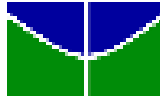


UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CEILÂNDIA  
CURSO DE FARMÁCIA  
Miriam Mendes Gonçalves

Produção e caracterização de nanopartículas derivadas de poliacrilatos contendo Tamoxifeno e Nitroprussiato de Sódio, com possível aplicabilidade no tratamento do câncer.

BRASÍLIA, 2018.



Miriam Mendes Gonçalves

Produção e caracterização de nanopartículas derivadas de poliacrilatos contendo Tamoxifeno e Nitroprussiato de Sódio, com possível aplicabilidade no tratamento do câncer.

Monografia de Conclusão de Curso apresentada como  
requisito parcial para obtenção do grau de  
Farmacêutico, na Universidade de Brasília,  
Faculdade de Ceilândia.

Orientador: Prof.Dr. Anderson de Jesus Gomes  
Co-orientador: Prof Dra. Claire Nain Lunardi Gomes

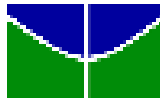
BRASÍLIA, 2018.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

MM675p Mendes Gonçalves, Miriam  
Produção e caracterização de nanopartículas derivadas de poliacrilatos contendo Tamoxifeno e Nitroprussiato de Sódio, com possível aplicabilidade no tratamento do câncer. / Miriam Mendes Gonçalves; orientador Anderson de Jeus Gomes; co-orientador Claire Nain Lunardi Gomes. -- Brasília, 2018.  
69 p.

Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade de Brasília, 2018.

1. Câncer de mama. 2. Eudragit® RL 100. 3. Tamoxifeno. 4. Nitroprussiato de Sódio. I. de Jeus Gomes, Anderson, orient. II. Nain Lunardi Gomes, Claire, co-orient. III. Título.



Miriam Mendes Gonçalves

Produção e caracterização de nanopartículas derivadas de poliacrilatos contendo Tamoxifeno e Nitroprussiato de Sódio, com possível aplicabilidade no tratamento do câncer.

BANCA EXAMINADORA

---

Orientador(a): Prof.Dr.. Anderson de Jesus Gomes

---

Co-Orientador(a): Prof.Dra Claire Nain Lunardi Gomes

---

Prof.Dr.. Marcelo Henrique Souza

---

Prof.Dr. Diego Justino Santos Dias

BRASÍLIA, 2018.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, agradeço a Deus por seu amor e sob seus cuidados eu sei que posso descansar. Agradeço todos os dias a Deus que está sempre comigo me dando forças para chegar até o final desta etapa em minha vida, é por ele e para ele eu dou toda honra e toda glória por este trabalho finalizado.

Agradeço a minha mãe Elcy, meu alicerce, por todo amor, carinho, e auxílio, pelos conselhos dados durante todos os anos de vida no âmbito pessoal e acadêmica, incentivando-me sempre a dar o meu melhor em tudo o que faço. Ao meu pai pelo carinho e pela paciência.

Aos meus irmãos, meus amigos leais e companheiros de vida em meio às dificuldades estão sempre comigo.

Ao meu Professor Dr. Anderson J. Gomes, orientador deste trabalho e minha co-orientadora. Professora Dra Claire, N. L. Gomes, agradeço o acolhimento e a oportunidade de conhecer a nanociência ainda que sobre muitas dificuldades, eu obtive muitas experiências ao desenvolver este trabalho e acredito que levarei comigo grande conhecimento a cerca do assunto.

Aos meus parceiros de pesquisa Antônio Oliveira e Marina Lima que sempre estavam dispostos a me ajudar em todos os momentos elaborar este trabalho.

Aos meus amigos acadêmicos pelo apoio e carinho nesses longos anos de caminhada presenciando comigo, minhas angustias medos, decepções e alegrias obrigada pela parceria!

Aos meus amigos pessoais que sempre acreditaram no meu potencial e sempre me apoiaram em todas as minhas decisões.

A todo corpo docente da UnB-FCE que contribuíram para a minha formação acadêmica.

## RESUMO.

Introdução: O câncer de mama possui altos índices de mortalidade para o gênero feminino. O Tamoxifeno (TMX) e o Nitroprussiato de Sódio (NPS) exibem papéis importantes na biologia do câncer, mas ambos possuem muitos efeitos adversos. Busca-se produzir e caracterizar partículas diminuindo seus efeitos adversos. Objetivo: caracterizar espectroscopicamente partículas derivadas de poliacrilatos (Eudragit® RL 100) contendo os fármacos Tamoxifeno (TMX), Nitroprussiato de sódio (NPS) e seu sistema sinérgico. Metodologia: Produção por método de evaporação do solvente modificado. Resultados e discussão: A eficiência de encapsulamento de 92,00% TMX, 68,84% NPS, 98,05% TMX+NPS, diâmetro de até 367 nm, potencial zeta de até +81,9 mV. O estudo de estabilidade não alterou o tamanho das partículas, mas houve sedimentação. O perfil de liberação apresentou-se sustentado e bifásico. O espectro de FTIR confirmou a presença de TMX, NPS bem como a associação no interior das partículas. Conclusão: A produção e caracterização de partículas poliméricas realizadas com métodos espectrofotométricos como Uv-Vis e FTIR, foi possível determinar que os fármacos foram encapsulados, havendo a liberação no seu estado bifásico, bem como é possível verificar que o tamanho das partículas que se mantiveram menores que 400nm. No entanto, se faz necessários testes futuros para o aprimoramento das metodologias empregadas ao Nitroprussiato de Sódio e sua eficiência de encapsulamento visto que neste estudo em meio aquoso promove liberação de Oxido Nítrico e na presença de luz é fotossensível. Espera-se realizar testes futuros como a espectroscopia de fluorescência, microscopia eletrônico de varredura e ainda aplicação em células de linhagens tumorais.

•

Palavras-chave: Câncer de mama, Eudragit® RL 100, Tamoxifeno, Nitroprussiato de Sódio.

## ABSTRACT

Introduction: Breast cancer has high mortality rates for the female gender. Tamoxifen (TMX) and Sodium Nitroprussiate (NPS) play important roles in biological cancer, but both have many adverse effects. It is sought to produce and characterize particles by reducing their adverse effects. Objective: To characterize spectroscopically particles derived from polyacrylates (Eudragit® RL 100) containing the drugs Tamoxifen (TMX), sodium nitroprusside (NPS) and its synergistic system. Methodology: Production by evaporation method of the modified solvent. Results and discussion: The encapsulation efficiency of 92.00% TMX, 68.84% NPS, 98.05% TMX + NPS, diameter up to 367 nm, zeta potential of up to +81.9 mV. The stability study did not change the particle size, but there was sediment. The release profile was sustained and biphasic. The FTIR spectrum confirmed the presence of TMX, NPS as well as the association within the particles. Conclusion: The production and characterization of polymer particles performed with spectrophotometric methods such as Uv-Vis and FTIR, it was possible to determine that the drugs were encapsulated, with the release in their biphasic state, and it is possible to verify that the particle size that remained less than 400nm. However, future tests are necessary to improve the methodologies used for Sodium Nitroprussiate and its encapsulation efficiency, since in this study in aqueous medium it promotes the release of Nitric Oxide and in the presence of light it is photosensitive. Future tests such as fluorescence spectroscopy, scanning electron microscopy and further application to tumor cell lines are expected.

•

Key words: breast cancer, Eudragit® RL 100, Tamoxifen, Sodium nitroprusside.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Escala nanométrica.....	11
Figura 2	Estrutura Nanocápsulas e nanoesferas.....	13
Figura 3:	Estrutura Química do Eudragit.....	16
Figura 4:	Principais sistemas de liberação do Eudragit em pHs específicos.....	17
Figura 5:	Etapas da Carcinogênese.....	20
Figura6:	Modalidades Terapêuticas voltados ao tratamento de câncer .....	25
Figura 7	Estrutura Química do Tamoxifeno.....	29
Figura 8:	Estrutura Química do Nitroprussiato de Sódio	31
Figura 9:	Representação esquemática da preparação das partículas polimérica contendo Tamoxifeno e Nitroprussiato e sua associação.....	35
Figura 10:	Obtensão dos Sistemas Coloidais após a produção das partículas	40
Figura 11:	Espectro de absorção dos fármacos e do Eudragit® RL100 em solução orgânica metanol	41
Figura 12:	. Curva Analítica do Nitroprussiato.....	46
Figura 13:	Curva de liberação das partículas em função do tempo no pH 2.0	48
Figura 14:	Curva de liberação das partículas em função do tempo no pH 8.2	49
Figura 15:	Espectro do FTIR da relação Tamoxifeno Base e incorporado ao Eudragit® RL 100 em KBR.....	51
Figura 16	Espectro do FTIR da relação Niproussiato cristalino livre e incorporado ao Eudragit® RL 100 em KBR.....	52
Figura 17:	Espectro do FTIR da relação Eudragit® RL100 vazio e os fármacos incorporado ao Eudragit® RL 100 em KBR.....	52



## LISTA DE TABELAS

Tabela1:	.Estimativa dos dez tipos de câncer mais incidentes em mulheres, exceto pele não melanoma, no Distrito Federal em 2018.....	21
Tabela 2.	Os principais SERMs divididos em cinco grupos químicos.....	26
Tabela 3	Descrição dos reagentes utilizados com seus respectivos fabricantes.....	33
Tabela 4.	Descrição dos equipamentos utilizados com seus respectivos fabricantes.....	33
Tabela 5	Apresentação dos dados referente à distribuição de tamanho, Pdl e potencial. Zeta.....	42
Tabela 6	Valores obtidos na Eficiência de Encapsulamento.....	47
Tabela 7	Avaliação espectroscópica com transformadas de Fourier.....	55

## LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1: Cálculo da Absorbância pela Lei de Berr.....	36
Equação 2: Cálculo da Eficiência de Encapsulamento.....	37
Equação 3: Cálculo da concentração do Nitroprussiato para Eficiência de Encapsulamento.....	46

## LISTA DE ABREVIações

nm	Nanómetro
CDK	Cyclin-dependent kinase
pRb	Proteína Retinoblastoma
P53	Proteína p53
p21	Proteína p21
BCRA1	Breast Cancer (Câncer de Mama 1)
BCRA2	Breast Cancer 2 (Câncer de Mama 2)
INCA	INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER
ER	Receptor de Estrógeno
ER $\alpha$	Receptor $\alpha$ (Receptor de estrógeno subtipo $\alpha$ )
ER $\beta$	Estrogen Receptor $\beta$ (Receptor de estrógeno subtipo $\beta$ )
DNA	Ácido desoxirribonucleico
SERMS	Moduladores Seletivos dos receptores de Estrógenos
Als	Inibidores de aromatases
TMX	Tamoxifeno
NPS	Nitroprussiato de Sódio
EDGT	Eudragit RL 100
pKa	Constante de acidez
FDA	Food and Drugs Administrations(Administração de alimentos e medicamentos)
EUA	Estados Unidos da América
JAP	Japão
UK	United Kingdom (Reino Unido)
KBr	Brometo de potássio
DSL	<i>Dynamic lights scattering</i>
UV-VIS	Ultravioleta-visível
FTIR F	Transform Infrared (Infravermelho com transformada de Fourier)

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	10
1.1	Nanotecnologia.....	10
1.2	Produção e caracterização partículas poliméricas.....	13
1.3	Liberação de Fármacos.....	14
1.4	Eudragit®.....	15
1.5.	Câncer: Aspectos Gerais.....	17
1.6	Epidemiologia do Câncer.....	20
1,7	Câncer de Mama.....	21
1.8.	Agentes Antineoplásicos.....	23
1,9	Tratamento.....	24
1.10.	Moduladores Seletivos do receptor de estrogênio (SERM):.....	25
1.11	Tamoxifeno.....	26
1.12.	Nitroprussiato de Sódio.....	29
2.	JUSTIFICATIVA.....	31
3.	OBJETIVOS.....	32
3.1	Objetivos Gerais.....	32
3.2	Objetivos específicos.....	32
4.	METODOLOGIA.....	32
4.1	Materiais .....	33
4.2	Equipamentos.....	34
4.3	Preparação das partículas poliméricas .....	35
4.4.	Determinação da concentração do Tamoxifeno e Nitroprussiato de Sódio em métodos espectrofométricos.....	36
4.5	Avaliação da distribuição de diâmetro hidrodinâmico e potencial $\zeta$ .....	37
4.6.	Avaliação da eficiência de Encapsulamento (EE%).....	37
4.7	Avaliação do perfil de liberação do fármaco .....	37
4.8	Avaliação espectroscópica na região Uv-Vis.....	38
4.9	Avaliação espectroscópica na Região Infravermelhos (IR) com Transformadas de Fourier .....	38
4.10	Avaliação do Perfil de Estabilidade.....	39

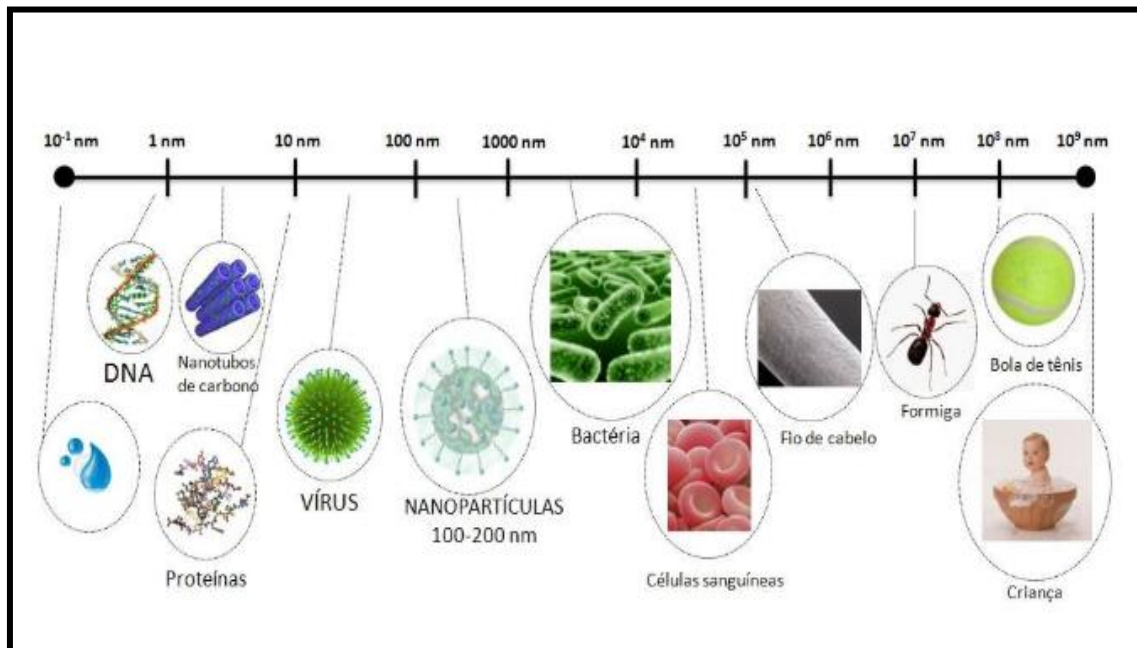
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
5.1.	Síntese das partículas Poliméricas.....	39
5.2.	Avaliação espectroscópica na região UV/vis.....	40
5.3	5.3. Avaliação do diâmetro hidrodinâmico e potencial $\zeta$ das amostras.....	42
5.4	Avaliação da eficiência de encapsulamento (EE%).....	45
5.5.	Avaliação da cinética de liberação do fármaco.....	48
5.6.	Avaliação espectroscópica na região Infravermelha (IR) com Transformadas de Fourier.....	51
5.7.	Avaliação do perfil de Estabilidade.....	55
6.	CONCLUSÃO.....	56
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Nanotecnologia.

A nanotecnologia é descrita na literatura como a ciência voltada para a produção e classificação de sistemas em dimensão nanométrica, também podem ser compreendidas como ações simultâneas de tecnologias a fim de desenvolver novos compostos, por meio de manejo dos átomos e moléculas em escala nanométrica. O conceito de nanotecnologia foi idealizada e anunciada por Richard Feynman, um artigo publicado pela Sociedade Americana de Física Caltech, na qual ele propôs por meio do título *There's plenty of room at the bottom*, a ideia de que átomos poderiam ser manuseados em escalas nanométricas, ou seja, 1nm é equivalente  $10^{-9}$  m (FEYNMAN,1960, SILVA, 2009). Mas a ideia de Feynman não repercutiu no meio acadêmico, só se tornou notória 15 anos depois com Nório Taniguchi que conseguiu reproduzir tecnologias dispositivas de materiais em dimensões nanométricas. Posteriormente, só foi consolidada a ideia de nanociência e nanotecnologia a partir do desenvolvimento do microscópio de tunelamento por Gerd Binnig e Henrich Rohrer (CAO, WANG, 2011), na época, este microscópio utilizava uma agulha finíssima e o uso de uma corrente elétrica possibilitava a análise das dimensões e disposições atômicas. Depois da elaboração de microscópio foi descoberto também, de uma forma muito precisa a possibilidade de manipular e reposicionar os átomos (SILVA, 2009, MOREIRA, 2013).

O Comitê técnico da ISO denomina a nanotecnologia como o controle de processos e materiais em escala nano, inferior a 100 nanômetros, de uma ou mais dimensões, envolvendo fenômenos os quais dependem do tamanho e assim permite que sejam usados materiais com propriedades em nanoescala. Outra definição é dada pela Iniciativa Nacional de Tecnologia dos Estados Unidos que define um nanômetro como sendo um bilionésimo de metro. A nano escala indica que “1 nanômetro (nm) nada mais é que 1 bilionésimo de 1 metro ( $1 \text{ nm} = 1 \times 10^{-9}$  metros) (Fig. 1), além disso, a definição de nanociência e nanotecnologia como o controle de átomos e moléculas individuais (ENGELMANN, MARTINS,2017)



**Figura 1: Escala nanométrica.**

Fonte: Adaptado Candice Filipe, imagens Google.

Os materiais voltados à nanotecnologia possuem características quanto as suas propriedades físico-químicas, possui um tamanho pequeníssimo, porém uma grande área em relação massa e uma alta reatividade. O chamado efeito de superfície material em dimensões nanoescalares, proporciona um aumento de razão de superfície/volume, apresentam a razão entre a quantidade de átomos que estão na superfície e o que estão dispersos internamente em seu volume diferem de escalas maiores, isto possibilita desenvolver dispositivos, materiais e sistemas com características distintas da escala microscópica ou macroscópica (SILVA, 2009).

O uso de materiais nanotecnológicos é classificado de acordo com escalas nanométricas, os chamados nanomateriais são semelhantes a certos tipos de filmes finos e possui uma grandeza em escalas nanométricas, os nanofios são duas grandezas em escalas nanométricas e as nanopartículas que possui três grandezas em escalas nanométricas e que é alvo de grandes estudos por suas características físico-químicas (BARBOSA *et.al.*,2011).

O uso da nanotecnologia como estratégias para indústrias de saúde estão sendo designados para o desenvolvimento de formulações farmacológicas. São nanocarreadores biocompatíveis e biodegradáveis que permite o tratamento de muitas doenças como câncer, doenças inflamatórias, cardiovasculares, neurológicas e ao combate do vírus da imunodeficiência adquirida (AIDS), mas com destaque para pesquisas voltadas ao tratamento do câncer. Estes nanocarreadores são

classificados como lipossomas, nanopartículas lipídicas, micelas e as nanoesferas poliméricas e ainda, os nanocristais, estes refletem na possibilidade de nanomização de fármacos insolúveis em água com a finalidade de melhorar a biodisponibilidade e melhorar administração de medicamentos injetáveis (FRANTIESCOLI, *et. al.*, 2013).

