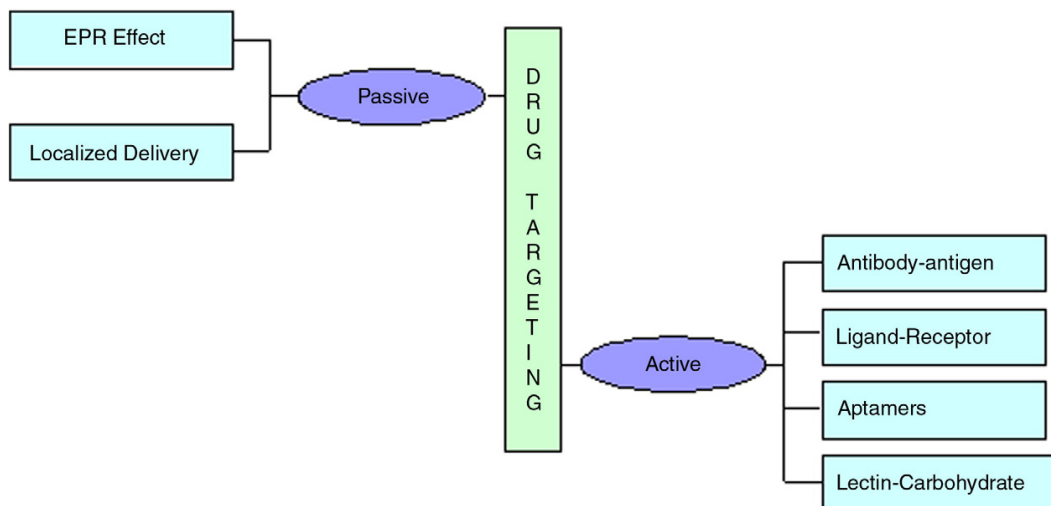


Figura 8 – Mecanismos de direcionamento de agentes bioativos. (Parveen, 2011)

O tecido tumoral se prolifera rapidamente e logo leva à formação de uma nova vasculatura defeituosa, permitindo que grandes moléculas, como lipídios e proteínas, penetrem mais facilmente no espaço extravascular. Por outro lado, a drenagem linfática é deficiente e, portanto, as grandes moléculas não são eficientemente drenadas do tumor. Esse efeito é conhecido como *enhanced permeability and retention* (EPR) e já que a acumulação de macromoléculas, incluindo proteínas plasmáticas, não requer um receptor específico, o EPR pode ser explorado para liberação controlada de agentes bioativos, sendo chamado de direcionamento passivo. (Figura 8) (Parveen, 2011)

A principal característica fisiológica das células tumorais é a alta taxa metabólica, o que resulta em hipóxia. Ela induz o metabolismo anaeróbico, resultando na formação de lactato, que diminui o pH intracelular para 3-4. Outro exemplo para se atingir o direcionamento passivo, é a utilização de DDS que só liberem o agente bioativo em pH ácido.

Demuth, 2011 e Hu, 2011 demonstraram que é possível controlar o perfil de liberação de fármacos de sílicas mesoporosas de acordo com o pH do meio, o que pode ser interessante para a liberação em tumores, onde o pH está diminuído devido ao metabolismo anaeróbico.

O pequeno tamanho (nm) de DDS permite que rapidamente extravasem da circulação para o tumor por aberturas ou defeitos vasculares 200 nm, devido à



angiogênese tumoral. A retenção dos DDS nesses sítios é geralmente alta, devido ao efeito EPR. (Cukierman, 2010)

Com seu rápido crescimento, os tumores passam a requerer nutrientes e vitaminas para continuarem seu processo de crescimento, assim, passam a super-expressar diversos receptores tumor-específicos, glicoproteínas e outras moléculas que podem ser potenciais alvos para os DDS. Nesses casos, lança-se mão do direcionamento ativo, que é uma estratégia que requer a conjugação/complexação de ligantes receptor-específicos por adsorção física ou por ligação química ao DDS para promover o direcionamento especificamente ao sítio-alvo. (Parveen, 2011)

Diversos estudos *in vivo* e *in vitro* já demonstraram os DDS podem ser conjugados/complexados com anticorpos monoclonais, ácidos graxos poliinsaturados, ácido fólico (Xu, 2007), ácido hialurônico, oligopeptídeos e aptâmeros, que são moléculas que possuem alta afinidade e especificidade pelos receptores que estão presentes em maior quantidade e/ou unicamente no tumor, podendo reconhecê-los seletivamente. Alguns estudos já sugerem que os ligantes direcionadores atuam mais como uma “cola” melhorando a associação com as membranas celulares, do que como um aparato buscando o sítio alvo.