Com o advento da nanotecnologia, surge a nanomedicina que vem se destacando aos poucos, como forma alternativa à medicina tradicional. A nanomedicina possui a finalidade de promoção à saúde humana, trazendo diversos benefícios. Possuem diversas aplicações na área da saúde os quais permitam desenvolver produtos com veículos contendo fármacos e os direcionando a lugares específicos do corpo, são nanoferramentas que auxiliam na prevenção e tratamento de doenças e alívio da dor. Além disso, estimula o aperfeiçoamento de medicamentos, vacinas, exames diagnósticos e procedimentos terapêuticos, possui aplicação em biomateriais e implantes, proporcionando o aperfeiçoamento da engenharia molecular buscando melhorar os aspectos físicos como a razão superfície/volume, isto se aplica melhoramento às respostas de interações moleculares bioquímicas e nas sinalizações voltadas aos fatores de crescimento e diferenciação de células no organismo como implante em tecidos ósseos (SANTOS *et. al.* 2017, SILVA, 2009).

As partículas poliméricas auxiliam muitas pesquisas, pois a sua produção apresenta uma grande estabilidade no organismo e se mantêm estáveis sobre longos períodos. Possibilitam a síntese de sistemas com variáveis velocidades de degradação e controle de liberação no organismo (FERREIRA, 2013).

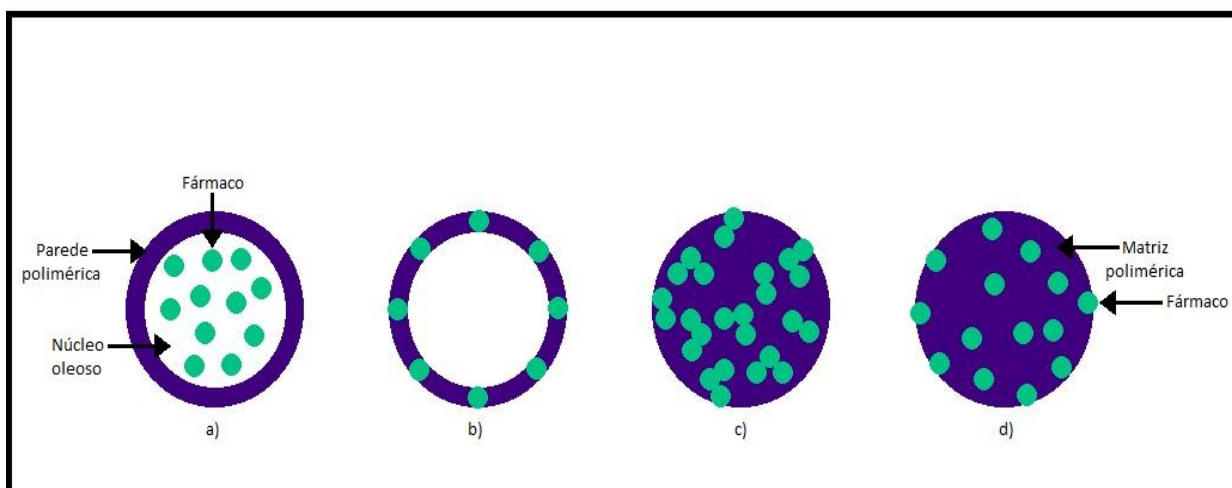
A produção de partículas poliméricas é subdividida em nanocapsulas ou também chamados de sistemas reservatórios e as nanoesferas ou chamados sistemas matriciais. Estruturalmente as nanocapsulas possuem um revestimento polimérico ao redor de um núcleo oleoso ou aquoso, como o nome já diz, proporcionando um reservatório para composto ativo. Já as nanoesferas, não possuem um núcleo, mas o princípio ativo se encontrará espalhado sobre uma rede polimérica. Em ambos os casos, o fármaco pode estar aderido também à superfície polimérica (LINDNER, 2014).

As partículas poliméricas são formadas por polímeros biodegradáveis, funcionam como sistema o qual possibilita carrear fármacos com tamanho de 1µm aproximadamente. Estes sistemas oferecem grande estabilidade, quando em



contato com fluidos biológicos e quando armazenados. São considerados terapeuticamente promissores. (SCHAFFAZICK *et. al.*, 2003).

Os principais exemplos de partículas poliméricas sintéticas são os poliésteres alifáticos resultantes dos ácidos acrílicos e metacrílicos ou provenientes de cianoacrilatos de alquila. (FRANTIESCOLI, *et. al.*,2013).



**Figura 2: Estrutura de nanocápsulas e nanoesferas poliméricas:** a) fármaco dissolvido no núcleo oleoso das nanocápsulas; b) fármaco adsorvido à parede polimérica das nanocápsulas; c) fármaco retido na matriz polimérica das nanoesferas; d) fármaco adsorvido ou disperso molecularmente na matriz polimérica das nanoesferas).

Fonte: Adaptado SCHAFFAZICK *et. al.*,2003

## 1.2. Produção e caracterização de partículas poliméricas.

As metodologias empregadas no preparo de partículas poliméricas, podem ser realizadas por meio de moagem úmida, homogeneização sob alta pressão, emulsificação ou nanoprecipitação, expansão rápida sob interface líquido-gás, congelamento por atomização em líquido e precipitação por evaporação em solução aquosa (KHARB *et al.*, 2006).

Além disso, podem ser realizada por meio da dispersão de polímeros pré-formados, polimerização de monômeros (polimerização *in situ*), emulsificação-evaporação do solvente, emulsificação-difusão do solvente, *salting-out* e

nanoprecipitação. O resultado é destes processos consistem na homogeneização da fase aquosa, contendo tensoativo disperso e uma fase orgânica, composta pelo princípio ativo e o polímero dissolvido em solvente orgânico. A nanoprecipitação ou o chamado método por deslocamento por solvente é mais atrativa mediante a sua simplicidade, passível de ser reprodução e rapidez. O método consiste na escolha de um solvente orgânico que facilmente se misture em água, polímero que seja insolúvel na fase aquosa, quando transferido para a fase aquosa por meio da agitação magnética, promoverá a precipitação, dando origem às nanopartículas, origem esta justamente pela característica do polímero (FERREIRA, 2013) e assim elaborar sistemas de liberação prolongada e sustentada de fármacos.

### **1.3. Liberação de Fármacos.**

Há dois processos de liberação de fármacos em sistemas nanoestruturados, o de sistemas liberação controlada, e o de liberação modificada. O de liberação controlada tem como finalidade modular o fármaco para que ele seja liberado em uma faixa terapêutica desejada por um tempo prolongado utilizando doses únicas, já o de liberação modificada fornece um perfil de liberação de substâncias dos princípios ativos incorporados ao polímero tenham uma melhor distribuição quanto ao local específico de ação, e sua cinética frente ao tratamento. As principais formas farmacêuticas de liberação modificada de forma são retardada, repetida, controlada, sustentada ou prolongada. (SANTOS, 2015).

A liberação do fármaco acontece através do controle por difusão, pelo grau de inchamento, erosão das partículas, ação de diferentes pHs, temperatura e presença de biomoléculas. A associação entre o polímero e o fármaco originam sistemas que aumentam o tempo de circulação e a estabilidade do fármaco na corrente sanguínea (PEIXOTO, 2013).

A degradação dos fármacos que estão aderidos na superfície e na matriz polimérica das nanopartículas possibilita a criação de sistemas os quais possuem maiores especificidades, possibilitando a terapia por várias vias como administração oral, nasal, parenteral, intraocular, e tópica (MORAES, 2009).

A produção se um sistema com liberação prolongada tem como finalidade melhorar as propriedades farmacocinéticas dos fármacos a fim de garantir uma terapia mais adequada ao paciente, pensando nisso, a produção de partículas com

uso de polímeros acrílicos para formulações farmacêuticas demonstram ser benéficos, pois atuam melhorando a dissolução, absorção e biodisponibilidade de determinados fármacos (SANTOS, 2013).

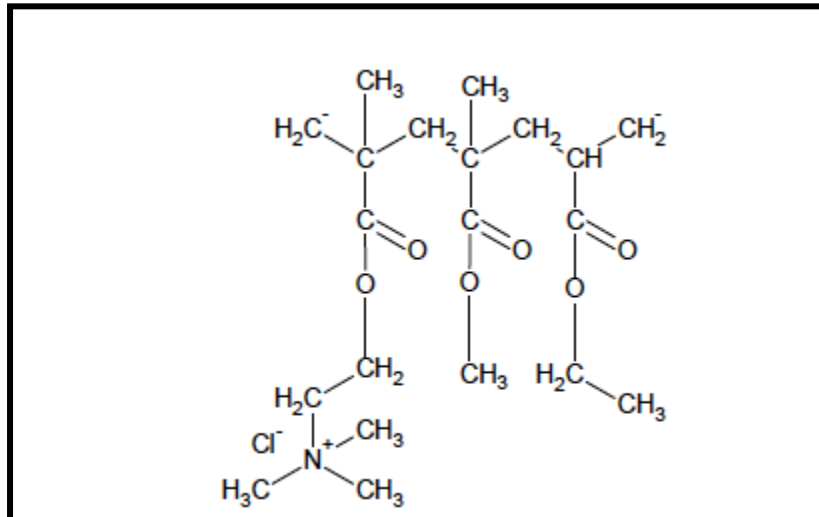
#### **1.4. Eudragit®**

São polímeros que possuem caráter ácido ou básico, catiônicos e aniônicos, sintéticos em sua estrutura, conhecidos como derivados de polimetacrilatos ou também chamados de metacrilatos de dimetilaminoetilo, ácido metacrílico e ésteres de ácido metacrílico. Os derivados de polimetacrilatos são usados principalmente como agentes de revestimento formas de dosagem de comprimidos e cápsulas, filmes de diferentes solubilidades podem ser produzido usando diferentes tipos de polímeros.

Outras aplicações dos derivados de polimetacrilatos são para o mascaramento de sabores, facilitam a permeação através da pele, do epitélio intestinal e permeação corneana, aumento da biodisponibilidade, revestimento entérico, sustentada de liberação, radioproteção. Sua atuação é de liberação dependente de pH, como alvo o cólon. Portanto, os polimetacrilatos desempenham um papel crucial na formulação e desenvolvimento de diferentes tipos de formas de dosagem com aplicações versáteis (PATRA, 2017).

Os principais representantes que se comportam ação dependente do pH (figura 4), e alvo deste presente estudo são os polímeros derivados de poliacrilatos com o nome comercial Eudragit® .

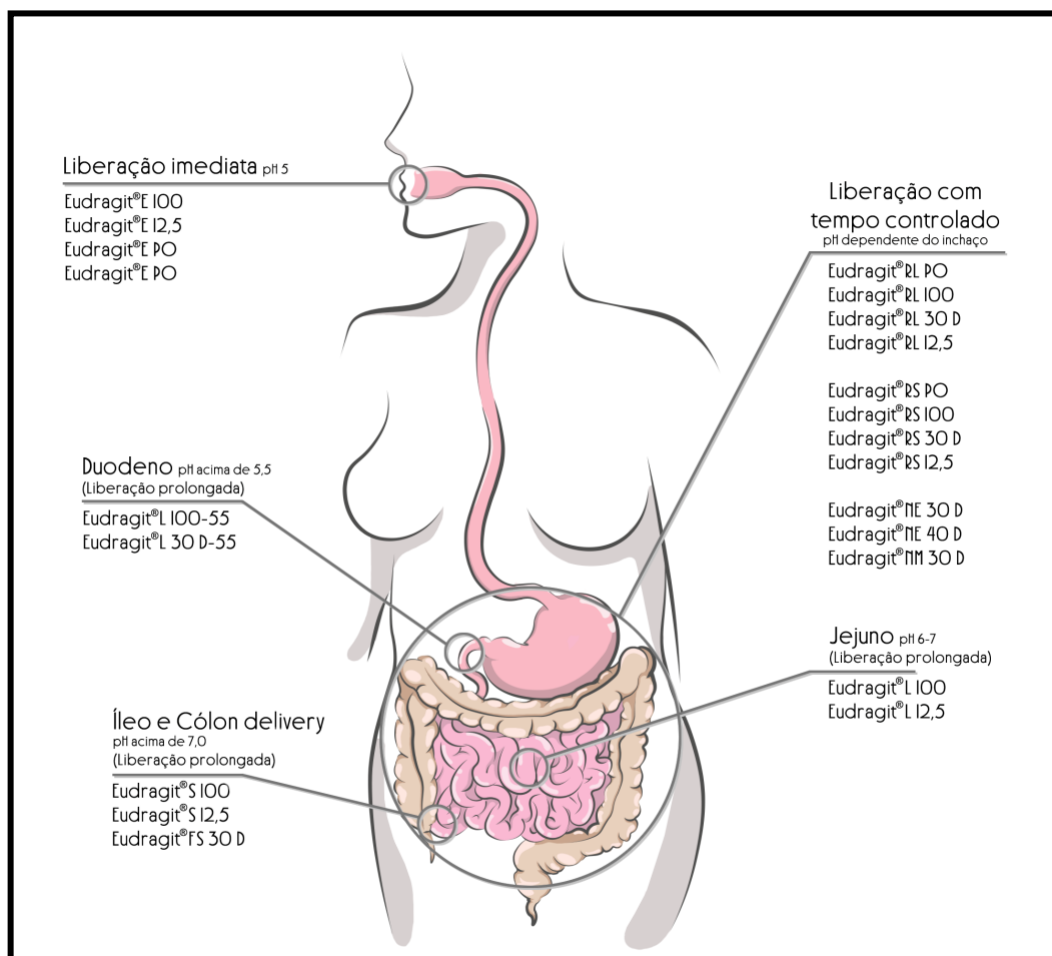
Os polímeros mais conhecidos são Eudragit L100-55, Eudragit® L100, Eudragit® L30D, Eudragit® NE 30D, Eudragit® RSPO, Eudragit® RLPO (LIMA, 2010).



**Figura 3: Estrutura química do Eudragit® RL100.**

Fonte: Adaptado Evonick, 2011.

Atualmente, os polímeros de Eudragit® são utilizados para muitas formulações farmacêuticas, estes polímeros colaboram de forma significativa para diversos tipos de formulações como soluções oftálmicas para terapias oftálmicas, bucais e sublinguais, gastrointestinais, intestinal, cólon, transdérmicos, vaginais, elaboração de vacinas e para tratamentos de doenças hereditárias, para a utilização para os antibióticos e agentes utilizados no tratamento do câncer (NIKAN, *et. al.*, 2011, SANTOS, 2013), principalmente por ter sua ação dependente do pH.



**Figura 4: Principais sistemas de liberação do Eudragit em pHs específicos.**

Fonte: Adaptado Evonick-Eudragit.

### 1.5. Câncer: Aspectos Gerais.

O câncer pode ser classificado como uma doença crônica que mais atinge a população no mundo. É decorrente de uma alteração de função das células que acarreta na desarmonia do ciclo de replicação celular, abrange o mau funcionamento de genes que estão diretamente envolvidos na divisão celular, determinando a perda do controle da divisão celular. Aproximadamente 5% dos tipos de cânceres existentes estão ligados à hereditariedade, pela modificação de genes, mas a maior incidência dos cânceres está mesmo relacionada ao acúmulo de danos causados no material genético ao longo da vida (PINTO, 2012).

O câncer é um processo de várias etapas nas quais células cancerígenas adquirem características como o crescimento descontrolado, resistência a sinais antiproliferativos, evasão à apoptose, replicação, desenvolvimento de novos vasos

sanguíneos (angiogênese) e invasão de tecido circundante e metástase para os órgãos distais (CHANG, 2015).

O crescimento celular é permeado por fatores estimuladores ou inibidores na divisão celular que são processados no meio intra ou extracelulares. Para haver o controle do crescimento celular, dependerá da expressão de vários genes os quais codificam os fatores de crescimento e seus receptores (SILVA, SERIKIDES, CASSALI, 2004).

As desordens que permeiam a proliferação celular estão habitualmente em todos os tumores, os quais desregulam as proteínas pRb, p53 e p21. Essas proteínas fazem parte do controle do ciclo celular, a pRb é uma fosfoproteína que está presente em todas as células e quando ativada, irá inibir o avanço da fase G1 para a fase S no ciclo celular (ABRANTES,2013, SOUZA,2011, SILVA, SERIKIDES, CASSALI, 2004).

Os mecanismos de sinalizações dadas pelos oncogeneses ampliam a expressão dos genes das ciclinas e também das quinases dependentes, ciclina-CDK. Eles são encarregados de permitir a progressão sistemática das células nas diferentes fases do ciclo celular. Para uma célula se formar e crescer, necessita-se da ativação das ciclinas-CDK, que antes inativados, agora passará a se expressar formando complexos mediante a fosforilação do gene pRb . As etapas acontecem na fosforilação do gene pRb, que são genes supressores tumorais, como também genes BRCA1 e BRCA2, os quais promovem o funcionamento do ciclo celular, a função destes genes é o controle do ciclo celular na transcrição das fases G1, G2, S e M. Quando há um descompasso neste ciclo, será favorável as alterações genéticas mais comuns de mutações (SOUZA, 2011, SILVA, SERIKIDES, CASSALI, 2004).

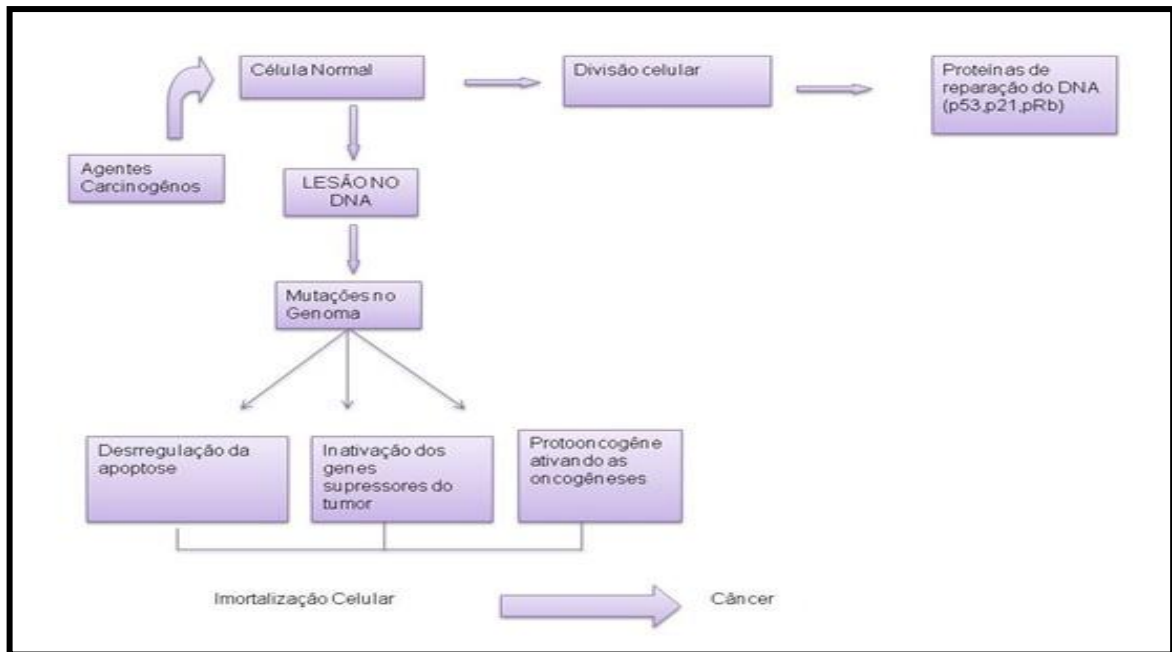
Na ocorrência do câncer, estas alterações genéticas passarão indetectáveis pela vistoria da proteína p53 no ciclo celular em pontos de checagem. O papel da p53 é monitorar a sequência da cadeia de DNA, possuindo caráter fator de transcrição moderando de forma positiva ou negativa a expressão de vários genes que permeiam as vias de sinalizações celulares, como a replicação na qual o p53 tem como função fazer o controle do ciclo celular entre a fase G1 para a fase S e da fase G2 para M garantindo que a unidade do genoma seja mantido e o controle da proliferação celular. Além disso, agem também na apoptose sendo ela responsável

pela vistoria e reparo do DNA de uma série de respostas a estresses e danos entre eles o dano ao DNA e o descontrole do ciclo celular ( SOUZA, 2011, PIANINO, 2009).

Em geral, as células cancerosas possuem menor especificidade de função que as consideradas normais, à medida que estas células vão permutar as células normais, os tecidos que antes era funcional agora passa a não ser mais, pode ocorrer o desvencilhamento destes tecidos iniciais alcançando um novo tecido, é por meio da angiogênese que células cancerígenas necessitam de nutrientes para continuar se proliferando e também como mecanismos de resistência à morte celular, as células cancerosas tornam-se capazes de se evadirem da apoptose (ALMEIDA, 2005, WEINBERG,2014).

Os protooncogenes são genomas de células normais que carregam um gene que tem o potencial, sobre certas circunstâncias, de induzir a transformação celular, codificando proteínas que funcionam para estimular a divisão celular, inibição da diferenciação celular e interrupção à morte celular. Quando há uma mutação nas protooncogenes, este passa a se tornar uma oncogenes, as protooncogenes ativarão as oncogêneses, haverá uma hiperexpressão desses genes modificados, aumentando a produção dessas proteínas, levando ao aumento da divisão celular, diminuindo a diferenciação celular e inibição da morte celular, em conjunto, esses fenótipos definem as células cancerígenas. Assim, os oncogenes são atualmente um grande alvo molecular para o planejamento de medicamentos contra o câncer (CHIAL ,2008, WEINBERG,2014).

Contudo, o câncer precisa de mutações muito específicas no fenótipo que podem ser em protooncogenese que vão ser formadas em oncogenese ou em genes supressores de tumores o qual precisam inativar esse gene supressor do tumor, em cada par de genes como genes supressores, deverão ter perda de heterogosidade, ou seja, é necessária a perda de dois genes iguais que são homólogos, e assim garantir que aquele fator de proteção contra uma desregulação consiga ser suprimido e se essas condições forem favoráveis, o resultado é uma célula transformada, ainda não chega ser uma célula tumoral, apenas ela se transformou está se proliferando de forma indeterminada, mas o que torna uma célula transformada para uma célula tumoral é o processo de imortalização e, portanto, levar o desenvolvimento do tumor (WEINBERG, 2014)



**Figura 5. Etapas da carcinogênese.**

Fonte: Adaptado WEINBERG, 2014.

### 1.6. Epidemiologia do Câncer.

De acordo com o Ministério da Saúde em parceria com o INCA, epidemiologicamente, a ocorrência de câncer no mundo em meados de 2012, foi expressa em cerca de 14,1 milhões de casos novos e 8,2 milhões de óbitos, os principais tipos de câncer que afetaram de forma geral à população no mundo foram pulmão (1,8 milhão), mama (1,7 milhão), intestino (1,4 milhão) e próstata (1,1 milhão). Na população masculina, os mais frequentes foram pulmão (16,7%), próstata (15,0%), intestino (10,0%), estômago (8,5%) e fígado (7,5%). Já para a população feminina, as maiores frequências foram encontradas na mama (25,2%), intestino (9,2%), pulmão (8,7%), colo do útero (7,9%) e estômago (4,8%). Referente ao Brasil, a estimativa de câncer para o ano biênio 2018-2019, surgirão 600 mil casos novos de câncer, em cada ano. Ressalvando o câncer de pele não melanoma (cerca de 170 mil casos novos), os quais serão 420 mil casos novos de câncer. Na população masculina brasileira, o câncer de próstata é o de maior episódio dentre todos os tipos de câncer, espera-se 68.220 de casos novos para o biênio 2018-2019, já em mulheres o câncer de mama também é o tipo mais comum espera-se



que para o biênio 2018-2019, seja de 56,33 casos a cada 100 mil mulheres (INSTITUTO DO CÂNCER, 2018).

Na região do Distrito Federal os dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2018 por sexo, exceto pele não melanoma listados (tabela 1) as incidências por gênero.

*Tabela 1.* Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes Distrito Federal, estimados para 2018 por sexo exceto de pele não melanoma.

Homens		Mulheres	
Localização Primária	Casos (%)	Localização Primária	Casos (%)
<b>Próstata</b>	5.330 (33,1%)	<b>Mama</b>	4.200 (29,0%)
Traqueia, Brônquio e Pulmão	1.360 ( 8,5%)	Colo do Útero	1.490 (10,3%)
Cólon e Reto	1.360 ( 8,5%)	Cólon e Reto	1.460 (10,1%)
Estômago	930 ( 5,8%)	Traqueia, Brônquio e Pulmão	940 (6,5%)
Cavidade Oral	780 (4,8%)	Estômago	530 (3,7%)
Esôfago	560 (3,5%)	Glândula Tireoide	480 (3,3%)
Bexiga	460 (2,9%)	Ovário	470 (3,2%)
Sistema Nervoso Central	460 (2,9%)	Corpo do Útero	460 (3,2%)
Laringe	410 ( 2,5%)	Sistema Nervoso Central	400 (2,8%)
Linfoma não Hodgkin	410 ( 2,5%)	Linfoma não Hodgkin	350 (2,4%)

\*Números arredondados para múltiplos de 10.

Fonte: Adaptado INCA, 2018.

### 1.7. Câncer de Mama.

A incidência de câncer de mama entre mulheres fundamenta-se ao estilo de vida que a mulher vive como também ao ciclo biológico da mulher. Alguns exemplos são a menarca antes de completar 12 anos, menopausa depois dos 55 anos, mulheres que não optaram engravidar, nuliparidade, ou que decidiram engravidar após os 30 anos, usos de métodos contraceptivos e terapias de reposição hormonais durante a menopausa tardia, ingestão de bebidas alcoólicas, consumo de

dietas pobres em nutrientes, hipercalóricas, sedentarismo são alguns fatores que as predispõe ao câncer e de fatores genéticos pela alteração nos genes como BRCA1 e BRCA2 que são genes de alto risco a predisposição ao câncer. Epidemiologicamente, o gene BRCA1 acomete populações de baixo risco, exemplo são as mulheres orientais e o BRCA2 acometem populações de alto risco, exemplo são as ocidentais (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2007).

O hormônio estrogênio juntamente com a prolactina, progesterona, esteroides adrenais e hormônios tireoidianos contribui para o crescimento das mamas em mulheres. A afinidade dos receptores de estrógeno ao estrógeno permite o desenvolvimento das células mamárias tanto em células normais como as células cancerígenas (SARAIVA, 2002).

Para a formação do estrogênio, é necessário sintetizar a testosterona (androgênio), pela ação das enzimas aromatases, que pertence a família do citocromo P450. Estas enzimas serão expressas mediante a ação da testosterona e por presença de fatores teciduais, esteroidogênicos, estas enzimas por afinidade à testosterona sintetizará o estrógeno, tornando-o mais biodisponível no organismo e assim responsáveis pelas características femininas promovendo o crescimento, diferenciação e funcionalidade de tecidos reprodutivos como o crescimento tecidos mamários com as glândulas mamárias e do endométrio (MAROCHIO, 2010).

O estrógeno possui dois receptores, receptor de estrogênio  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) e receptor de estrogênio  $\beta$  (ER $\beta$ ). Apenas o ER $\alpha$  é essencial para o desenvolvimento das mamas e ativa a sinalização pró-proliferativa no câncer de mama e de mama normal, enquanto o ER $\beta$  geralmente antagoniza ER $\alpha$  nas mamas. Após a ligação ao estrogênio, o ER $\alpha$  age por vias paralelas para alterar a expressão gênica. ER $\alpha$  transloca para o núcleo, ativa alvos genéticos diretamente ou em cooperação com proteínas co-ativadoras, ou por meio da transativação dos receptores, aumenta a sinalização do receptor da tirosina quinase. Esses caminhos convergem para promover o crescimento e proliferação e suprimir apoptose, apesar dos riscos associados à exposição ao estrogênio, ha mecanismos pelos quais o estrogênio contribui para o início a progressão do câncer de mama permanece indefinida (CALDON,2014).

Os receptores de estrogênio  $\alpha$  e  $\beta$  são codificados por genes diferentes, ERS1 e ERS2 encontrados em locais cromossomicos distintos os quais possuem

homologia ao DNA, isso presume as ações distintas nesses dois receptores frente às respostas biológicas do estradiol, quando estes receptores  $\alpha$  e  $\beta$  são desregulados, em termos de quantidade, nos órgãos reprodutivos isso pode estar relacionado ao estabelecimento de câncer, ademais, o estrogênio poderá contribuir para o câncer de mama através da indução de danos no DNA, o estrogênio por meio de uma sinalização estrogênica, haverá uma estimulação hiperativada provocando proliferação excessiva com insuficiente reparação (MAROCHIO, 2010, CALDON, 2014).

Visto que o câncer que acomete a população feminina, é muito importante à prevenção. Quando o diagnóstico é precoce, o exame preventivo como a mamografia, voltado para aqueles tumores nos quais não se consegue a percepção de nódulos nas mamas, auxilia em bons prognósticos e para no tratamento. É possível que a mulher não se submeta a procedimentos invasivos, diminuindo a possibilidade de morbidade, apenas pela retirada de nódulos e melhor recuperação.

Assim, o diagnóstico precoce, ameniza o aparecimento de sintomas e sinais como vermelhidão na pele, alterações no formato dos mamilos e das mamas, nódulos nas axilas, secreção escura saindo pelo mamilo, pele enrugada pele enrugada como casca de laranja em casos evoluídos da doença, pode-se observar uma ferida nas mamas. Além disso, a cirurgia das mamas pode ser traumática para mulher, considerando uma mutilação, pode haver a perda da função de membros superiores causando linfedema de braço após a remoção dos linfonodos (MORENO, 2017).

Todo o processo do câncer, desde o diagnóstico até o tratamento, podem trazer consequências ao indivíduo. Esta doença pode se expressar ou permanecer silenciosa durante anos, e impactar na vida do paciente interferindo na qualidade de vida do indivíduo fisicamente, emocionalmente, e em suas relações interpessoais, (CUNHA, 2017).

### **1.8. Agentes Antineoplásicos.**

As classes de agentes antineoplásicos são estudadas de acordo com seu mecanismo de ação. Envolvem varias etapas da síntese do DNA, como transcrição e transdução já que o câncer é resultado de uma alteração genética envolvendo o ciclo celular (ALMEIDA *et.al.*, 2005).

São adjuvantes à cirurgia e a radioterapia, pois são medicamentos citostáticos. Podem ser utilizados sozinhos ou em associações para eliminar células cancerígenas, impedindo o seu funcionamento e que promovam divisão celular de células filhas (CUNHA, 2017).

As principais vias de administração dos agentes quimioterápicos são endovenosas e orais, e o resultado do tratamento vai depender da absorção no organismo e a capacidade do princípio ativo passar por membranas e mucosas do trato gastrointestinal até chegar a massa tumoral, barreiras biofísicas como as delimitações em área do tumor e gradientes de pressão intersticial das células em dadas concentrações terapêuticas (OLIVEIRA, 2014).

Ainda assim, os agentes neoplásicos tem atuação celular de forma não específica, eliminando as células cancerígenas, mas também prejudicando o funcionamento de células normais, em especial aquelas que possuem crescimento acelerado como as gastrointestinais e capilares do sistema biológico o que justifica alguns efeitos adversos que surgem ao tratamento com quimioterápicos como náuseas, alopecia e susceptibilidade maior às infecções (ALMEIDA, 2005).

### **1.9. Tratamento.**

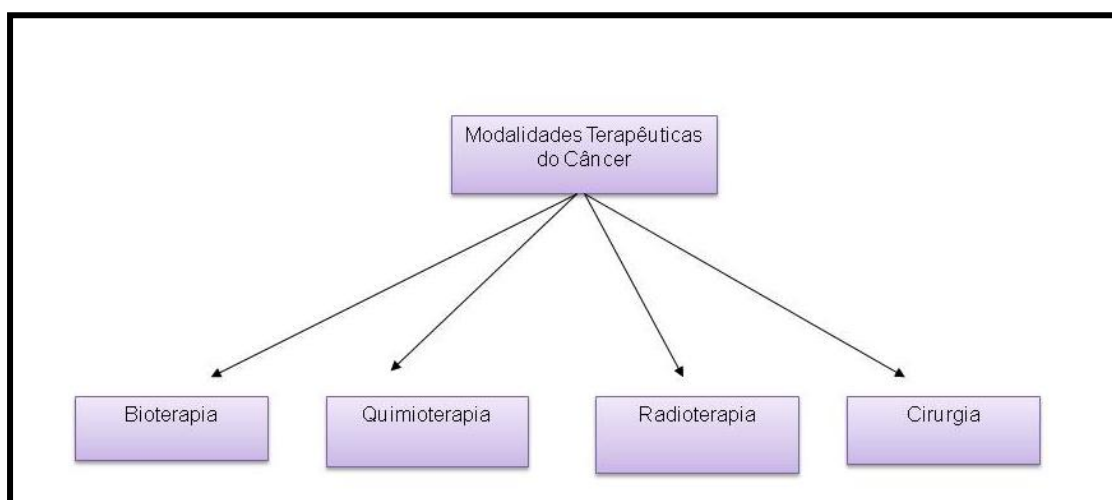
Os objetivos fundamentais do tratamento é a cura, prolongando a vida útil e a melhora na qualidade de vida dos pacientes quando diagnosticados precocemente e tratados previamente. Os principais aspectos de tratamento do câncer são enumerados quanto à suscetibilidade dos tumores, e cada especificidade terapêutica, as principais formas de tratamento, consiste na retirada cirúrgica dos tumores associado juntamente com a quimioterapia, radioterapia. Estas podem ser usadas simultaneamente dependendo do estágio do tumor e localização (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2012).

A quimioterapia varia de acordo com a modalidade de tratamento, podendo ser quimioterapia previa, adjuvante ou profilática, curativa, controle temporário da doença e paliativa.

A radioterapia consiste em uma terapia local, terapia locorregional ao qual o câncer está inserido. Esta modalidade consiste na aplicação de radiações ionizantes em casos de pacientes com tipo de câncer mais grave maligno e possivelmente benignas, esta técnica tem como finalidade atingir alvos como a estrutura interna

celular provocando à destruição celular ou a sua incapacidade celular. As modalidades de tratamento são classificadas como; radioterapia curativa, pré-operatória, pós-operatória, paliativa (CUNHA, 2017).

Além dos mencionados, outros tipos de terapia envolvem a bioterapia, que se tornou reconhecida como a quarta modalidade do tratamento do câncer aplicado após o tratamento cirúrgico, radioterapia e quimioterapia desde a biológica. A chamada bioterapia do câncer, é um método terapêutico que poderia inibir o crescimento de tumores, através do recrutamento do sistema imunológico do hospedeiro através do efeito de agentes biológicos, regulando assim o respostas biológicas do corpo (HAO, 2011).



**Figura 6: Modalidades terapêuticas voltadas ao tratamento de câncer.**

Fonte: Adaptado INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, HAO, 2011.

### **1.10. Moduladores Seletivos do receptor de estrogênio (SERM):**

Esta classe de medicamentos possui afinidade ao receptor de estrogênio na localização do ER do tecido, seu mecanismo de ação podem ser agonista, agonista parcial ou antagonista dos receptores de estrógeno (VIANA, 2007).

De importância para a clínica, destaca-se o Tamoxifeno (TMX). Este medicamento é muito utilizado na hormonioterapia por ser o mais importante agente hormonal que foi regulamentado e aceito pelo Food and Drug Administration (FDA) para prevenção do câncer de mama pré-menopausa, do carcinoma ductal *in situ* e no tratamento do câncer de mama pré-menopausa estrogênio-dependente quando

removido cirurgicamente. Como adjuvante, o TMX de forma significativa, reduz a ocorrência de câncer de mama, a sobrevida é de 10 anos em pacientes com câncer de mama. Apesar do seu significado farmacológico, o uso prolongado de TMX coloca os pacientes em risco aumentado de eventos tromboembólicos e malignidades uterinas (HOW *et.al.*, 2013).

Tabela 2: Os principais medicamentos da classe dos SERMs divididos em cinco classes terapêuticas.

Moduladores Seletivos de Receptores de Estrogênio				
Trifeniletlenos	Benzotiofenos	Tetrahidronaftilenos	Indols	Benzopiranos
Tamoxifeno	Raloxifeno	Lasoxifeno	Bazodoxifeno	EM-800
Droloxifeno	Arzoxifeno	Nafoxidine		Levormeloxifeno
Idoxifeno				
Clomifene				
Toremifeno				

Fonte: Adaptado Viana, 2007.

### 1.11. Tamoxifeno.

trans-1 (4-β-dimetilaminoetoxifenil) 1,2-difenilbut-1-eno (TMX) é um modulador seletivo do receptor de estrogênio (SERM) e pertence a uma classe de derivados trifeniletileno não esteroidais. Esta droga mostra efeitos potenciais em pacientes que possuem receptores de estrogênio positivo em células de câncer de mama por competir com estrogênio (ALTMAYER, 2016).

O Tamoxifeno foi liberado para uso pela FDA, seu uso destina-se ao tratamento hormonal adjuvante de pacientes com carcinoma invasivo de mama, tratamento paliativo em carcinomas metastáticos e atua na quimioprevenção em pacientes de risco elevado (MORENO, 2017).

De acordo com a classificação biofarmacêutica, o Tamoxifeno se enquadra no grupo secundário, ou seja, parâmetros relacionados à biodisponibilidade esperada,

este fármaco apresenta-se baixa solubilidade em água por ser uma base fraca, seu pKA é de aproximadamente 8,8 e possui maior permeabilidade celular, por estas características, implica na dissolução, a absorção e na biodisponibilidade. Estes fatores são prejudicados em consequência desta baixa solubilidade, por isso, o tamoxifeno base, para aumentar sua solubilidade será convertido na forma de sal, formando o composto Citrato de Tamoxifeno (MOREIRA, 2015, OLIVEIRA, 2014)

O Tamoxifeno possui afinidade ao receptor de estrogênio, por sua ação anti-estrogênica, irá antagonizar o estrogênio endógeno no sítio de ligação do receptor, seu mecanismo dos receptores de estrogênio  $\alpha$  encontrado nos tecidos dependentes deste hormônio do aparelho reprodutivo e tecido mamário, os quais, tem como funcionalidade o desenvolvimento sexual e função reprodutiva, impossibilitando sua ação em caráter proliferativo de metástases, impedimento a formação de células cancerígenas mamárias, contudo possui ação agonista nos receptores de estrogênio  $\beta$  (ER $\beta$ ) presentes no ovário, endométrio, cérebro e tecidos ósseos estimulando a síntese de estrogênio de forma que promova a inibição da síntese de DNA no ciclo celular nas fases G1 e G0, promovendo então um efeito citostático e não citocida, um dos motivos de serem utilizados como coajuvantes ao tratamento do câncer. (BOTOGOSK, 2009, SILVA, 201, MOREIRA, 2015).