Ao se ligarem em alguma estrutura celular, os DDS podem ser endocitados pelas células através de diversos mecanismos, apresentados na figura 9. Uma vez internalizado pela célula tumoral, o DDS deve liberar o agente antineoplásico ou o radiofármaco.

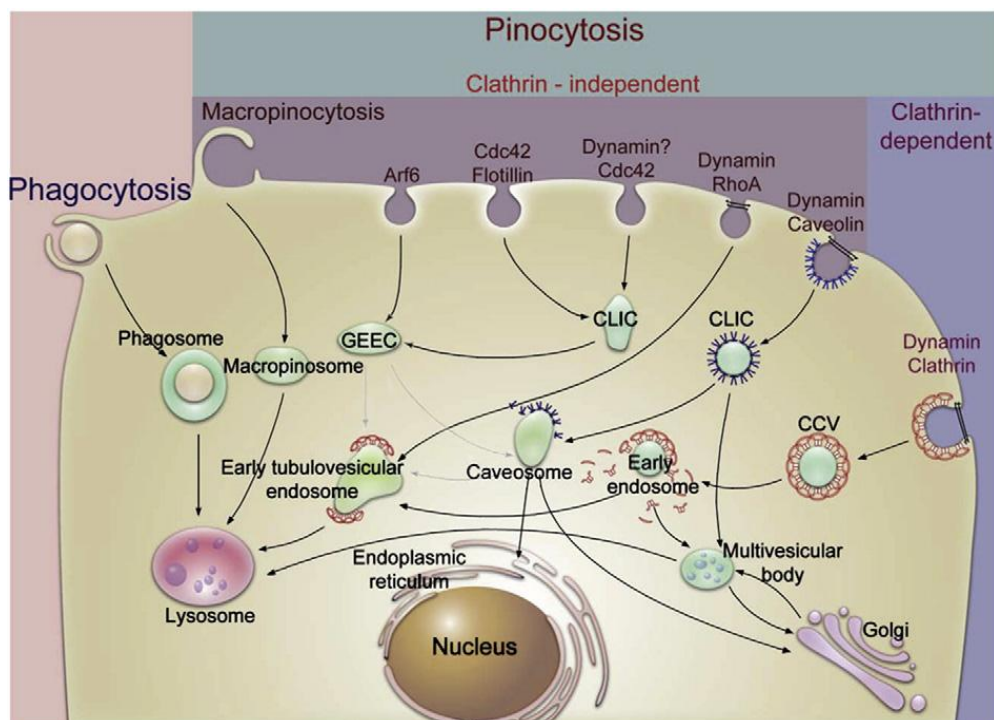


Figura 9 – Mecanismos de endocitose de agentes bioativos. (Sahay, 2010)

Assim, DDS com a habilidade de acoplar/conjugar com diferentes ligantes direcionadores oferecem oportunidades excelentes para ultrapassar barreiras fisiológicas e acessar os tecidos, seguido por captação celular eficiente e uma internalização intracelular mais eficaz.

O desenvolvimento de DDS não significa apenas a execução da liberação e direcionamento do agente bioativo, mas também a confirmação da entrega sítio-alvo específica do fármaco, consequentemente, a habilidade de localizar e realizar a imagem do destino do fármaco desde a circulação sistêmica até o nível sub-celular. Dessa forma, diferentes tipos de DDS podem ser eficientemente usados com agentes de imagem tanto *in vitro* quanto *in vivo* para o diagnóstico e terapia eficientes. (Parveen, 2011)

Os efeitos adversos e tóxicos das sílicas nos sistemas biológicos não são bem conhecidos ainda e precisam ser mais bem estudados, porém já foi demonstrada certa toxicidade dessas partículas em algumas linhagens de células, assim como em camundongos e ratos.