O tamoxifeno é, em certo sentido, um pró-fármaco que requer ativação metabólica para induzir atividade farmacológica. É metabolizado no fígado e formam complexos hidroxilados, como produto obtêm-se as isoformas do citocromo P450-CYP26 e CYP3A4, 4-hidroxi-tamoxifeno (afimoxifeno) e N-dimetil- 4-1-hidroxi tamoxifeno (endoxifeno) que ligam mais eficazmente ao seu receptor de estrogênio proteico alvo que o tamoxifeno por si só. O 4-hidroxitamoxifeno inibe a transcrição de genes responsivos ao estrogênio, funcionando como um estrogênio antagonizando do receptor no tecido mamário. Depois de ligar 4 hidroxitamoxifeno com ER, o complexo RE / tamoxifeno traz proteínas co-repressoras que regulam as funções de vários genes. O tamoxifeno precisa de outra proteína PAX2 para executar o seu efeito anticancerígeno, uma vez que supressão da proteína proliferativa ERBB2, esses metabólitos representativos de tamoxifeno, são relatados como ativas frações terapêuticas (BOTOGOSK *et. al.*, 2009, ZEMBUTSU,2015, ALI,2016).

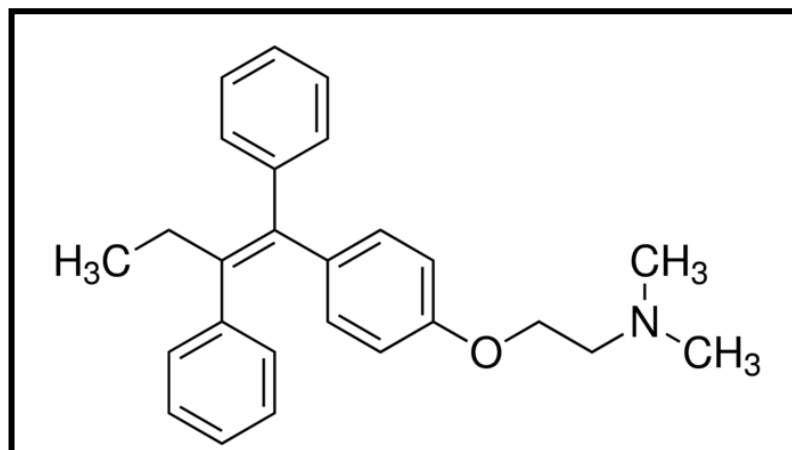
No processo de metabolização o Tamoxifeno é entero-hepática. Serão formados conjugados com o ácido glicurônico, e depois excretados no intestino pelo ducto biliar, e lá serão reabsorvidos e novamente voltarão para a corrente sanguínea. A reabsorção entero-hepática dos metabólitos formarão metabólitos hidrolisados e conjugados do tamoxifeno. Os metabólitos ativos serão reabsorvidos e acabam depois eliminados nas fezes e o metabólito inativo, desaminado, serão eliminados pela urina (VIANA, 2007)

Os dois metabólitos resultante da metabolização deste fármaco, anfitamoxifeno e endotamoxifeno possuem 100 vezes maior afinidade para os receptores de estrógeno, e 30 a 100 vezes maior potência na inibição crescimento celular dependente de estrogênio comparado com Tamoxifeno. As diferenças na formação destes metabólitos ativos afetam a variabilidade interindividual no resposta ao tamoxifeno. O CYP2D6 está bem conhecido por ser uma das enzimas importantes para a geração de 4-hidroxitamoxifeno e endoxifeno (ZEMBUTSU, 2015).

O uso do tamoxifeno possui muitos efeitos colaterais, sua ação agonista parcial no estrogênio, pode trazer grandes benefícios, pois contribui para retardar a desmineralização óssea em mulheres depois da menopausa, no entanto, aumenta o risco de câncer de endométrio e causando fenômenos tromboembólicos como a trombose venosa profunda além de outros efeitos adversos como fogachos, corrimento vaginal, irritação, osteopenia e osteoporose, fraturas patológicas, catarata, outros efeitos incluem câncer hepático pelo metabolismo de lipídeos associado a esteatose. Apresentando ação antagônica na mama, embolia pulmonar, disfunção ocular como a retinopatia e opacidade corneal, disfunções uterinas benignas como o surgimento de pólipos em mulheres na pós-menopausa que fazem a utilização terapêutica com o tamoxifeno, e seu uso prolongado podem surgir resistência ao medicamento. Os efeitos adversos são explicados, pois este fármaco possui dose dependente (OLIVEIRA,2014).

Além dos efeitos colaterais possui alguns efeitos adversos como rubor, amenorréia, menstruação alterados e transtornos menstruais, oligomenorreia, cisto de ovário dor óssea, náusea, tosse, edema, fadiga, dor musculo esquelética, cólicas abdominais, depressão e anorexia (FDA).





**Figura 7: Estrutura Química do Tamoxifeno**

Fonte: Adaptado Sigma-Aldrich.

### 1.12. Nitroprussiato de Sódio.

O pentacianonitrosilferrato dissódico (2<sup>-</sup>), como seu nome comercial nitroprussiato de sódio é um agente hipotensor, é um vasodilatador de ação rápida, ativo em ambas as artérias e veias (FDA).

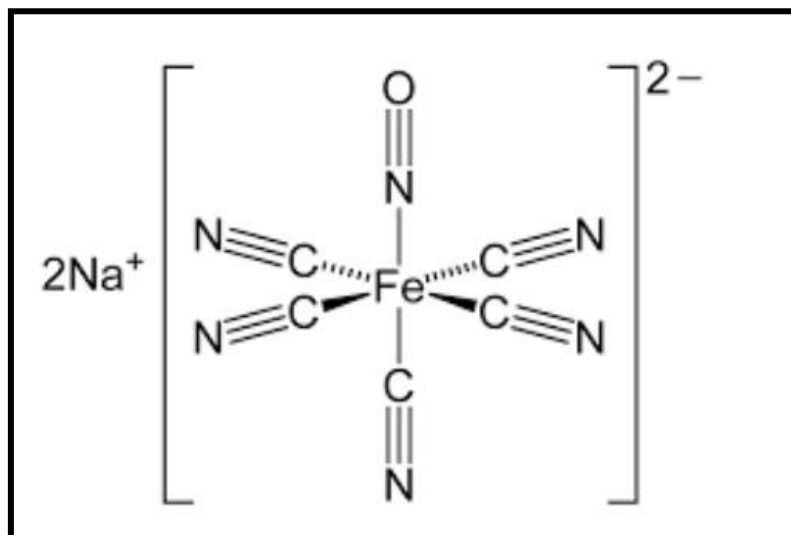
O Pentacianonitrosilferrato é constituído por uma molécula de ferro ferroso ( $Fe^{2+}$ ) complexado com um grupamento cianeto e um grupo nitrisílo óxido nítrico (NO) e cinco ânions cianeto, sua molécula é instável e se degrada na presença de luz ou em meios alcalinos (CARVALHO, 2012).

Algumas funções biológicas são moduladas pelo óxido nítrico (NO), de maneira dependente de sua concentração. Em baixas concentrações, o NO desempenha vários papéis indutivos e inibitórios como na transdução de sinal, resultando na regulação dos sistemas cardiovasculares e circulatórios, controle do sistema nervoso e sistemas respiratórios e regulação imunológica, em concentrações mais altas são tóxicos tanto para os microrganismos patogênicos, quanto para as células tumorais. O NO se mistura facilmente, vinculando-se a alvos no organismo, resultando em atividades variadas e algumas vezes diversas, seu metabolismo é rápido gerando metabólitos incluindo espécies como peróxido de nitrito que exibem mecanismos antitumorais, o NO é uma molécula altamente eficaz para sinalização local e transiente, sublinhando a importância de sua atividade específica pois possuem fatores que influenciam o microambiente tumoral no local de ação, do oxigênio bem como a arquitetura dos tecidos e vasos locais. Todos estes elementos são diretamente proporcionais a concentração de NO a sua

concentração influencia o potencial redox da celular, os estágios do ciclo celular, o meio ambiente e o tipo de células normal versus tumor (SCICINSKI *et. al.*,2015,SOMASUNDARAM *et.al.*, 2016).

O metabolismo do nitroprussiato pode levar à formação de metemoglobina pela dissociação da cianometemoglobina formada na reação original do nitroprussiato de sódio com a hemoglonina por meio oxidação direta da hemoglobina pelo grupo nitroso (NO) liberado. Há a interação desta molécula com a hemoglobina, a metahemoglobina que está presente na hemoglobina, consegue se ligar ao cianeto para formar a cianemhemoglobina (cyanmethHgb) e 4 íons cianeto (CN<sup>-</sup>). O cianeto por sua vez,se liga ao íon férrico (Fe<sup>3+</sup>), sendo este a maioria das reservas corporais encontradas na metemoglobina dos eritrócitos (methHgb) e nos citocromos mitocondriais. O ferro férrico dos citocromos que está ligado ao cianeto, impede os citocromos de participar metabolismo oxidativo. Impedindo das células serem capazes de suprir suas necessidades de energia utilizando suas vias anaeróbicas, mas geram assim uma carga corporal crescente de ácido láctico promovendo assim a morte destas células por hipóxicas (FDA).

As reações colaterais mais importantes ao nitroprussiato de sódio são as evitáveis, como a hipotensão excessiva, metemoglobinemia, toxicidade por cianeto. Os principais efeitos adversos são bradicardia, taquicardia, erupção cutânea, hipotireoidismo,alterações gastrointestinais, diminuição da agregação plaquetária, aumento da pressão intracraniana, rubor e estrias venosa (FDA).



**Figura 8: Estrutura química do Nitroprussiato de Sódio.**

Fonte: Google.

## 2. JUSTIFICATIVA.

Os efeitos adversos causados por quimioterápicos documentadamente estão relacionados a seleção de moléculas com propriedades químicas como tamanho molecular, lipofilicidade e afinidade, proporcionando interações específicas pelo sítio de ação para impedir a oscilação entre o que é efeito terapêutico para efeito tóxico às células que necessitam de tratamento, por isso, o alvo de muitas pesquisas buscam produzir sistemas de liberação controlada/sustentada a fim de conduzir o fármaco para liberar no local específico e adequado com concentrações e tempo proporcionando um efeito terapêutico por meio de moléculas terapêuticas (PRATA, 2011).

Da classe dos SERMs, o Tamoxifeno é mais utilizado na hormonioterapia, especificamente para o tratamento de câncer de mama, e é o único medicamento aprovado pelo FDA. Sua ação ajuda na prevenção do câncer de mama pré-menopausa, no tratamento do câncer de mama pré-menopausa estrogênio-dependente removido cirurgicamente e do carcinoma ductal *in situ*, contudo, este fármaco apresenta baixa solubilidade implica na dissolução e interfere na absorção e biodisponibilidade (MOREIRA, 2015).

O nitroprussiato de sódio tem uma meia-vida curta e reage rapidamente em outros compostos como por exemplo, o óxido nítrico (NO) é produzido a partir de enzimas como óxido nítrico sintetase (NOS), as quais tem efeitos celulares na ordem

de segundos a horas, estas enzimas possuem várias atividades biológicas, como por exemplo atividade no linfócito T imunogênico, gerando respostas citotóxicas, bem como produzem como respostas a uma atividade bacteriostática, como uma alternativa promissora para o estudo de liberador de óxido nítrico na oncologia (HUERTA, 2015).

Mediante as interfaces do Tamoxifeno e Nitroprussiato de Sódio, sugere-se o desenvolvimento e caracterização de um sistema de liberação dos fármacos tamoxifeno em associação ao nitroprussiato de sódio, aspirando benefícios quanto a sua aplicabilidade ao tratamento do câncer aprimorando uma formulação que contribua para o aumento de sua biodisponibilidade no organismo como também objetivando reduzir os efeitos adversos, resultando em uma terapêutica eficaz destes fármacos.

### **3. OBJETIVOS.**

#### **3.1. Objetivo Geral.**

O presente trabalho tem como objetivo produzir e caracterizar espectroscopicamente partículas derivadas de poliacrilatos (Eudragit® RL 100) contendo os fármacos Tamoxifeno (TMX), Nitroprussiato de sódio (NPS) e seu sistema sinérgico TMX +NPS.

#### **3.2. Objetivo específico.**

Produzir um sistema de liberação mediante a incorporação dos fármacos utilizados neste estudo aos derivados de metacrilatos com dimensões menores que 400nm prevendo uma aplicabilidade ao tratamento de câncer através de:

- Dimensões menores que 400nm.
- Determinação da Concentração dos Fármacos.
- Espectroscopia na região Uv-vis
- Eficiência de Encapsulamento.
- Perfil de Liberação.
- .Espectroscopia de Infravermelho (IR) com transformadas de Fourier.
- Avaliação da Estabilidade.

### **4. METODOLOGIA**

#### 4.1. Materiais

Os reagentes necessários para a realização deste trabalho estão de acordo com a tabela a seguir.

Tabela 3. Apresentação dos reagentes utilizados com seus respectivos fabricantes.

<b>Materiais</b>	
<b>Reagentes</b>	<b>Fabricantes</b>
Metanol	Dinâmica Química Reagentes
Tamoxifeno Base	Sigma- Aldrich, USA
Nitroprussiato de Sódio.	
Monoestearato de sorbitano (Span® 60)	Sigma- Aldrich, USA
Eudragit® RL 100	Evonik industries
KBR	
Água destilada	

#### 4.2. Equipamentos

A seguir são listados todos os equipamentos utilizados para a realização deste trabalho.

Tab. Apresentação dos equipamentos utilizados com seus respectivos fabricantes.

Tabela 4. Apresentação dos equipamentos utilizados com seus respectivos fabricantes.

<b>Equipamentos</b>	
<b>Equipamentos</b>	<b>Fabricante</b>
Chapa de Aquecimento e agitador magnético.	Logen Scientific
Centrífuga de microtubos	Hettich Lab Technology, USA
Espectrôfotômetro Uv-Vis.	Perkin Elmer Lambda 25 Spectrometer
PTP- A Air Cooled Peltrier System	UV/VIS, Perkin Elmer, USA
Espectrofotômetro infravermelho com transformada de Fourier, modelo IR Prestige-21.	Spectrophotometer Hitachi Shimadzu, JAP
Zetasizer Nano ZS Series.	

---

Pipetas p100,p1000	Malvern Instruments Limited, UK
Elenmeyer	KASVI, basic
Proveta	Bioage
Bailarina	Bioage
Banho Maria, modelo científica	Migiglas.
Termômetro	
Prensa	Victor do Brasil
	Shimadzu, JAP

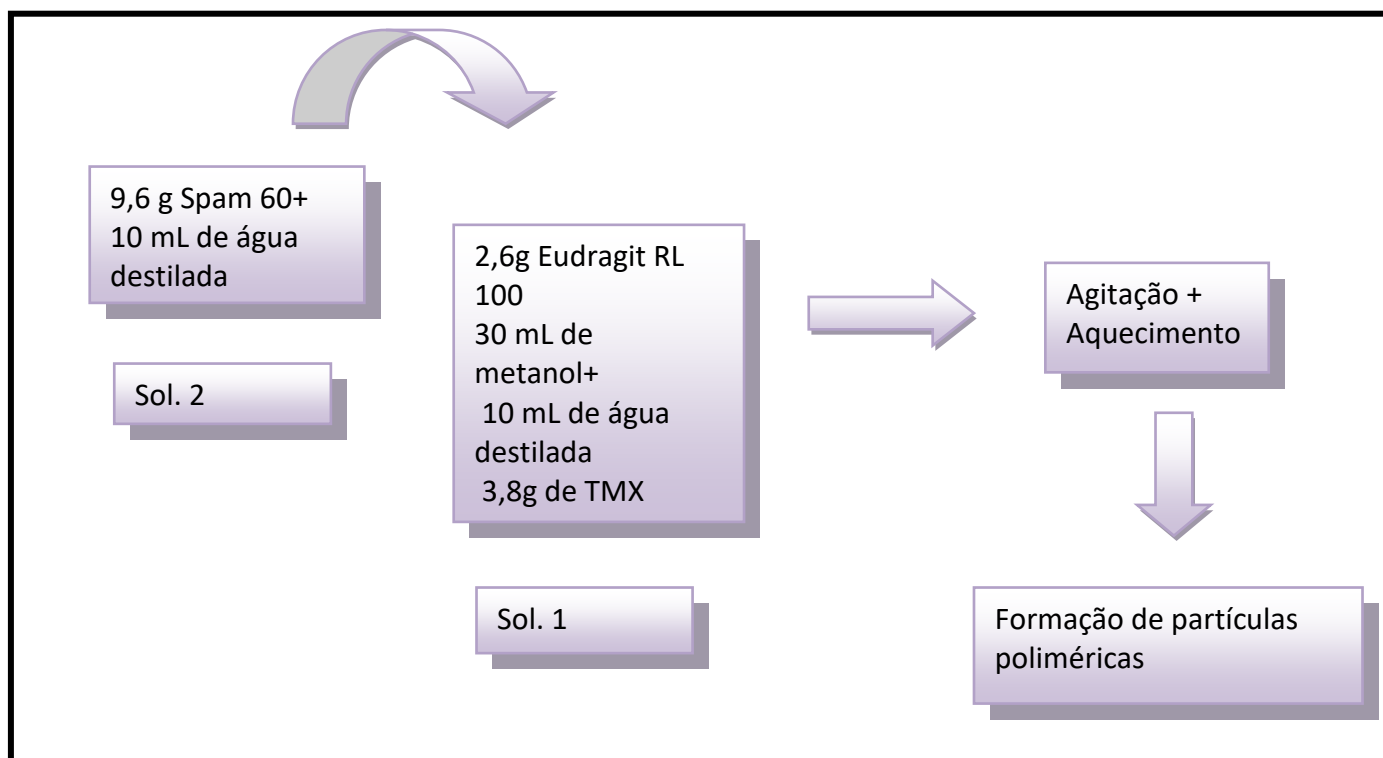
---

### 4.3. Preparação das partículas poliméricas

As partículas poliméricas a base de Eudragit RL 100 foram produzidas através de uma adaptação do método de evaporação do solvente (Li, Rouaud, Poncelet, 2008).

Brevemente foram feitas duas soluções, uma contendo o poliacrilato Eudragit® RL 100, Spam 60, água destilada e metanol em uma proporção 3:1 (v/v), e a segunda solução contendo o Spam 60 e água destilada em um volume de 10 mL, a qual foi invertida na primeira solução em seguida submetida a agitação com auxílio de uma barra magnética e a chapa com aquecimento, a partir disto, inferiu-se a formação espontânea de partículas poliméricas.

Para partículas poliméricas carregadas com tamoxifeno e o nitroprussiato de sódio do fármaco são adicionadas à solução de Eudragit RL® 100. A mesma metodologia foi utilizada para a incorporação do Tamoxifeno, Nitroprussiato de sódio e Tamoxifeno associado ao Nitroprussiato de sódio (Tmx+NPS) na qual assim como de nitroprussiato e sua associação são adicionadas à solução de Eudragit.(figura 10)



**Figura 9. Representação esquemática da preparação das partículas poliméricas contendo Tamoxifeno e Nitroprussiato de sódio.**

#### **4.4. Determinação da concentração do Tamoxifeno e Nitroprussiato de Sódio em métodos espectrofométricos.**

Para obter a concentração de um soluto em uma solução desejada por espectrofotometria, será necessário comparar na solução a que se deseja determinar a sua concentração pela solução de referência, para isso é necessário uma solução padrão com varias concentrações (pontos) que terão sua absorbância estabelecida, a partir disso, dilui-se a solução padrão nas proporcionalidades desejadas a fim de obter as concentrações. É por meio das absorbâncias e das concentrações pode-se traçar o gráfico da curva-padrão. É por meio deste gráfico prevê a linearidade e a proporcionalidade entre a concentração aumentada e da absorbância o qual condiz com o limite de sensibilidade ao método espectrofométrico (SANTOS, 2013).

A quantificação da concentração de fármacos dissolvidos nas soluções consiste na espectrofotométrica por absorção o qual se fundamenta na relação direta entre a quantidade de luz absorvida e a concentração da substância, também

conhecida como lei de Beer. Quando a concentração (c) é expressa em mol/L<sup>-1</sup> e o caminho óptico (b) em centímetro são representados pela equação

$$A = \epsilon.b.c$$

A = absorvância, logaritmo do inverso da transmitância ( $A = -\log 1/T$ )

$\epsilon$  = absorvância molar

Equação 1: Cálculo da quantificação da concentração dos fármacos pela Lei Lambert Berr

As amostras foram analisadas de forma quantitativa no espectro uv-vis e os gráficos foram construídos mediante a relação das concentrações do Tamoxifeno e Nitroprussiato no eixo das abcissas (x) e os valores das absorvâncias obtidas no eixo das ordenadas (y) pelo uv-vis.

#### **4.5. Avaliação da distribuição de diâmetro hidrodinâmico e potencial $\zeta$**

A distribuição de diâmetro hidrodinâmico consiste na técnica de espalhamento dinâmico da luz (*Dynamic Light Scattering*, DLS), um feixe de luz emitido na suspensão das partículas provoca um movimento, que denominado movimento Browniano. Na prática, partículas suspensas em um líquido nunca são estacionárias, as partículas estão em movimento constantemente isto acontece devido ao movimento browniano (MALVERN INSTRUMENTS, 2004).

O movimento browniano é o movimento de partículas submetidas à colisão aleatória com as moléculas do líquido que envolve as partículas. Uma característica importante do movimento browniano para a DLS é que pequenas partículas se movem rapidamente e partículas grandes se movem mais lentamente (MALVERN INSTRUMENTS, 2004).

O potencial  $\zeta$  é determinado por meio da facilidade de locomoção eletroforética das partículas as quais as partículas vão de encontro ao eletrodo de carga oposta e, assim, mede-se a velocidade de movimentação das partículas, que é expressa em unidade de voltagem (MALVERN INSTRUMENTS, 2004).

As amostras coloidais utilizadas para análise da distribuição de diâmetro hidrodinâmico médio e potencial  $\zeta$  uma alíquota de amostra foi transferida para uma cubeta em que as medições foram realizadas 25,0 °C em um ângulo de 73° e sobre ela aplicado um feixe de luz para o potencial hidrodinâmico e para o potencial zeta a



amostra será submetida a um potencial o qual serão medidos e obtidos no software Zetasizer

#### **4.6. Avaliação da eficiência de Encapsulamento (EE%).**

A avaliação da eficiência de encapsulamento (EE%) tem como objetivo determinar a quantidade em porcentagem de fármaco que foi incorporada ao sistema nanoparticulado avalia-se a razão entre a quantidade de fármaco encapsulado e a quantidade inicial de fármaco utilizada na preparação das micropartículas (equação).

$$EE\% = \frac{\text{Quantidade de fármaco encapsulado}}{\text{Quantidade inicial de fármaco}} \times 100\%$$

Equação2: Cálculo da porcentagem da eficiência de encapsulamento.

Para a quantificação de quanto de fármaco está presente no interior da partícula polimérica, a amostra foi submetida a análise de espectrofotometria UV/Vis, com o uso do solvente metanol, que permite em as partículas sofreram desintegração da sua matriz polimérica e assim promover a liberação do fármaco na amostra a ser analisada.

Para o cálculo da concentração do fármaco encapsulado houve a aplicação da equação da reta obtida mediante a curva de calibração do tamoxifeno e nitroprussiato em metanol e no comprimento de onda no comprimento de onda de 190-1200 nm (MENDEHAL, *et. al.*,1978, RAHAWI *et.al.*,2011).

#### **4.7. Avaliação do perfil de liberação do fármaco**

O perfil de liberação tem como finalidade simular a cinética de liberação do fármaco da matriz polimérica em função do tempo equivalente ao sistema no organismo e determinar a possível liberação específica em determinados pHs. Para as análises de doseamento do fármaco foi utilizada a técnica de espectrofotometria UV/Vis, logo após a preparação das micropartículas, durante as duas primeiras horas e depois, a cada 24 horas durante uma semana. As amostras foram analisadas no Perkin Elmer Lambda 25 Spectrometer UV/VIS juntamente com o auxílio do aparelho PTP- A Air Cooled Peltrier System, Perkin Elmer a temperatura

aproximadamente de 37,0 °C, para simulação *in vitro* da temperatura fisiológica humana.

Após a preparação das partículas poliméricas de TMX, NPS, TMX+ NPS, foi centrifugada a amostra durante 60 minutos a 30.000 RPM foi separado do sobrenadante, em seguida, a secagem das partículas no dessecador.

Após a secagem das amostras, pesou-se 10 mg de TMX e NPS adicionando 2mL de três diferentes pHs, tampão fosfato salino tampão TRIS pH 8,4 e 72 mg tampão HCl-KCl pH 2,0, para avaliar a cinética de liberação, *in vitro*, do Tamoxifeno, do Nitroprussiato e sua associação na matriz polimérica. As amostras foram mensuradas no espectrofotômetro, os dados foram extraídos com o auxílio do software Time drive lambda, Perkin Elmer Lambda 25 Spectrometer UV/VIS, e calculados a partir da equação da reta utilizando os pHs e em seguida transferidos para o programa de construção gráfica GraphPad Prism 5.0.

#### **4.8. Avaliação espectroscópica na região Uv-Vis**

Para o espectro de absorção foram analisadas as partículas poliméricas vazias, o fármaco Tamoxifeno incorporado na partícula polimérica assim como o Nitroprussiato e sua associação TMX+NPS, com o objetivo de verificar o comportamento da matriz polimérica e destes encapsulados nas partículas.

Os espectros de absorção foram obtidos por meio do software scan lambda, Perkin Elmer Lambda 25 Spectrometer UV/VIS, com auxílio de cubetas de quartzo no qual as amostras foram submetidas em uma faixa espectro entre 200 a 500nm para TMX e para o NPS e transferidos para o programa de construção de gráficos GraphPad Prism 5.0.

#### **4.9. Avaliação espectroscópica na Região Infravermelhos (IR) com Transformadas de Fourier .**

Foram analisadas amostras do tamoxifeno base, nitroprussiato cristalino, partículas vazias contendo o polímero Eudragit RL® 100, partículas contendo tamoxifeno, nitroprussiato e a associação TMX+NPS. foram misturadas em 3mg de KBr brevemente secas na estufa por um dia. Em seguida foram produzidas pastilhas

de brometo de potássio (KBr) previamente seco e realizado pastilhas com as amostras as quais foram prensadas a 80,0 kN por 3 minutos.

Para a realização das leituras no equipamento, compreende-se na região no comprimento de onda 5.000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ . Após as análises foi possível observar a manutenção dos picos referentes os compostos sintetizados, observando os principais picos identificados nas amostras no gráfico como também, verificar as absorções presentes entre o polímero e os fármacos a fim de inferir a presença do composto no interior da matriz polimérica e a eficiência de encapsulamento. Os dados foram extraídos para software IR Solution 1.50, sendo então transferidos para o programa de construção gráfica GraphPad Prism 5.0.

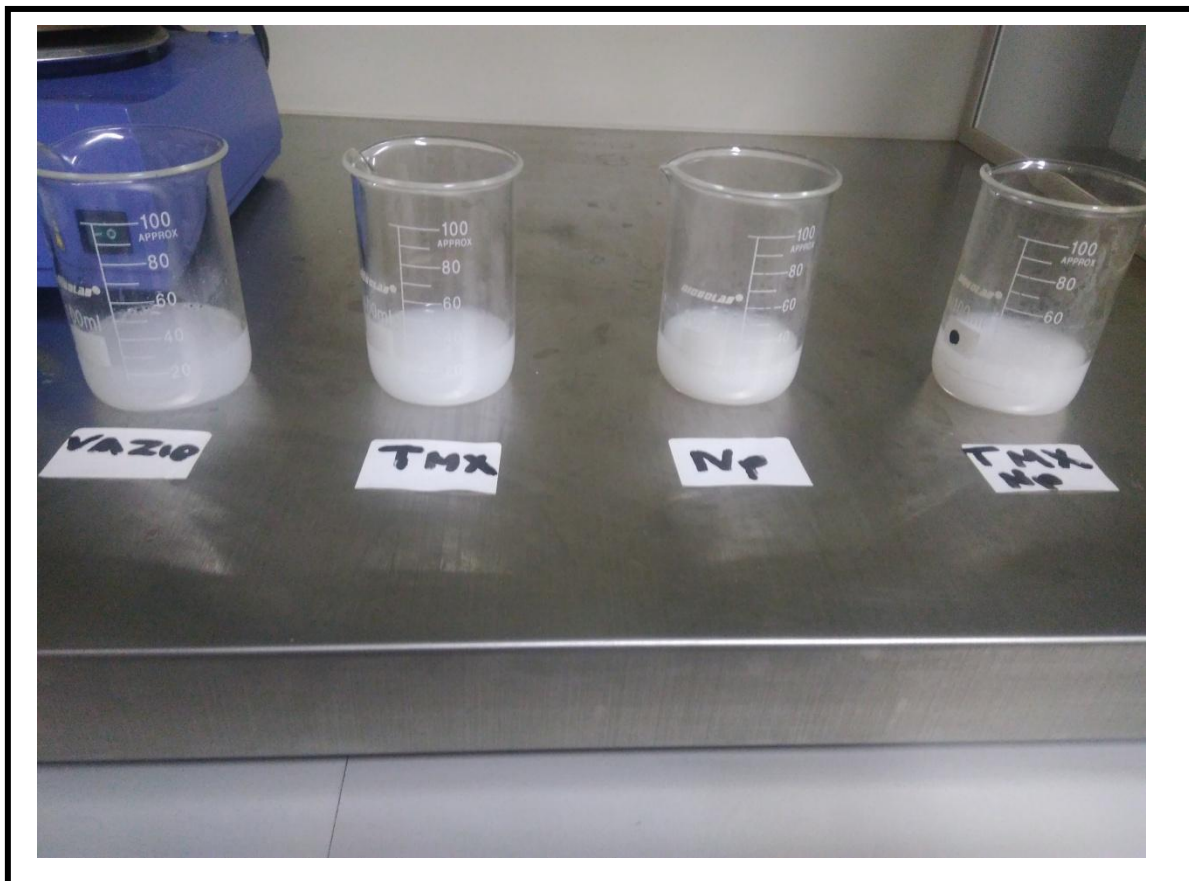
#### **4.10. Avaliação do Perfil de Estabilidade.**

A determinação do perfil de estabilidade tem como finalidade, determinar a estabilidade das partículas poliméricas produzidas em relação ao diâmetro hidrodinâmico em função do tempo. As amostras foram mantidas em banho-maria a 37,0 °C, e a cada 24h por 5 dias foram mensurados através do diâmetro hidrodinâmico com o auxílio do equipamento Zetasizer Nano ZS Series, Malvern Instruments.

## **5. RESULTADOS e DISCUSSÃO**

### **5.1. Síntese das partículas Poliméricas.**

A produção das partículas poliméricas pelo método de evaporação do solvente adaptado obteve-se suspensões coloidais exibindo um aspecto homogêneo indicando um sistema estável. O aspecto é leitoso devido ao movimento Browniano das partículas (Fig13.).



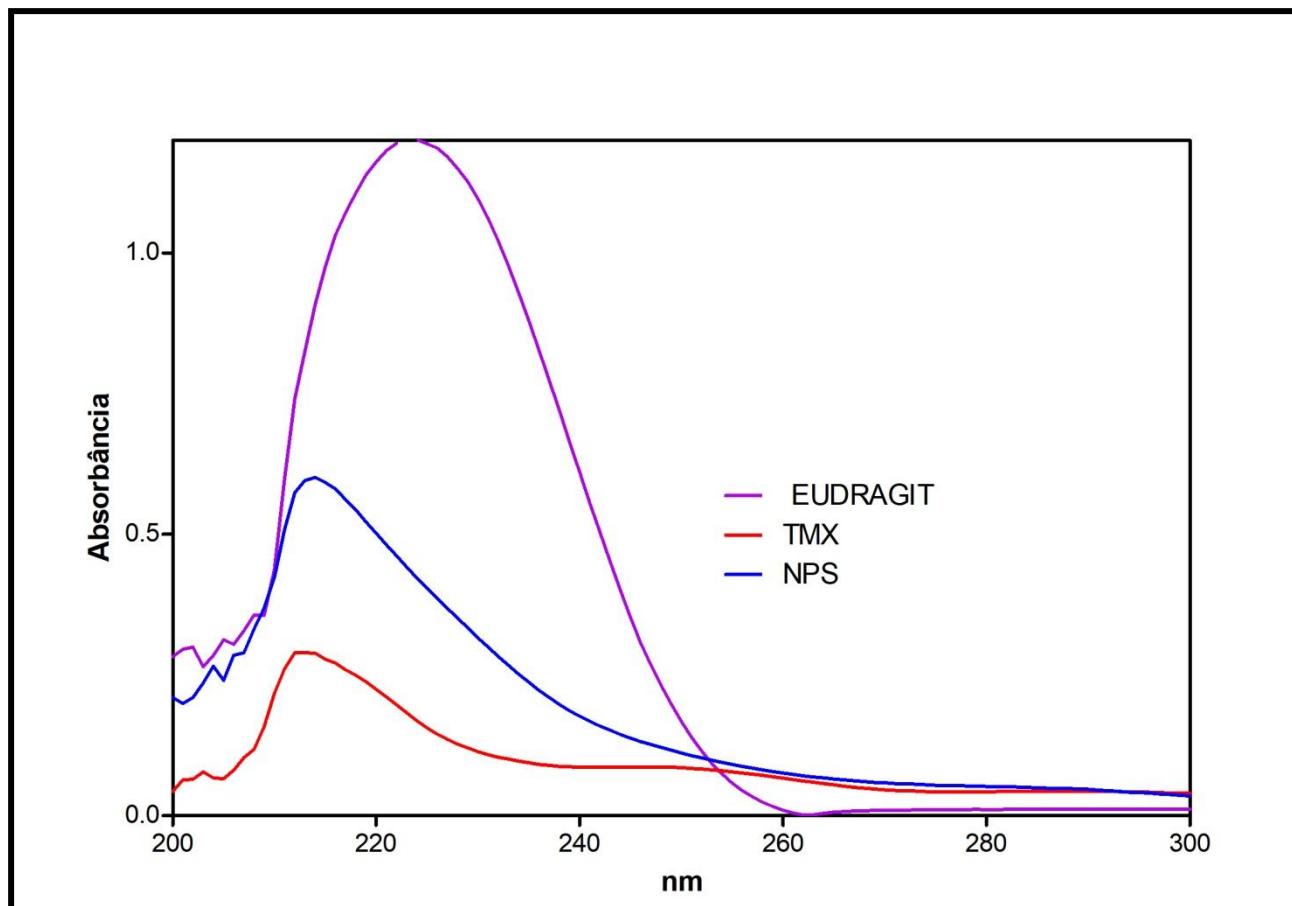
**Figura 10: Obtenção de sistemas coloidais após a produção das partículas poliméricas**

Fonte: *Própria autora.*

## **5.2. Avaliação espectroscópica na região UV/vis.**

A espectroscopia na região do UV/vis é um método analítico que permite caracterizar o comprimento de onda de absorção em nm. A determinação espectroscópica na região UV/vis tem como função quantificar aprisionados encapsulados nas partículas em relação às faixas de absorção de luz.

FF



**Figura 11: Absorbância dos fármacos e Eudragit® em metanol**

Após as análises no espectrofotômetro correspondente Tamoxifeno base apresentou um espectro de absorção em comprimento de onda de 214 nm, para o Nitroprussiato de Sódio 218nm, a associação de fármacos em 201 nm. e o Eudragit RL® 100 apresentou um espectro de absorção de comprimento de onda de 226nm.

As análises das partículas poliméricas, o espectro de absorção obtido foi de 277nm para o Tamoxifeno, 260nm para o Nitroprussiato e o sistema sinérgico foi de 264nm.

As absorvâncias dos fármacos tiveram um caráter de incidência de luz maiores assim para 200 a 300 nm. Com os resultados obtidos, todos apresentam picos de absorção máximas nas quais o Eudragit® atua. Os fármacos quando incorporado ao polímero, tiveram suas absorvâncias aumentada submetido no solvente orgânico metanol, isso pode ter corroborado para inferir que os fármacos podem estar aprisionados na superfície da partícula aumentando a sua concentração e também a destruição da matriz polimérica das partículas em solução de metanol, determinando assim que os fármacos foram aprisionados na matriz e encapsulados.

### 5.3. Avaliação do diâmetro hidrodinâmico e potencial $\zeta$ das amostras

Após a preparação das partículas poliméricas, uma alíquota foi diluída em água destilada e analisado os três sistema quanto ao perfil de distribuição do diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersividade (Pdl) e potencial  $\zeta$  (Tabela, Figura) no equipamento Nanosizer Zeta (Malvern, UK) a temperatura de 25 °C. A distribuição de diâmetro foram medidas e expressas como média de três leituras e expressas pelas médias.

*Tabela 5: Resultados das médias do diâmetro, Pdl, potencial  $\zeta$ .*

Partícula	Diâmetro (nm)	Pdl	potencial $\zeta$
<b>Vazio</b>	367,7 ± 21,7	0,616 ± 0,01	+81,9±1,99
<b>TMX</b>	203,0 ± 3,75	0,350± 0,02	+32,23± 3,04
<b>NPS</b>	315 ± 5,63	0,291 ± 0,03	+58,5± 3,21
<b>NPS+TMX</b>	319,0 ± 21,6	0,592 ± 0,05	+52,40± 0,47

O perfil do diâmetro hidrodinâmico e potencial  $\zeta$  são as principais características físico-químicas que permeiam um sistema coloidal nanoparticulado, através destes dois aspectos, mensura-se a estabilidade de fármacos quando aderidos na matriz polimérica e na superfície garantindo a ação destes no local específico desejado.

A utilização do tensoativo no processo é de grande importância para a dispersão para a estabilização da emulsão obtida. Um tensoativo atuará na retenção superficial de fase contínua, evita a coalescência e aglomeração e estabiliza a emulsão por isso, é importante a escolha do tensoativo e determinar a sua concentração, pois estes atuam diretamente em nanocapsulas e nanoesferas proporcionando um tamanho desejável além de atuar de forma positiva na eficiência de encapsulação. Em altas concentrações o tensoativo diminuirá o tamanho das partículas formadas (LI,ROAUD,PONCELET,2008, PASQUALIN,2015).

Em estudos relacionando a produção de microesferas Eudragit RL carregadas com nitriptino, da classe de anti-hipertensivos pelo método de evaporação de solvente, as microesferas foram satisfatórias considerando seu tamanho e forma, o tamanho da microesfera aumentou com o aumento da concentração de polímero que produziu um aumento significativo na viscosidade, conduzindo a um tamanho de microesferas maior (BASU e ADHIYAMAN, 2008).

A produção de microesferas contendo aceclofenaco, um anti-inflamatório antirreumático, demonstra a relação da droga constante e o polímero variado em relação à concentração, aumenta a viscosidade influenciada pela interação entre a fase dispersa e meio de dispersão que afeta a distribuição de tamanho de partícula.

Se houve aumento na quantidade de polímero, houve aumento da viscosidade relativa assim, como resultado, aumenta o tamanho médio das partículas (TRIVETI, VERMA, GARUD, 2008).

Geralmente o diâmetro das nanopartículas varia entre 100-300 nm (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003). Nanopartículas produzidas por diferentes metodologias podem apresentar tamanho entre 100 e 500 nm (Domingues, 2006). As nanopartículas poliméricas possuem, com um limite superior de aproximadamente 1000 nm, contudo, a faixa de tamanho está entre 100-500 nm (STECANELLA, 2011)

O índice de polidispersão (PDI) é considerado como um indicador para a distribuição do tamanho de partícula. Para partículas submicrônicas valor de PDI no intervalo de 0,15-0,3, indica homogeneidade de tamanho, enquanto um valor de PDI maior que 0,3 implica heterogeneidade. Os valores médios de PDI para as formulações medicamentosas variaram na faixa de 0,3-0,66 (SOLTANI *et al.*, 2016). Infere-se que se uma partícula se for pequena, será iluminada pelo laser, resultando no espalhamento de luz em todas as direções, agora, se as partículas grandes, dificultará o espalhamento de luz tornando este movimento browniano mais lento

O índice de polidispersão (PDI) produzida demonstra uma heterogeneidade na distribuição do tamanho de partículas assim como se enquadra aos valores preestabelecidos para formulações medicamentosas valores estes similares a literatura. Os diâmetros da partícula corroboram com a literatura, pode-se inferir que o sistema produzido foi nanopartículas, a partir dos valores encontrados para o perfil hidrodinâmico demonstram as partículas estáveis e não aglomeradas, ademais as

partículas apresentaram estados monodispersos apenas para partículas de Nitroprussiato na qual as partículas apresentam-se estado uniforme e de mesmo tamanho enquanto que para as partículas de vazias, com Tamoxifeno e TMX+NPS apresentaram polidisperso, possui apresentando tamanhos / massas molares variadas. Portanto, o método de evaporação de solvente influencia na distribuição do diâmetro hidrodinâmico das partículas, as que foram produzidas neste trabalho, isso representa uma possível aplicação para melhor elaboração de sistemas de liberação de fármacos.

A determinação do potencial zeta permite prever a estabilidade de um sistema coloidal. O potencial zeta de uma nanopartícula é comumente usado para caracterizar a propriedade de carga superficial de nanopartículas, é influenciado pela composição da partícula e do meio em que está disperso (MOHANJARI, CHEN, 2006).

As suspensões estáveis é geralmente em + 30mV ou -30mV. Partículas com potencial zeta mais positivas que + 30mV ou mais negativas de -30mV são normalmente considerados estáveis. Sendo assim, as propriedades das suspensões com o potencial zeta  $> \pm 30$  mV, irão se repelir superando a tendência natural de agregação (STECANELLA, 2011, MALVERN INSTRUMENTS, 2004).

O desenvolvimento de uma carga na superfície da partícula afeta a distribuição de íons na região interfacial circundante, resultando em uma maior concentração de contra-íons (íons de carga oposta à da partícula) perto da superfície. Assim, existe uma dupla camada elétrica em torno de cada partícula. A camada líquida que envolve a partícula existe como duas partes; uma região interna, chamado de camada popa, onde os íons estão fortemente ligados e um exterior, difuso, região onde eles estão menos firmemente ligados. Dentro da camada difusa há um limite nocional dentro do qual os íons e partículas formam uma entidade estável. Quando uma partícula se move (por exemplo, devido à gravidade), íons dentro do limite movem-se com ela, mas qualquer íon além do limite não viaja com a partícula. Este limite é chamado a superfície do cisalhamento hidrodinâmico ou plano de escorregamento. O potencial que existe neste limite é conhecido como o potencial Zeta (MALVERN INSTRUMENTS, 2004).

Entende-se que sistema coloidal envolve a presença de um dos três estados da matéria gás, líquido e sólido finamente dispersos uns aos outros. A análise do



potencial zeta, indicará a estabilidade do sistema coloidal, esta técnica é interessante nos dois estados quando um sólido é disperso em um líquido e quando um líquido é disperso em um sólido, ou seja, em uma emulsão. Se todas as partículas em suspensão tiverem um grande potencial zeta negativo ou positivo então eles tendem a se repelir e não há tendência a flocular no entanto, se as partículas tiverem baixos valores de potencial zeta, então não há força para impedir que as partículas se juntem e floculem (KATARA,MAJUMDAR, 2015).

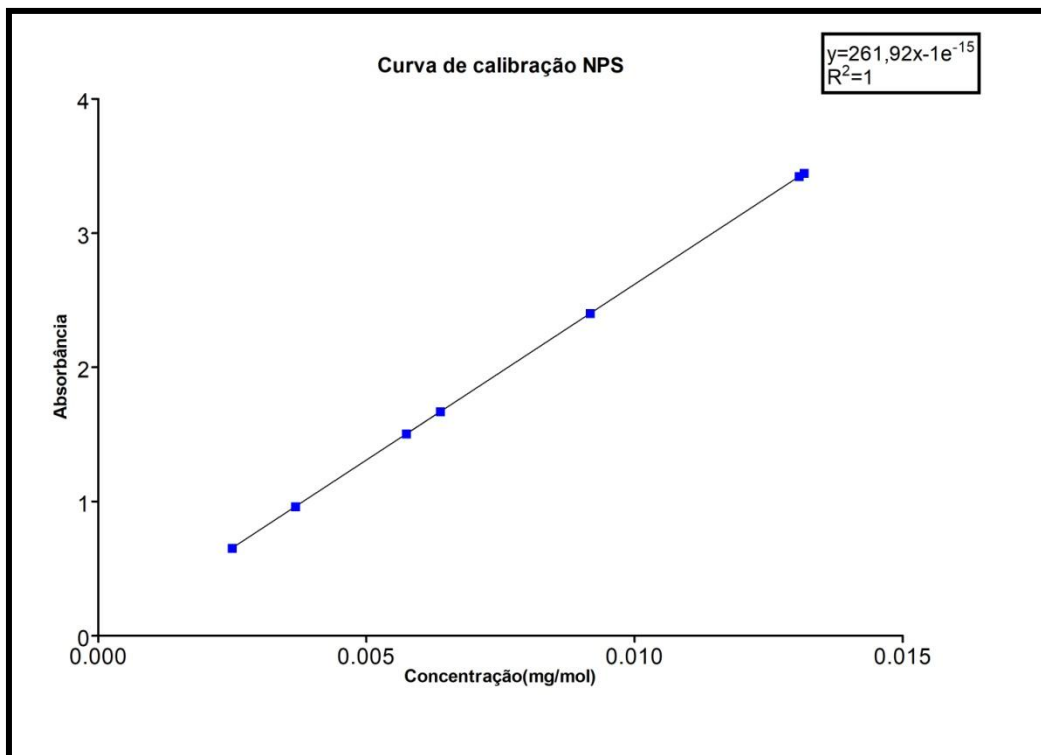
Os valores obtidos das análises de potencial  $\zeta$  do Tamoxifeno quando comparado a sua associação com o Nitroprussiato de Sódio, foi menor, partículas poliméricas combinadas TMX+NPS apresentaram uma carga positiva de + 53mV em comparação a apenas do Tamoxifeno + 32,23mV, mesmo ainda sendo maior que +30mV, quanto mais distante de zero mais estável será o sistema, a partícula associada indica foi mais representatividade em termos de estabilidade da suspensão coloidal,isto pode sugerir uma baixa tendência à agregação.

#### **5.4. Avaliação da eficiência de encapsulamento (EE%).**

A EE foi realizada uma centrifugação, após a preparação das nanopartículas, assim é possível separar o que foi encapsulado do fármaco livre no sobrenadante. Isto faz com que o ato de centrifugar o fármaco quando encapsulado permaneça na parte de cima do sobrenadante enquanto que enquanto o fármaco livre se direcione para a parte inferior (SENA, 2016).

Após a centrifugação, a amostra foi submetida à análise com o auxílio do espectrofotômetro UV/Vis, para determinar a quantidade de fármaco presente no interior da partícula através do método direto, em que há degradação da matriz polimérica, usando o solvente metanol, e assim, permite a liberação do fármaco que compõe a amostra a ser analisada. Através das absorções geradas em metanol, foi calculada a eficiência de encapsulamento com o auxílio da equação da reta. partículas em suspensão.

A curva analítica do Nitroprussiato de Sódio foi realizada a partir de uma solução padrão e após a solução, foram realizadas as demais soluções-padrões preparadas por diluições em metanol.



**Figura 12. Curva analítica do Nitroprussiato de Sódio em metanol.**

Após as determinações espectrofotométricas foi realizado para o Nitroprussiato, a concentração variou de 0,001 a 0,015 mol/L. O índice de correlação  $R^2$  foi de 1. Estes valores representam uma linearidade dos pontos da reta de acordo com a Equação 3. Os dados foram extraídos com o auxílio do software Perkin Elmer Lambda 25 Spectrometer UV/VIS e transferidos para o programa de construção gráfica GraphPad Prism 5.0.

$$\text{Concentração NPS} = \frac{\text{absorbância} + 291,62}{1e^{-15}}$$

**Equação 3: Cálculo da concentração nitroprussiato de sódio para a eficiência de encapsulamento.**

Através deste método analítico expressará de forma quantitativa a porcentagem do fármaco o qual foi aderido a matriz polimérica bem como incorporado no sistema coloidal das amostras.

Tabela 6. Avaliação da eficiência de encapsulamento.

<b>Partículas Poliméricas</b>	
<b>Partícula</b>	<b>Eficiência de Encapsulamento %</b>
<b>Vazio</b>	-
<b>TMX</b>	92,30%
<b>NPS</b>	68,84%
<b>TMX+NPS</b>	98,05%

A determinação da eficiência de encapsulamento foi realizada com o auxílio espectroscópica baseada e evidenciada na literatura para o Tamoxifeno no estudo de Barros (2014), o qual foi obtido resultados de forma satisfatória, visto que, as partículas produzidas neste presente estudo apresentaram eficiência de encapsulamento 92,30% do Tamoxifeno e 98,05% de sua associação com nitroprussiato. Os obtidos valores encontrados para o Nitroprussiato de Sódio valores 68,84 %.

A curva de calibração parâmetro importante visto que auxilia na padronização quanto à proporcionalidade do fármaco utilizado durante o processo de produção e caracterização de um fármaco, seu objetivo principal tornar o processo amostral mais representativo minimizando erros aleatórios que podem interferir na dosagem do fármaco proporcionando a confiabilidade analítica nos resultados obtidos trazendo eficácia e segurança para formulações farmacêuticas (SANTOS,2014)

O valor obtido na eficiência de encapsulamento infere-se a que durante o processo de produção os fármacos Tamoxifeno e o Nitroprussiato possuem uma solubilidade em metanol pode ter havido uma facilitação do deslocamento dos fármacos para a fase orgânica e uma possível incorporação ao sistema polimérico.

Além disto, este solvente tem mais facilidade de dissolver o polímero Eudragit®, outro fator importante é o papel do tensoativo, o aquecimento de uma solução que contém tensoativos não aniônicos como utilizado neste estudo proporciona a agitação maior das moléculas de água passando a desestabilizar o tensoativo e precipitando-o na forma de uma névoa ou turvação com tensoativo resultado da diminuição da tensão superficial da solução em questão, provocando o

aumento da área superficial, e formação de pequenas gotas de solvente orgânico (DALTIM, 2012).

### 5.5. Avaliação da cinética de liberação do fármaco.

O perfil de liberação caracteriza a liberação *in vitro* das partículas poliméricas, verificando o comportamento das partículas poliméricas frente a determinados pHs no qual foi analisado por cinco dias contabilizado nestes dias as horas (Figura 13,14).

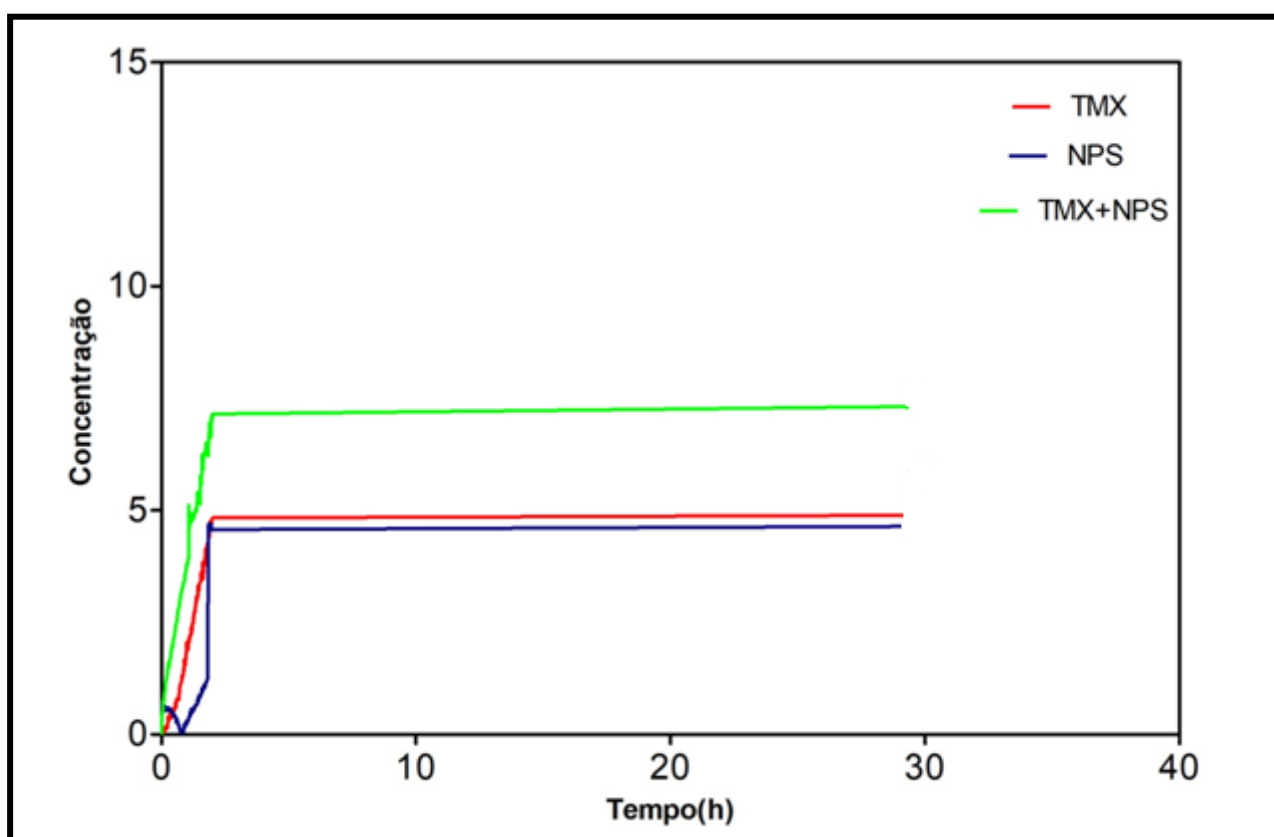
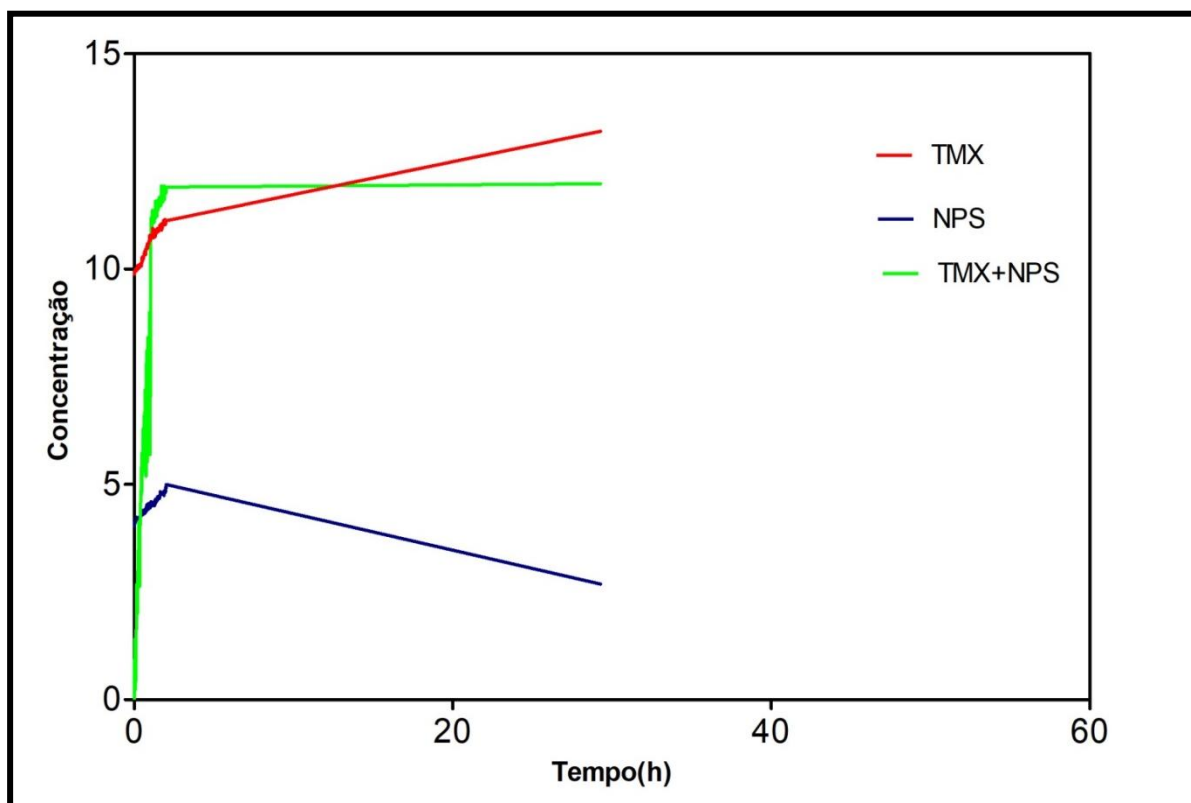


Figura 13: Curva de liberação das partículas em função do tempo no pH 2.0.



**Figura 14: Curva de liberação das partículas em função do tempo no pH 8.2.**

O gráfico mostra o tempo em horas contabilizado durante os cinco dias de análise através do espectrofotômetro em horários preestabelecidos. A avaliação do perfil de liberação envolvem fatores que está intimamente relacionado à natureza do polímero.

A curva do gráfico foi obtida pela concentração a partir das absorvâncias da amostra. No pH ácido, as partículas apresentaram duas etapas de comportamento. Nas primeiras horas houve uma liberação rápida, mas durante o processo de análise percebe-se uma constante de liberação. Para o pH básico a amostra tem sua curva de liberação não efetiva. As partículas contendo Nitroprussiato decaíram em relação ao comportamento das outras partículas, infere-se que durante as primeiras horas já houve degradação do sistema contendo o Nitroprussiato, isto sugere que o fármaco pode estar aderido apenas na superfície teve sua liberação rápida está degradando.

Um modelo que pode explicar a curva de liberação seria Modelo de Korsmeyer-Peppas, muito utilizado para analisar formulações farmacêuticas poliméricas na qual o mecanismo de ação não é muito bem elucidado ou quando envolve mais de um tipo de liberação (COSTA, 2002).

Em ensaios de micropartículas a base de Eudragit RL e RS contendo o fármaco acetazolamida, um fármaco diurético utilizado para tratamento de glaucoma, constataram que as taxas de liberação de drogas foram muito lentas e incompletas a base de microesferas de Eudragit RS quando em comparação as mesmas formulações quando foram preparadas usando Eudragit RL como polímero e diferentes, as taxas de liberação de microesferas de acetazolamida em Eudragit RL foram rápidas e a quantidade liberada foi aproximadamente 7 h atingiram um perfil de liberação de 100%. Isto é devido ao fato de que a quantidade de grupos quaternários de Eudragit RS é menor que o Eudragit RL, portanto, Eudragit RL é mais permeável à água, de modo que a liberação é menos retardada (HAZNEDAR, DORTUNÇ, 2004).

Poliacrilatos de Eudragit® RS e RL são amplamente utilizados matriz de liberação controlada. A quantidade de grupos quaternários de amônio no tipo RS está entre 4,5% e 6,8% e em RL tipo é entre 8,8% e 12%. Eudragit® RL são mais permeáveis que Eudragit® RS devido a sua maior quantidade de grupos quaternários de amônio. Ambos os tipos RS e RL são insolúveis em valores de pH fisiológico e capazes de inchar. Além disso, devido à sua natureza policatiónica, esses polímeros exibem um caráter muco-adesivo e, portanto, favorecem a absorção intestinal. As eficiências de encapsulação baseadas em Eudragit® RS e RL-NPs são altas, aproximadamente 60% e 98% respectivamente para tamanhos entre 50 e 350 nm (DIAB et. al., 2012.)

Em um ensaio comparando a formulação de polímeros Eudragit RL e RS contendo heparina em comparação com polímeros de PLGA com o mesmo fármaco. A eficiência da encapsulação variou de 8 a 97% estes valores foram obtidos quando utilizando Eudragit RS e RL na preparação de nanopartículas. Devido à natureza polianiónica da heparina, ligação eletrostática entre a droga e os grupos de amônio quaternários dos dois polímeros levou a um aumento do aprisionamento de heparina em comparação com o PLGA e PCL. Esta hipótese é ainda reforçada pelo fato de que maior carga de droga foi observada com Eudragit RL que transporta mais grupos de amônio quaternários do que Eudragit RS. Além disso, quando Eudragit RS e RL foram misturados com PCL ou PLGA, o aprisionamento de heparina foi maior do que quando o PCL e o PLGA foram usados sozinhos (JIAO, 2001)

Geralmente o perfil de liberação de um fármaco possui o mecanismo de intumescência das matrizes hifrofílicas intumescimento promovendo um relaxamento de cadeias poimércas em meio aquoso processo de relaxamento das cadeias poliméricas, o frente de intumescimento, leva a difusão e a de erosão e degradação das partículas e assim o fármaco será liberado (LOPES *et. al.*,2005u, SCHAFFAZICK *et al*,2003).

### 5.6. Avaliação espectroscópica na região Infravermelha (IR) com Transformadas de Fourier.

#### Eudragit

As amostras foram submetidas aos espectros de FTIR referente ao Tamoxifeno base e TMX incorporada ao polímero Eudragit RL® 100, NPS e NPS incorporada ao polímero Eudragit RL® 100 e o sistema sinérgico TMX+NPS quando incorporada ao polímero Eudragit RL® 100.

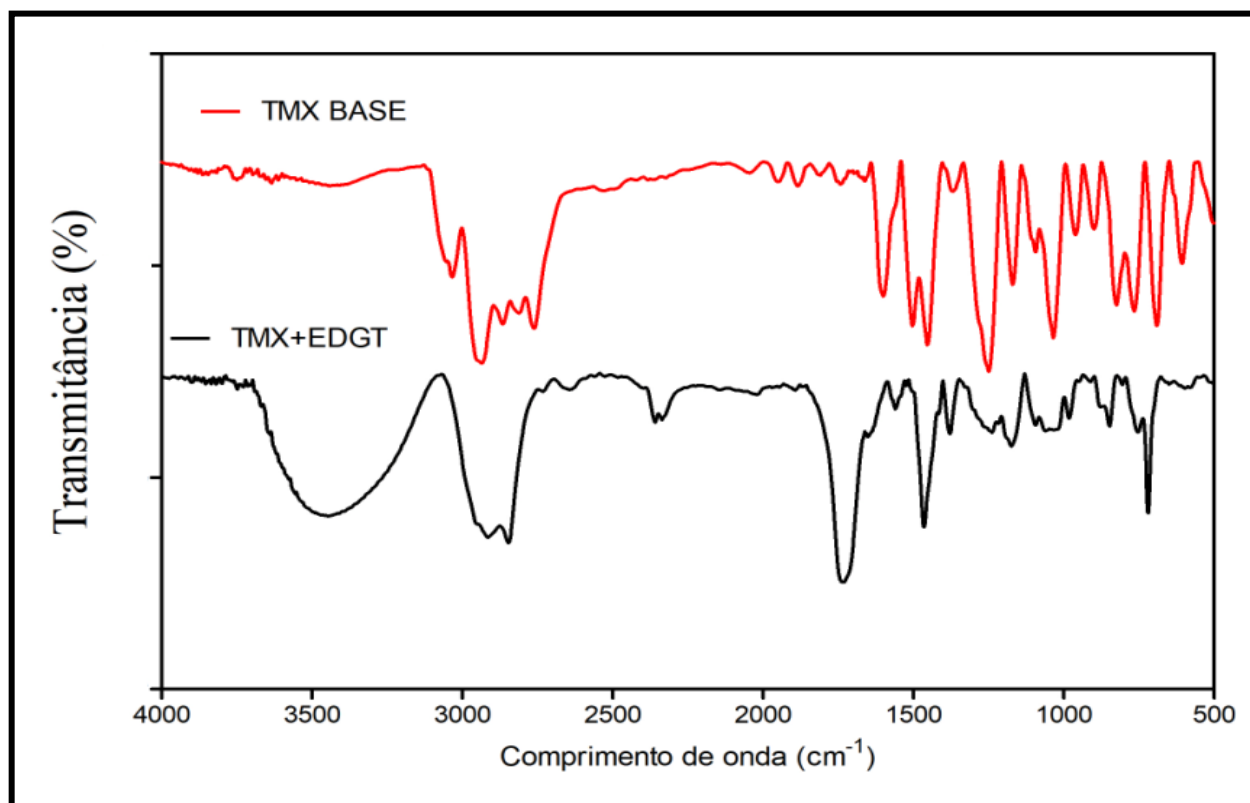


Figura 16: espectro do FTIR da relação Tamoxifeno base e incorporado ao Eudragit® RL100 em KBR.

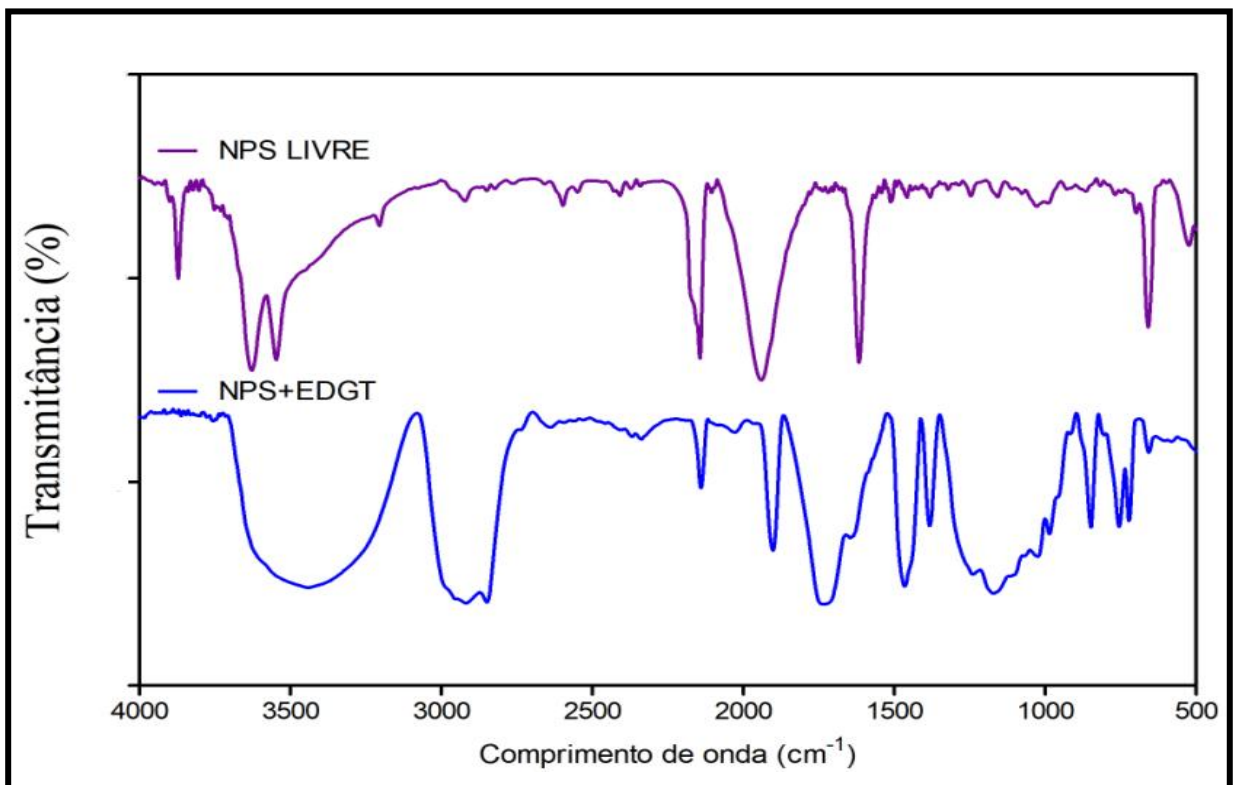


Figura 17: Espectro da relação Nitroprussiato cristalino livre e incorporado ao Eudragit® RL 100 em KBR

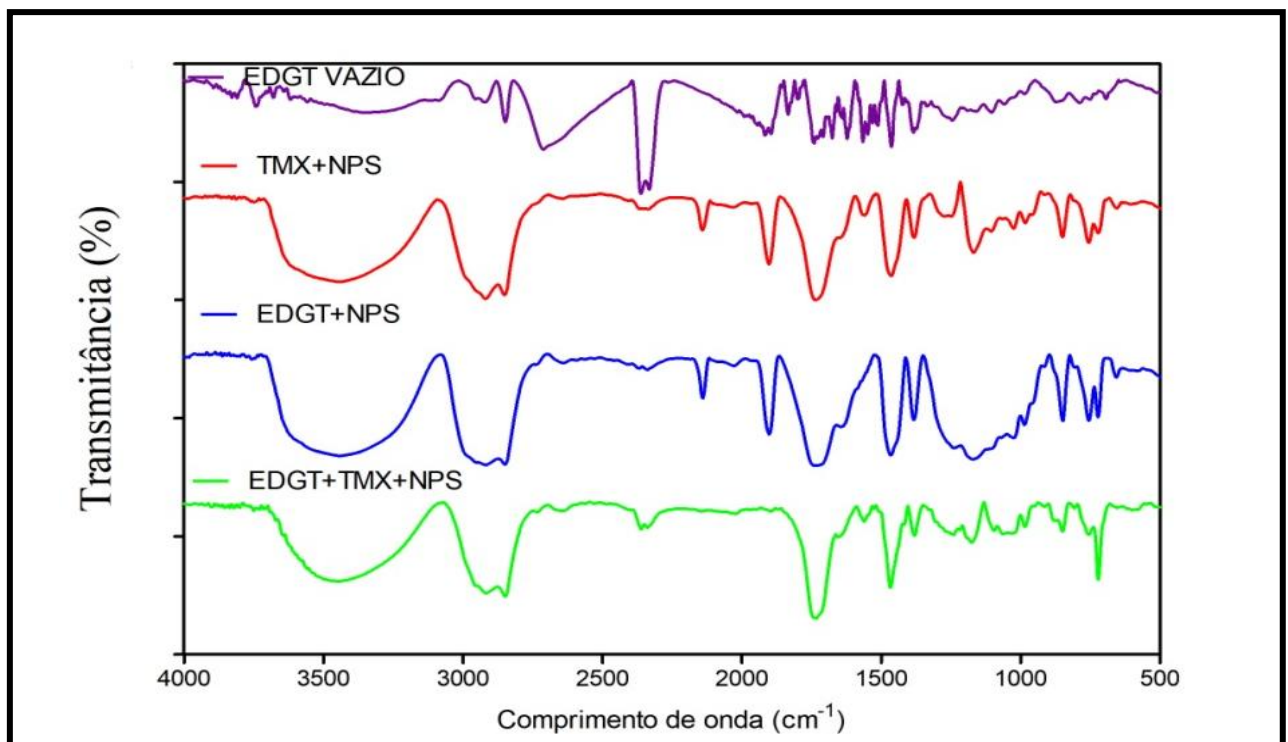


Figura 18: Espectro da relação dos fármacos incorporado ao Eudragit® RL 100 em KBR



Para o EDGT na sua forma livre, os principais picos observados foram um estiramento  $3747\text{cm}^{-1}$  referente ao grupamento OH,  $3643\text{ cm}^{-1}$  referente ao grupamento ao anel benzênico C=O, deformação angular em  $3321\text{ cm}^{-1}$  referente ao grupamento amina, em  $2958\text{ cm}^{-1}$  referente ao grupo alquila,  $1837\text{ cm}^{-1}$  referente ao grupamento C=O ligação da carbonila, deformação angular em  $1775\text{cm}^{-1}$ ,  $1626\text{cm}^{-1}$  grupamento C=C, estiramentos em  $1463\text{ cm}^{-1}$  referente ao grupamento C=C,  $1245\text{ cm}^{-1}$  uma deformação referente aos grupamentos amina e um estiramento em  $669\text{cm}^{-1}$  referente ao CC.

No espectro dos Tamoxifeno base foi observada absorções do grupamento OH, um estiramento na faixa de espectro  $3756\text{ cm}^{-1}$ , deformação angular grupamento alquil metil (C-H) situada na faixa de espectro  $2869\text{ cm}^{-1}$ . Pode-se observar grupamentos C=O em  $1883\text{ cm}^{-1}$ , C=C no espectro de absorção de  $1604\text{cm}^{-1}$ , grupamentos aminas secundárias no espectro de  $1174\text{cm}^{-1}$  e deformação grupamentos C-C  $614\text{cm}^{-1}$ . Para o Tamoxifeno encapsulado ao polímero foram observado estiramento grupamento OH na faixa de espectro  $3756\text{ cm}^{-1}$ ,  $3440\text{ cm}^{-1}$  referente ao grupamento ao anel benzênico C=O, estiramento do grupamento alquil metil (C-H) situada na faixa de espectro  $2916\text{ cm}^{-1}$ . Pode-se observar grupamentos C=O em  $1738\text{ cm}^{-1}$ ,  $1381\text{cm}^{-1}$  aminas, deformação angular do grupamento C=C em  $1468\text{cm}^{-1}$ , no espectro de absorção de  $718\text{ cm}^{-1}$  grupamentos CC.

Em um ensaio utilizando o polímero PLGA associado ao Citrato de tamoxifeno, o composto apresentou um espectro infravermelho de  $3400\text{ cm}^{-1}$  indicando a vibração de deformação axial do grupamento OH do ácido cítrico; em  $1730\text{ cm}^{-1}$  correspondente à vibração de deformação axial da ligação C=O da carbonila presente no ácido cítrico, os grupamentos aromático foram na faixa de espectro de  $1580\text{ cm}^{-1}$  e a deformação angular do grupamento C-O do éster aromático em  $1220\text{ cm}^{-1}$ , por ultimo, a deformação angular na faixa de espectro situada entre  $700\text{ e }900\text{ cm}^{-1}$  são os hidrogênios adjacentes em anéis aromáticos (MOREIRA, 2015).

Outro estudo também utilizando o polímero PLGA associado ao Tamoxifeno a faixa de espectro característico deste composto  $3643\text{ cm}^{-1}$  alongamento vibracional do grupamento C=O do anel benzênico, o estiramento =C-H alcançou faixas em torno de  $2941\text{ cm}^{-1}$  quando associado ao estiramento assimétrico do CH<sub>2</sub>. A

ocorrência do estiramento do grupamento cetona ocorreu pelo dobramento do grupo amina N-H na faixa de espectro  $1508\text{ cm}^{-1}$ , o estiramento do C=C em anel aconteceu na faixa  $1437\text{ cm}^{-1}$ , e o dobramento do grupo CH<sub>3</sub> em  $1386\text{ cm}^{-1}$ , um estiramento C-N em  $1157\text{ cm}^{-1}$ , em  $1049\text{ cm}^{-1}$  é referente ao um grupo amina (estiramento C-N), grupamentos alcanos em  $925\text{ cm}^{-1}$  e por fim, em  $752$  e  $704\text{ cm}^{-1}$  devido a anel fenólico substituído e rotação CH<sub>2</sub>, respectivamente (CONCEIÇÃO, 2016).

Para as amostras realizadas com o Nitroprussiato de sódio, os principais picos de absorções presentes  $3878\text{ cm}^{-1}$  estiramento do grupamento OH, deformação angular  $3635\text{ cm}^{-1}$  aminas primárias,  $2144\text{ cm}^{-1}$  estiramento do grupamento C≡N,  $1947\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento do grupamento NO,  $1511\text{ cm}^{-1}$  C=O,  $1459\text{ cm}^{-1}$  estiramento do grupamento aminas secundárias,  $1384\text{ cm}^{-1}$  estiramento do grupamento C-N,  $524\text{ cm}^{-1}$  estiramento do grupamento CC. Para o Fármaco incorporado ao polímero os principais picos observados foram  $3762\text{ cm}^{-1}$  grupamento estiramento do OH,  $3432\text{ cm}^{-1}$  do grupamento C=O do anel benzênico,  $2921\text{ cm}^{-1}$  deformação angular de aminas primarias,  $2144\text{ cm}^{-1}$  e  $2028\text{ cm}^{-1}$  estiramento C≡N,  $1901\text{ cm}^{-1}$  estiramento grupamento NO,  $1465\text{ cm}^{-1}$  estiramento C=C,  $1381$  e  $1169\text{ cm}^{-1}$ , C-N e  $846\text{ cm}^{-1}$  CC.

Em um ensaio para a produção do silsesquioxano, utilizando o nitroprussiato como base, o espectro infravermelho do nitroprussiato de sódio apresentaram picos representativos como o são o estiramento simétrico NO ( $\nu\text{N-O}$ ) em  $1945\text{ cm}^{-1}$ , e outra absorção em  $2192\text{ cm}^{-1}$  (MAGOSSI, 2015)

Em outro ensaio utilizando nitroprussiato para preparação de nanopartículas de pentaciano metais de transição (Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> e Ce<sup>3+</sup>) a partir do nitroprussiato, os principais picos que apresentam um estiramento simétrico vs (NO) foram observados em  $1945\text{ cm}^{-1}$ , enquanto que em  $2192\text{ cm}^{-1}$  foi possível observar um pico característico do estiramento simétrico (C≡N) (SILVESTRINI, 2012)

Complexos metálicos são permeados três fatores, eletronegatividade do ligante, estado de oxidação do metal e numero de coordenação. Isso favorece para que o íon ferro (Fe) em seu estado de oxidação, quanto mais eletronegativo ele for melhor garantia de doação de íons para o grupamento cianeto isto favorece melhores estiramentos relacionados à  $\nu\text{CN}$  (SALES, 2008).

Sendo assim, os principais picos característicos da de absorção da literatura corroboram para a encapsulação nitroprussiato na partícula polimérica.

As análises realizadas neste presente estudo, para polímeros de Eudragit associado ao TMX e ao NPS, os principais comprimentos e interações listados na tabela.

Tabela 7: Resultados obtidos pela medição do FTIR para as partículas poliméricas.

Pico $\text{cm}^{-1}$	Absorção
3756	OH
3496	NH
2144	$\text{C}\equiv\text{N}$
1558	$\text{C}=\text{O}$
1462	$\text{C}=\text{C}$
986	C-N
756	CC

É observado também o grupamento  $=\text{CH}=\text{CO}-\text{OR}$ , os acrilatos, possuem uma faixa de espectro aproximadamente entre 1700 a 2700  $\text{cm}^{-1}$ , para todos os sistemas a deformação angular possui nessa faixa de espectro.

### 5.7. Avaliação do perfil de estabilidade

O perfil de estabilidade das partículas poliméricas foi realizado de acordo com os parâmetros de distribuição do diâmetro hidrodinâmico a fim de analisar o comportamento das partículas em função do tempo e temperatura por um período consecutivo durante o seu armazenamento em solução aquosa.

Durante os quatro dias as partículas apresentaram-se seu potencial hidrodinâmico inferior a 400nm, os valores obtidos foram entre 350- 390  $\pm 17,88 - 35,00$ , com um pdl variando entre 0,240-0,500  $\pm 0,020-0,060$ . A medida do tempo houve sedimentação.

Os sistemas coloidais tem o processo de separação de fases, algum tempo depois após a sua formação preparação, mediante as partículas submicrométricas os quais retardam movimento Browniano. Entretanto pode acontecer a sedimentação por conta da aglomeração de partículas, isto acontece tanto em

sistemas coloidais como emulsões. Estão sujeitas a instabilidade em suspensões coloidais fatores como, por exemplo, a adsorção de moléculas ativas à superfície das nanopartículas e a presença de tensoativos adsorvidos, temperatura, o processo de congelamento e descongelamento, contaminação de microorganismos e pH. Mudanças no pH sugerem um grande indicativo de degradação polimérica, e da condição do sistema coloidal trazendo consequências na liberação sustentada do fármaco (BRUXEL *et. al.*,2012, SCHAFFAZICK *et. al.*, 2003).

## 6. CONCLUSÃO.

A produção e caracterização de partículas poliméricas foram realizadas com métodos espectrofotométricos como Uv-Vis e FTIR foi possível determinar que os fármacos foram encapsulados, havendo a liberação no seu estado bifásico, bem como é possível verificar que o tamanho das partículas que se mantiveram menores que 400nm. No entanto, se faz necessários testes futuros para o aprimoramento das metodologias empregadas ao Nitroprussiato de Sódio e sua eficiência de encapsulamento visto que neste estudo em meio aquoso promove liberação de Oxido Nítrico e na presença de luz é fotossensível.

Espera-se realizar testes futuros como a espectroscopia de fluorescência, microscopia eletrônico de varredura e ainda aplicação em células de linhagens tumorais.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

ABRANTES, A. M. C. **Hipoxia Tumoral – Metabonómica e Imagem Estudo Experimental**. 2013. 221 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina, Ciências Biológicas, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2013.

ALI, S. *et. al.*,. Molecular mechanisms and mode of tamoxifen resistance in breast cancer. **Bioinformatics** n. 12,v.3, 2016. 135-139.2016

ALMEIDA, V.L.D., *et.al.* Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: Uma introdução. **Química Nova**. 28, n.1, 2005. 118-129

ALTMAYER, C. *et. al.*, C., 2016. Tamoxifen-loaded poly(L-lactide) nanoparticles: Development, characterization and in vitro evaluation of cytotoxicity. **Materials Science and Engineering**. V.60. 2016.135-142.

BARBOSA, J.P, FALLEIROS, J. P. B. BRANDL, A. L., FONSECA, A, R. A. da. APLICAÇÕES DA NANOTECNOLOGIA NO DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DE CÂNCER. **Revista Científica da Fundação Educacional de Ituverara, Nucleus**. 2011, v.8, n.1..167-169

BASU, S. K., ADHIYAMAN, R. Preparation and Characterization of Nitrendipine loaded Eudragit RL 100 Microspheres Prepared by an Emulsion-Solvent Evaporation Method. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**. 7, n. 3, 2008. 1033-1041.

BOTOGOSK S. R. *et. al.* Efeitos do tamoxifeno sobre a expressão das proteínas TGF- $\beta$  e p27 em pólipos e endométrio adjacente de mulheres após a menopausa. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetria**. v.31.n.3 2009.132-137.

BARROS, S, S. **Desenvolvimento de Micropartículas de Eudragit®RL 100 contendo Tamoxifeno como Agente Antitumoral**. 2014. 75 f. TCC (Graduação) - Curso de Farmácia, Faculdade Ceilândia, Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

Bruxel, F. *et. al.*, Nanoemulsões como sistemas de liberação parenteral de fármacos. Nanoemulsions as parenteral drug delivery systems. **Revista Química Nova**. v. 35, n. 9 2012.1827-1840

CALDON, 2014. Estrogen signaling and the DNA damage response in hormone dependent breast cancers. **Revista Frontiers Oncology**. v.4;n.4.2014.9

CAO G., WANG.Y. Nanostructures and Nanomaterials. Synthesis,properties and applications.2º Ed. Imperial College Press.Ltd.2011.2004.425

CUNHA, Samara Gomes. **APLICABILIDADE DA LASERTERAPIA DE BAIXA POTÊNCIA NO TRATAMENTO DA MUCOSITE ORAL CAUSADA POR QUIMIOTERÁPICOS ANTINEOPLÁSICOS.** 2017. 41 f. TCC (Graduação) - Curso de Fisioterapia, Graduação em Fisioterapia da Faculdade de Educação e Meio Ambiente-faema, Faculdade de Educação e Meio Ambiente, Ariquemes-ro, 2017.

CHANG,2015. Cancer Cell Metabolism and the Modulating Effects of Nitric Oxide. **Revista Free Radic Biol Med.** v.79.2015. 324-36.

CHIAL, Hi. Proto-oncogenes to oncogenes to cancer. *Nature Education* 1(1):3..  
Disponível em: <<https://www.nature.com/scitable/topicpage/proto-oncogenes-to-oncogenes-to-cancer-883>>. Acesso em: 20 maio 2018  
2008

CARVALHO, Rúben Daniel Gonçalves Pinto de. **Modelos Fisiológicos da Emergência Hipertensiva e Regurgitação Mitral e sua Resposta à Terapia com Nitroprussiato de Sódio.** 2012. 62 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina, Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior, Covilhã, 2012.

CONCEIÇÃO, João Bosco Ferreira da. **Produção, caracterização e avaliação citotóxica de nanopartículas de ácido poli-láctico contendo tamoxifeno.** 2016. 35 f. TCC (Graduação) - Curso de Farmácia, Faculdade Ceilândia, Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

COSTA, P.J.C. Avaliação in vitro da bioequivalência de formulações farmacêuticas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 38, n. 2. 2002.141-153.

DALTIN, D. Tensoativos. Química, propriedades e aplicações. 1º Ed. Editora Edgard Blücher Ltda. 2011.43.

DIAB, R. *et. al.*, Engineered Nanoparticulate Drug Delivery Systems: The Next Frontier for Oral Administration? **The AAPS Journal**, v. 14, N. 4.2012. 688-702.

DOMINGUES, G.S. **Caracterização físico-química e avaliação dos perfis de liberação in vitro de micropartículas revestidas com nanocápsulas poliméricas**. 2006.161f. Dissertação (mestrado). Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.

ENGELMANN, W., MARTINS, P. S. .As Normas ISO e as nanotecnologias: entre a autorregulação e o pluralismo jurídico. [e-book]. Ed Karywa, 2017. 224p.

EVONIK INDUSTRIES. Product information, 2011. 16

Feynman, R. P. *There's Plenty of Room at the Bottom*. Engineering and Science, v.23 n.5. 1960.p. 22-36.

FERREIRA, M.C.F., et.al Moduladores seletivos do receptor estrogênico: novas moléculas e aplicações práticas Selective estrogen receptor modulators: new molecules and practical uses. **FEMINA**.v.39.n.9. 201.433-441.

FERREIRA, Carina Torres Garruth. **NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS PARA INCLUSÃO DE COMPOSTOS DE ORIGEM NATURAL**.2013. 41 f. TCC (Graduação) - Curso de Farmácia, Campus Realengo, Instituto Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

FOOD IN DRUGS ADMINISTRATION. **Sodium Nitroprusside Injection Fliptop Vial**.Disponível em: < <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/fda/fdaDrugXsl.cfm?setid=123c61ec-d930-499e-a27a-0cd82d2bd8ce&type=display> >. Acesso 15 março 2018.

FOOD IN DRUGS ADMINISTRATION. **Tamoxifen**.Disponível em:< <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/index.cfm?event=overview.process&aplno=075797> >. Acesso 15 de março 2018.

Frantiescoli A. D. *et al.* Impactos da Nanotecnologia na Saúde: produção de medicamentos.**Revista Química. Nova.** v.36, n.10. 2013. 1520-1526.

HAZNEDAR, S. DORTUNÇ, B.Preparation and in vitro evaluation of Eudragit microspheres containing acetazolamide. **International Journal of Pharmaceutics**.v.269. n.1.2004.131-140

HAO, S. Prospects of Cancer biotherapy. **Revista Drug Discoveries & Therapeutics.** v.5,n.3. 2011. 107-108.

HOW,C.W *et al.*,. Tamoxifen-loaded nanostructured lipid carrier as a drug delivery system: Characterization, stability assessment and cytotoxicity.**Colloids and Surfaces B:Biointerfaces.** v.112. 2013.393-399,



HUERTA,S. Nitric oxide for cancer therapy.Revista Future Sci. OA v.1n.1.2015.9.

JIAO,Y.Y.*et. al.*Preparation and In Vitro Evaluation of Heparin-Loaded Polymeric Nanoparticles.**Journal Drug Delivery** .v.8, 2001.131-145.

KATARA, R. MAJUNDAR, D.K.. Eudragit RL 100-based nanoparticulate system of aceclofenac for ocular deliver,**Revista Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.103. 2013. 455-46

KHARB,V. *et al.*“Nanoparticle Technology for the Deliveiy of Poorly Water-Soluble Drugs”. **Revista Pharmaceutical technology**, v.2, (2006).

LI, M., ROAUD,O., PONCELET,D. Microencapsulation by solvent evaporation: State of the art for process engineering approaches.**Revista International Journal of Pharmaceutics**. v. 363, n.3 2008. 26-39

LIMA, Sandro Vagner de. **TRANSIÇÕES DE FASE EM COLÓIDES: FÍSICA BÁSICA E APLICAÇÕES EM LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS**. 2010. 111 f. Dissertação (Mestrado) - Curso Farmácia., Ciência dos Materiais., Universidade Federal do Vale do SãO Francisco Curso de Pós-graduação em Ciência dos Materiais, Juazeiro-ba, 2010

LINDNER, Gabriela da Rocha. **DESENVOLVIMENTO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS CONTENDO RESVERATROL E AVALIAÇÃO DA AÇÃO NEUROPROTETORA SOBRE UM MODELO EXPERIMENTAL DE DOENÇA DE**

**PARKINSON.** 2014. 125 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmacia, Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual do Centro-oeste, Guarapuava, 2014.

LOPES, C. M. LOBO, J. M. COSTA, S P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Revista Brasileira de. Ciências. Farmacológicas.** v.41, n.2.2005.143-154

MALVERN INSTRUMENTS. A Basic Guide to Particle Characterization. [S.l.]: [s.n.], 2012. 26p.

MAGOSSI, Mariana de Souza. **Preparação e modificação química de nanoestruturas de octa(aminopropil) silsesquioxano paa aplicações analíticas.** 2015.99f.Dossertação (Mestrado)-Ciências Odontológicas.Universidade de São Paulo,São Paulo.2010.

MAROCCHIO, Luciana Sassa. **Análise da expressão de receptores hormonais (androgênio, estrogênio alfa e beta) e da aromatase em carcinomas epidermóides de boca** 2010. 68 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Odontologia, Ciências Odontológicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

MENDEHAL, D W *et. al.* Clinical analysis of Tamoxifen, an anti-neoplastic agent, in plasma. **Revista Clinical Chemistry.** v.24, n.9. 1978. 1518-24

MOREIRA, José Ranclenison Lopes. **A NANOTECNOLOGIA NA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS NO TRATAMENTO DO CÂNCER DE MAMA.** 2013. 38 f. TCC (Graduação) - Curso de Farmácia, Faculdade Ceilândia, Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

MOHANRAJ, V.J., CHEN, Y. Nanoparticles – A Review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**. 5, n.1, 2006. 561-573.

MINISTÉRIO DA SAÚDE- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **ABC do Câncer: Abordagens Básicas para o Controle do Câncer**. 2. ed. Rio de Janeiro: INCA, 2012. 129p.

MINISTÉRIO DA SAÚDE- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Estimativa 2018. Incidência de câncer no Brasil..** Rio de Janeiro: INCA, 2017. 129p.

MORAIS, Carolina Morales. **Preparo, caracterização Físico-química e avaliação de estabilidade de nanopartículas poliméricas contendo anestésicos locais**. 2009. 119 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia Funcional e Molecular, Instituto de Biologia, Universidade de Campinas, Campinas, 2009.

MOREIRA, Tailane Sant'anna. **SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS POR POLIMERIZAÇÃO RADICALAR (RAFT) PARA VETORIZAÇÃO BIODIRIGIDA DE TAMOXIFENO**. 2015. 203 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química,, Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós Graduação e Pesquisa de Engenharias, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

MORENO, L.S. , POBIANCO, M.P. O uso de Tamoxifeno em pacientes com neoplasia mamária. *União das Faculdades dos Grandes Lagos*. v.1, n.1 2017.1-9

NIKAN, V. K, *et. al.* Eudragit a versatile polymer: A review. **Pharmacologyonline.** 1, 2011. 152-164. MINISTÉRIO DA SAÚDE- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER.

OLIVEIRA, Samanta San't Anna Marotta de. **Nanopartículas de PLA e PLA-PEG contendo tamoxifeno preparação caracterização e avaliação in vitro e in vivo.** 2014. 100 f. Tese (Doutorado) - Curso de Farmácia, Faculdade de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

PASQUALIM, Patrícia. **ESTUDO DA MICROENCAPSULAÇÃO DE ÁCIDO SALICÍLICO COM APLICAÇÃO DERMOCOSMÉTICA.** 2015. 102 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná Curitiba, 2015.

PATRA, C. N. Pharmaceutical significance of Eudragit: A review. **Future Journal of Pharmaceutical sciences.** 2017.52.

PRATA, Wallace Mateus. **DESENVOLVIMENTO DE NANOPARTICULAS POLIMÉRICAS CARREADORAS DE PROTEINAS COMO POTENCIAIS ADJUVANTES PARA USO EM VACINAS.** 2011. 126 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Minas Gerais., Belo Horizonte, 2011.

PEIXOTO, Camila Belfort. **Estabelecimentos de linhagens tumorais para estudos in vitro de carcinoma urotelial de bexiga e adenocarcinoma de próstata.** 161f.2013..Dissertação(Mestrado)- Curso de Medicina. Universidade de São Paulo. São Paulo. 2009.

PINTO, Ana Sheila Cypriano. **IDENTIFICAÇÃO DE POLIMORFISMOS EM GENES DE REPARO DE DNA COMO POSSÍVEIS MARCADORES DE SUSCETIBILIDADE AO CÂNCER DE PRÓSTATA.** 2012. 122 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biofísica, Ciências Biológicas, À Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

PIANTINO, Camila Belfort. **Estabelecimento de linhagens tumorais para estudos in vitro in vivo de carcinoma urotelial de bexiga e adenocarcinoma de próstata.** 2009. 255 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

RAHAWI, K.Y. Spectrophotometric Determination of Sodium Nitroprusside by Coupling with Diazotized p-Nitroaniline and Determination of Thermodynamic Parameters **Rafidain journal of science.**v. 22, n.3.2011. 119- 128

SARAIVA, Patrícia Pinto. **Estudo clínico e molecular da relação entre câncer de mama e doenças tireoidianas.** 2002. 66 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Nutrição, Fisiopatologia em Clínica Médica, Área de Concentração: Metabolismo e Nutrição, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2002.

SALES, Francisco Adilson Matos. **Investigação da atividade de complexos inorgânicos inibidores da trans-2-Enoil-Redutase.**2008.169f.Dissertação(mestrado)-Curso de Química Inorgânica, Área de Concentração Químicas Orgânicas e Inorgânica, Universidade do Ceará,Fortaleza,2008.

SILVA, Monique Teresinha Pyrrho de Souza. **Reflexos de imagens: discursos sobre ética e nanotecnologia nas literaturas médica e bioética.** 2009. 128 f.

Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências da Saúde, Faculdade Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2009

SANTOS, Tairine Maria Medrado. **Preparação e caracterização de partículas de Eudragit® L100 contendo nifedipino e comparação de parâmetros cinéticos com cápsulas comerciais de nifedipino.** 2013. 84 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência dos Materiais., Campus Juazeiro, A Universidade Federal do Vale do São Francisco, Juazeiro, 2013.

SANTOS, et. al.,2017. Realidade e Desafios atuais da Nanomedicina na Saúde Pública Brasileira: Revisão de Literatura. **Revista Interdisciplinar em Saúde, Cajazeiras. 2017. v5, n.. 53-68.**

SANTOS, M.M.S. **Estudo de nanocompósitos poliméricos siloxano-poliéter como dispositivos de liberação modificada de princípios ativos.**2015.95f .Dissertação (Mestrado). Ciências e Tecnologias em Saúde. Universidade de Brasília.

SANTOS, Beatriz Werneck Lopes. **Estudo da Qualidade Físico-Química de comprimidos similares e genéricos de Nimesulida 100 mg e validação de metodologia analítica para cápsulas magistrais.** 2014. 88f.Dissertação (Mestrado)-Ciências Farmacêuticas.Universidade de Brasília. Brasília 2014.

SENA,Luann Wendel Pereira. **Obtensão e caracterização de carreadores lipídicos nanoestruturados a partir degordura vegetal de Murumuru (*astrocaryum murumuru Mart.*).**2016.115f.Dissertação(Mestrado)-Curso Ciências da Saúde.Universidade Federal do Pará,Belém.2016.

SILVA, Acarília Eduardo da. **Micropartículas poliméricas a base de Xilana e Eudragit® S100 contendo Messalazina visando liberação cólon-específico.** 2009. 86 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2009.

SILVA, A.E., SERAKIDES, R., CASSALI, G.D. Carcinogênese hormonal e neoplasias hormônio-dependentes. **Revista Ciência Rural, Santa Maria**, v.34, n.2, 2004.625-633,

SILVESTRINI, Daniela Rodrigues. **PREPARAÇÃO E APLICAÇÕES ELETROANALÍTICA DE NANOPARTÍCULAS DE PENTACIANO METAIS DE TRANSIÇÃO.** 2012. 99 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência dos Materiais., Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho, Ilha Solteira, 2012.

SIGMA ALDRICH. Product Information, 2014. 13.

SOUZA, Felipe da Costa. **Geração e caracterização de linhagens isogênicas portadoras de mutantes de p53: Modelo para avaliar a estratégia de reparação dos genes p53 e p16INK4A na presença dos mutantes p53R175H e p53R248Q.** 2012. 105 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia Tecidual e Celular, Ciências Biológicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

SOLTANI, S. *et. al.*, Design of eudragit RL nanoparticles by nanoemulsion method as carriers for ophthalmic drug delivery of ketotifen fumarate. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences** v.19. n.5. 2016. 550-60.

SOMASUNDARAM, V. *et al.* Nitric oxide and reactive oxygen species: Clues to target oxidative damage repair defective breast cancers. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**. v.101.2016.184-92.

SCICINSKI, *et. al.* NO to cancer: The complex and multifaceted role of nitric oxide and the epigenetic nitric oxide donor, RRx-001. **Revista Redox Biology** n. 6.2015.1–8

STECANELLA, Luciano Aparecido. **Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas poliméricas contendo grandisina**. 2011. 72 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

SCHAFFAZICK, *et. al.,.* Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**. 26, n. 5, 2003. 726-737.

TRIVEDI,P., VERMA, A M L ,GARUD, N. Preparation and characterization of aceclofenac Microspheres. **Asian Journal of Pharmaceutics**.2008.110-115.

VIANA, Olga Viviane. **USO DO TAMOXIFENO NO TRATAMENTO DE CÂNCER DE MAMA**. 2007. 53 f. TCC (Graduação) - Curso de Farmácia, Farmácia, Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas, São Paulo, 2007

WEINBERG, R.A. The Biology of Cancer. Second Edition. Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC .2014. 876 p.



ZEMBUTSU,2015 Pharmacogenomics toward personalized tamoxifen therapy for breast cancer. Pharmacogenomics. V.16 n.3.2015.287-96.