A realização de testes *in vivo* em ratos e camundongos e *in vitro* em diferentes linhagens de células demonstrou que as sílicas mesoporosas com até

4000 nm apresentam boa biocompatibilidade local, mas apresentaram toxicidade quando administradas sistemicamente. (Hudson, 2008)

Alguns artigos demonstram o mecanismo de captação das sílicas mesoporosas e há indicações que a internalização é dependente do tipo de célula e da morfologia e tamanho das partículas (Trewyn, 2008), assim como da carga da partícula. (Chung, 2007)

A internalização de partículas de sílica já demonstrou que pode ocorrer por mecanismo de endocitose mediada por clatrina (CME) em células mesenquimais e fibroblastos (Sahay, 2010), por CME, por mecanismo actina-dependente e por mecanismos ainda não conhecidos em células hMSC e 3T3-L1. (Chung, 2007) (figura 9). Os macrófagos são capazes de internalizar ativamente as partículas de sílica por endocitose e esse fato não afetou a habilidade dos macrófagos ingerirem células que sofreram apoptose ou foram opsonizadas com anticorpos. (Witasz, 2009) Após serem endocitadas, Lu, 2007 demonstrou que no interior das células tumorais, as partículas de sílica se concentram nas organelas ácidas, como lisossomos e endossomos.

Após administração intravenosa, as partículas se acumulam inicialmente em órgãos do sistema fagocítico, como o fígado e o baço, porém em semanas foram completamente depurados, sendo degradadas em componentes depurados nos rins sem evidenciar toxicidade em camundongos. (Park, 2009)

O direcionamento das sílicas mesoporosas já foi descrito por Pasqua, 2007 que demonstrou que há maior adesão de sílicas mesoporosas na membrana celular das células e endocitose, quando essas estão conjugadas com o ácido fólico.

#### **4.5. Aptâmeros e glicoproteína MUC1**

A tecnologia dos aptâmeros vem chamando grande atenção da comunidade científica, pois podem ser aplicados no tratamento de algumas doenças, como o câncer, ateroscleroma e o HIV. Os aptâmeros são fitas simples de oligonucleotídeos que podem se ligar a moléculas alvo com alta afinidade e

seletividade, já que podem se dobrar em diferentes estruturas secundárias e terciárias. Eles são identificados em uma biblioteca contendo de 10<sup>13</sup> a 10<sup>16</sup> seqüências aleatórias de DNA ou RNA de fita simples por um processo de seleção *in vitro* chamado SELEX<sup>3</sup>.

Os aptâmeros possuem alta seletividade e alta habilidade em se ligar e reconhecer alvos específicos (constante de afinidade - K<sub>d</sub> na faixa nanomolar) se comparados a anticorpos (K<sub>d</sub> na faixa de mili/micromolar). Além do mais, são biocompatíveis, podendo ser modificados facilmente e controladamente para fins diagnósticos e terapêuticos, termoestáveis como pó ou em solução, baixa cinética de degradação, não são tóxicos ou imunogênicos, penetram rapidamente nos tecidos e não necessitam de cultura de células. Essas propriedades físicas e químicas fazem dos aptâmeros, ferramentas para diagnóstico e terapia e para elucidação dos mecanismos de doenças, como o câncer e doenças infecciosas.

A glicoproteína MUC1 transmembrana está presente normalmente nas células participando da hidratação e lubrificação da superfície celular, assim como na proteção contra microorganismos e contra a degradação por enzimas. No tecido tumoral, a MUC1 está super-expressa numa quantidade no mínimo 10 vezes superior que no tecido normal. (Gendler, 2001) Portanto, o aptâmero anti-MUC1 pode ser conjugado em nanorradiofármacos para o tratamento de cânceres onde ocorra a super-expressão dessa glicoproteína.

Os aptâmeros já demonstraram poder ser utilizados para liberação direcionada para o tratamento do câncer quando conjugados com DDS. (Rai, 2010 e Bolhassani, 2011)

---

<sup>3</sup> N.A. Sigla para "Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment".